

APLICABILIDAD DE LAS DETERMINACIONES DE ABSORCION EN EL UV-VISIBLE PARA LA CARACTERIZACION DE LAS SUSTANCIAS HUMICAS EN AMBIENTES ACUATICOS

V́ctor H. CONZONNO* y Alicia FERNANDEZ CIRELLI**

SUMMARY: Applicability of the determinations of UV-visible absorption for the characterization and evaluation of humic substances in aquatic environments.

The applicability of UV-visible absorption measurements was analyzed as a rapid and easy way for the determination and characterization of humic substances in aquatic environments taking into account their ecological meaning. Samples for these studies were taken from Río Samborombón, Arroyo Vitel and Laguna de Chascomús (Provincia de Buenos Aires, Argentina). In spite of the different absorption of humic and fulvic acids at the wavelengths employed, the method proved to be useful to account for the relative proportion of them, to make comparisons between different ecosystems and to give the possibility of using it to follow the dynamics of these substances in a given water body. In an attempt to use absorbance determinations as a measure of soluble organic matter content, correlation between chemical oxygen demand and absorbance at 250 nm and at 365 nm was analyzed. Good results were obtained for Río Samborombón at both wavelengths, while in the other cases correlation was more significative at 365 nm.

INTRODUCCION

Las sustancias húmicas (SH) constituyen el mayor componente de la materia orgánica soluble en las aguas naturales (70-80%) (Munster, 1985). Son polímeros ácidos predominantemente aromáticos, resistentes a la degradación biológica, que se originan por descomposición de plantas terrestres y acuáticas y que en concentraciones elevadas imparten a las aguas un color pardo característico. Desde el punto de vista ecológico revisten importancia debido a la posibilidad de complejar metales y unirse a carbohidratos y proteínas (Rashid, 1970; Mantoura y Riley, 1975; De Haan y De Boer, 1978), influyendo en la biodisponibilidad y ciclo geoquímico de estas sustancias.

En trabajos anteriores se estudió la influencia de la salinidad y el pH en el grado de asociación intra e intermolecular de SH aisladas de la laguna de Chascomús y sus afluentes (Conzonno y Fernández Cirelli, 1987), así como los factores involucrados en su distribución y dinámica (Conzonno y Fernández Cirelli, 1988) y la incidencia de los cationes mono y divalentes

* Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet", Facultad de Ciencias Naturales (UNLP). Paseo del Bosque s/n. 1900 La Plata, Argentina.

** Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Pabellón II, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina.

ECOSUR	Argentina	ISSN 0325-108X	v. 14/15	n. 25/26	págs. 1-6	1987/8
--------	-----------	-------------------	----------	----------	--------------	--------

en la coagulación diferencial de SH presentes en el Río Samborombón (Conzonno y Fernández Cirelli, 1988).

El objetivo del presente trabajo es analizar la aplicabilidad de las mediciones en el UV-visible no sólo como método simple y rápido para determinar materia orgánica soluble, sino además para evaluar la proporción relativa de ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF) y diferenciar SH de distintos ambientes acuáticos. Con tal motivo se estudiaron muestras provenientes del Río Samborombón, del centro de la Laguna de Chascomús y de su afluente principal Arroyo Vitel (Provincia de Buenos Aires, Argentina).

MATERIAL Y METODOS

Las muestras fueron tomadas en superficie de las nacientes del Río Samborombón (S), del Arroyo Vitel (Vi) y del centro de la laguna de Chascomús (Ce). Las mismas fueron filtradas por filtros de $0,2 \mu\text{m}$ de poro (Sartorius) y luego utilizadas para las determinaciones de absorbancias a 250 nm (A_{250}) y 365 nm (A_{365}), medidas en celdas de cuarzo de 1 cm de paso de luz en un espectrofotómetro Spectronic 21 (Baush & Lomb), y para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) realizada por el método del permanganato (APHA, 1949). El porcentaje de AF se obtuvo por lectura antes y después de tratar la muestra con ácido clorhídrico a pH 1, dejar a temperatura ambiente por una hora y filtrar por $0,2 \mu\text{m}$. Una muestra del Río Samborombón, descationizada con resina Amberlite IRA-120, concentrada al vacío (37°C), se cromatografió en Sephadex G-50 (Pharmacia Fine Chemicals) en una columna de $2 \text{ cm} \times 73 \text{ cm}$, eluida con buffer fosfato (pH 7, $I = 0,02$) y seguida por absorbancia a 250 nm . El volumen vacío (V_0) se determinó con Blue Dextran 2000 (Pharmacia Fine Chemicals). Las características químicas de los ambientes estudiados fueron determinadas de acuerdo a técnicas descriptas en APHA (1971). Los datos utilizados para las relaciones entre DQO y A_{250} y A_{365} fueron obtenidos de muestreos mensuales entre julio de 1983 y enero de 1985 para el Arroyo Vitel y laguna de Chascomús y entre febrero de 1986 y julio de 1987 para el Río Samborombón.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las sustancias húmicas están formadas por ácidos húmicos (peso molecular elevado, insoluble en medio ácido) y ácidos fúlvicos (menor peso molecular y solubles en medio ácido). En la figura 1, se puede apreciar la presencia de ambos en el Río Samborombón. El pico de menor volumen de elución corresponde a la fracción de mayor peso molecular, es decir, la fracción de ácidos húmicos. La separación entre ambas fracciones no es nítida, no pudiéndose determinar la preponderancia de ninguna de ellas.

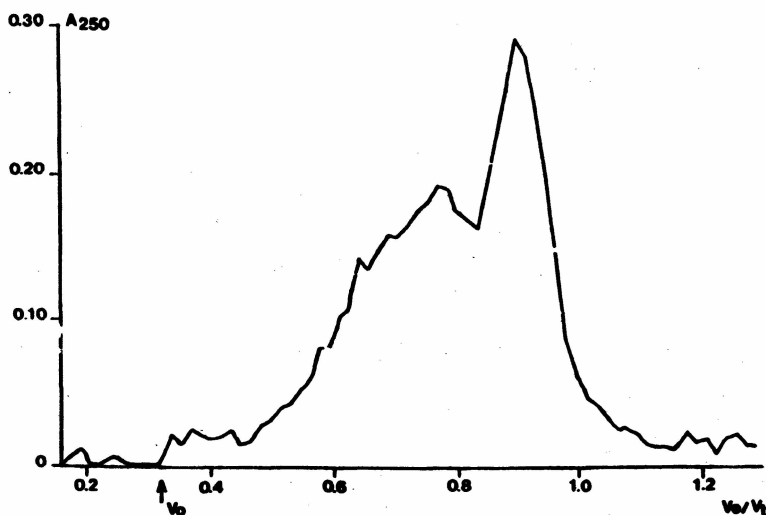


Fig. 1.— Cromatografía en Sephadex G-50 de la muestra del Río Samborombón. Vo: volumen vacío; Ve: volumen de elución; Vt: volumen total.

La estructura de SH, predominantemente aromática, determina la propiedad de absorber radiación UV y en menor extensión radiación visible. Esta característica ha sido ampliamente utilizada para la determinación cuantitativa de SH (Wilson, 1959; De Haan et al., 1982), siendo la absorción a 250 nm y 365 nm las comúnmente utilizadas para tal fin. La separación cromatográfica se siguió por lectura de la absorbancia a 250 nm ya que las lecturas son mayores a esta longitud de onda.

El hecho de que los ácidos húmicos (AH) precipiten a pH 1, nos permite su separación y consecuentemente la valoración de ácidos fúlvicos (AF) por absorción a una longitud de onda determinada. Esto se llevó a cabo en tres ambientes de la Provincia de Buenos Aires (Río Samborombón, Arroyo Vitel y Laguna de Chascomús) efectuando las determinaciones en el UV (250 nm) y visible (365 nm). Los resultados figuran en la tabla 1 y como se puede apreciar en ambos casos hay coincidencia para establecer que muestra posee mayor proporción de AF, que en este caso sería $C_e > V_i > S$, pero difieren en el resultado numérico. Esto está en relación a que la absorción por unidad de carbono a 250 nm para AH es menor que para AF de acuerdo a Stewart y Wetzel (1981). Esta diferente absorción por unidad de carbono permite la utilización del índice A_{250}/A_{365} el cual será menor para la muestra que presente mayor proporción de AH (De Haan, 1972). En la tabla 1, puede observarse el cumplimiento de dicho índice ya que el orden decreciente, $C_e > V_i > S$, se corresponde con un aumento de la proporción de AH reflejado en los datos de precipitación en medio ácido. El uso de este índice ha sido utilizado satisfactoriamente en el seguimiento de la dinámica de SH en la Laguna de Chascomús (Conzonno y

TABLA 1

Porcentajes de ácidos fúlvicos e índices A_{250}/A_{365} para los ambientes considerados.
S: Río Samborombón; Vi: Arroyo Vitel; Ce: Centro de la laguna de Chascomús.

	% AF (250)	% AF (365)	A_{250}/A_{365}	$A_{250}/365$ (ácido)
S	65,1	44,4	5,0	7,3
Vi	88,5	69,1	7,4	9,4
Ce	94,2	82,3	9,3	10,6

Fernández Cirelli, 1988). Los resultados de la tabla 1, permiten extender la aplicación del mismo en otros ambientes acuáticos. Cabe destacar que el pH, salinidad y composición iónica influyen en la forma y tamaño molecular (De Haan et al., 1987) y en la proporción de AH y AF (Tipping y Ohnstad, 1984). Así, por ejemplo, la menor proporción de AH en Ce puede explicarse en función de estos parámetros químicos (tabla 2). El pH alcalino, puesto de manifiesto por la presencia de carbonato y la concentración de bicarbonato, determinan la sobresaturación de carbonato de calcio, que en estas condiciones induce la coprecipitación selectiva de AH de acuerdo a Stewart y Wetzel (1981). De esta manera la utilización de un parámetro simple de medir, como el índice, nos permite vincular rápidamente las características de SH con la calidad de agua, ofreciendo la posibilidad, frente a cambios producidos en el ambiente por razones hidrológicas, climatológicas, etc., de poder estimar el grado de incidencia de estos últimos sobre la proporción de AH y AF.

Efectuadas las lecturas luego de la precipitación en medio ácido y utilizando nuevamente el índice, se puede observar (tabla 1), como es de esperar atendiendo al hecho que sólo quedan en solución AF, el incremento del mismo, sin embargo no muestra coincidencia en los tres casos y esto

TABLA 2

Parámetros químicos de las aguas de los ambientes estudiados.

S: Río Samborombón; Vi: Arroyo Vitel; Ce: Centro de la laguna de Chascomús.

R. S.: residuo sólido soluble en gramos por litro, cationes y aniones en miligramos por litro.

	pH	R.S.	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+	K^+	CO_3^{2-}	CO_3H^-	SO_4^{2-}	Cl^-
S	8,20	2,00	48,0	49,9	528,0	16,2	0,0	425,4	411,0	521,0
Vi	7,94	0,52	15,6	14,6	110,0	12,0	0,0	271,0	27,8	73,0
Ce	8,60	0,69	18,0	22,6	150,0	13,0	15,7	260,4	74,3	138,3

probablemente se deba a diferencias estructurales y/o diferencias en los pesos moleculares que se traduzcan en diferencias de la absorción por unidad de carbono.

La materia orgánica soluble puede ser evaluada mediante la utilización de la absorción a determinadas longitudes de onda (De Haan et al., 1981; Kieffer, 1981), gracias a la absorción específica de las SH que integran la mayor proporción de la misma. Dicha relación está condicionada a diferencias geográficas que introducen características particulares en la estructura y a la influencia de la calidad de agua del ambiente en cuestión. En los tres casos considerados se relacionaron la DQO con A_{250} y A_{365} . En la tabla 3, se puede observar que para cada longitud de onda la regresión no es la misma para los tres ambientes. Esto sugiere que la composición y estructura de las SH que componen la materia orgánica soluble es distinta en cada caso. Como se puede apreciar en la tabla 3, a 250 nm la correlación para Vi y Ce no es significativa, mientras que a 365 nm mejora para Vi y se hace muy significativa para Ce. En el caso de S es significativa para ambas longitudes de onda. Esto indica, si se pretende evaluar DQO de la materia orgánica soluble a partir de datos de absorción, la necesidad de determinar los coeficientes de regresión y a la vez comprobar si la relación entre ambos parámetros es significativa para cada ambiente en particular.

TABLA 3

Correlación lineal DQO vs A_{250} y DQO vs A_{365} . a: ordenada al origen; b: pendiente; r: correlación lineal; *: no significativo; **: $0,001 < P < 0,01$; ***: $P < 0,001$; R: rangos encontrados para cada variable, donde DQO está expresada en miligramos de oxígeno consumido por litro y A es la absorción correspondiente a 1 cm de paso de luz. S: Río Samborombón; Vi: Arroyo Vitel; Ce: centro de la laguna de Chascomús.

	250 nm			365 nm			R-DQO	R-250	R-365
	a	b	r(N=18)	a	b	r(N=18)			
S	9,5	17,5	0,68**	12,4	74,8	0,68**	13,8-39,2	0,455-1,569	0,068-0,246
Vi	21,7	1,0	0,04*	17,0	44,9	0,47*	15,1-32,0	0,328-0,942	0,045-0,187
Ce	10,9	7,6	0,25*	10,6	52,0	0,72***	7,7-18,7	0,039-0,438	0,026-0,146

CONCLUSIONES

Los resultados indican la utilidad de la absorción en el UV-visible para determinar la proporción relativa de AH y AF en sistemas acuáticos.

El índice A_{250}/A_{365} constituye una forma fácil y rápida para la comparación de esta proporción entre distintos ambientes, al igual que para el seguimiento de las fluctuaciones de la misma en un cuerpo de agua dado.

La relación DQO-absorción permite, de acuerdo al ambiente considerado y la longitud de onda utilizada, la estimación de la materia orgánica soluble. Asimismo en base a los coeficientes de regresión, determinar el grado de similitud en la naturaleza química de las SH de los distintos ecosistemas.

AGRADECIMIENTOS

A Elsa F. Claverie, Susana M. Ilhero y María de las Nieves Rodríguez por la colaboración prestada en la realización de los análisis químicos. Este trabajo fue financiado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC) y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

BIBLIOGRAFIA

- APHA 1949. Standard Methods for the examination of Water and Sewage, 9a. Ed. New York.
- APHA 1971. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 13a. Ed., Washington.
- CONZONNO, V. H. y FERNANDEZ CIRELLI, A. 1987. Soluble humic substances form the affluents of Chascomus Pond (Argentina). *Arch. Hydrobiol.* 109: 305-314.
- CONZONNO, V. H. y FERNANDEZ CIRELLI, A. 1988. Soluble humic substances from Chascomús Pond (Argentina). Factors influencing distribution and dynamics. *Arch. Hydrobiol.* 111: 467-473.
- CONZONNO, V. H. y FERNANDEZ CIRELLI, A. 1988. Aggregation of humic and fulvic acids from Río Samborombón. (Argentina). Enviado para publicación.
- DE HAAN, H. 1972. Molecule size distribution of soluble humic compounds from different natural waters. *Freshwat. Biol.* 2: 235-241.
- DE HAAN, H. y DE BOER, T. 1978. A study of the possible interactions between fulvic acids, amino acids and carbohydrates from Tjeukemeer, based on gel filtration at pH 7.0 *Wat. Res.* 12: 1035-1040.
- DE HAAN, H.; DE BOER, T.; KRAMER, H. A. y VOERMAN, J. 1982. Applicability of light absorbance as a measure of organic carbon in humic lake water. *Wat. Res.* 16: 1047-1050.
- DE HAAN, H.; JONES, R. I. y SALONEN, K. 1987. Does ionic strength affect the configuration of aquatic humic substances, as indicated by gel filtration?. *Freshwat. Biol.* 17: 453-459.
- KIEFFER, L. F. 1981. Evaluación de la materia orgánica disuelta. *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral* 12: 88-95.
- MANTOURA, R. F. C. y RILEY, J. P. 1975. The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds. *Analytica Chimica Acta* 78: 193-200.
- RASHID, M. A. 1970. Role of humic acids of marine origin and their different molecular weight fraction in complexing di- and tri-valent metals. *Soil. Sci.* 111: 298-306.
- STEWART, J. A. y WETZEL, R. G. 1981. Asymmetrical relationships between absorbance, fluorescence, and dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.* 26: 590-597.
- TIPPING, E. y OHNSTAD, M. 1984. Aggregation of aquatic humic substances. *Chemical Geology* 44: 349-357.
- WILSON, A. L. 1959. Determination of fulvic acids in water. *J. appl. Chem.* 9: 501-510.