

## EXTRACCIÓN SECUENCIAL Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ÁCIDOS HÚMICOS EN DIFERENTES COMPOST Y EL EFECTO SOBRE TRIGO\*

### SEQUENTIAL EXTRACTION AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF HUMIC ACIDS IN DIFFERENT COMPOST AND THE EFFECT ON WHEAT

María Dolores Rodríguez Torres<sup>1§</sup>, José Venegas González<sup>2</sup>, M. V. Angoa P.<sup>2</sup> y José Luis Montañez Soto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Producción Agrícola Sustentable. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Justo Sierra 28. Jiquilpan, Michoacán. C. P. 59510. <sup>2</sup>Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA). Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) del Instituto Politécnico Nacional (IPN). <sup>§</sup>Autor(a) para correspondencia: april\_8110@hotmail.com.

#### RESUMEN

Las características fisicoquímicas de las sustancias húmicas contenidas en el compost, son responsables de las propiedades del suelo y de la respuesta de los cultivos a sus aplicaciones. La extracción de sustancias húmicas con una sola agitación deja cantidades considerables de compuestos en el sustrato, por lo que las extracciones secuenciales con diferentes reactivos, separan las sustancias húmicas residuales, que resulta en una estimación real de calidad del compost en el manejo agrícola. Los objetivos de este trabajo fueron: a) extraer secuencialmente las sustancias húmicas de cuatro compost de seis meses de humificación con tres soluciones; b) determinar los grupos funcionales carboxílicos, fenólicos y oxidrílicos de ácidos húmicos contenidos en el compost; c) determinar los parámetros fisicoquímicos C/N, CIC, pH, ΔpH y E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>; y d) evaluar los efectos agronómicos de sustancias húmicas sobre el crecimiento del trigo. Se emplearon compost de 6 meses de humificación de rastrojo de maíz, paja de trigo, residuos de frutas y estiércol de bovino; se realizó la extracción secuencial con NaOH 0.5M, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.1M y NaF 0.1M y se evaluaron sus propiedades fisicoquímicas. Se obtuvieron rendimientos de 21.73% para rastrojo de maíz, 15.3% con paja de trigo, 19.62% para estiércol de bobino y 16.89% con residuos de frutas. Las sustancias húmicas de los compost estudiadas, manifestaron diferencias significativas en sus

#### ABSTRACT

The physiochemical characteristics of the humic substances contained in compost are accountable for the soil properties and the response of crops to their application. The extraction of humic substances with a single turmoil leaves considerable amounts of compounds in the substrate, and therefore sequential extractions with different reagents separate the residual humic substances, resulting in a real estimation of the quality of the compost in agricultural management. The aims of this work were: a) to sequentially remove the humic substances of four composts using three solutions; b) to determine the functional carboxylic, phenolic and oxidrylic groups of humic acids contained in the compost; c) to determine the physiochemical parameters C/N, CIC, pH, ΔpH and E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>; and d) to evaluate the agronomic effects of humid substances on wheat growth. Compost with six months of humification was used, made from maize stubble, wheat hay, fruit waste and bovine manure; the sequential extraction was carried out with NaOH 0.5M, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.1M and NaF 0.1M, and its physical and chemical properties were evaluated. The yields obtained were 21.73% for maize stubble, 15.3% for wheat hay, 19.62% for bovine manure and 16.89% for fruit waste. The humic substances studied of the compost displayed significant differences in their properties, which indicate different molecules. The yields

\* Recibido: junio de 2009  
Aceptado: febrero de 2010

propiedades, que indican moléculas distintas. Los rendimientos de la biomasa seca total no se vieron afectados por las diferentes dosis de ácidos húmicos aplicados al suelo (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) bajo condiciones de invernadero, ya que el tiempo del trigo bajo el efecto de ácidos húmicos, tanto en el suelo como en el follaje, no fue suficiente para obtener un efecto significativo en relación al crecimiento.

**Palabras clave:** compost, extracción secuencial, sustancias húmicas, trigo.

## INTRODUCCIÓN

Los residuos sólidos orgánicos generados por el hombre, se transforman en un foco de contaminación ambiental a través de la emisión de gases tipo invernadero ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{N}_2\text{O}$ ), que llegan a ocasionar el cambio climático. El compostaje es un proceso bio-oxidativo de los residuos orgánicos en condiciones controladas de temperatura, humedad y aireación, donde participan diferentes grupos de microorganismos entre bacterias y hongos (Fortuna *et al.*, 2003).

Estos compost suministran nutrimentos y grandes cantidades de sustancias húmicas al suelo (Roinila, 1997; Chen y De Nobili, 2004). Por lo tanto, el llevar a cabo un proceso de compostaje ayuda a la reducción de la contaminación ocasionada por los residuos sólidos orgánicos, y la importancia de llevar a cabo la extracción de las sustancias húmicas reducirá el uso de fertilizantes químicos sintéticos y por lo tanto la emisión de gases tipo invernadero.

Las sustancias húmicas (SH) tienen profundos efectos físicos, químicos y biológicos sobre el suelo, especialmente sobre aquellos que presentan malas condiciones físicas, que dificultan la producción de cultivos. Tienen un efecto estimulante para el crecimiento de las plantas; además, influyen en la movilidad de compuestos orgánicos no iónicos como pesticidas y contaminantes, removiéndolos de las soluciones acuosas. Son una reserva y a la vez fuente de N, P, S y micronutrimentos para las plantas, proporcionan energía a los microorganismos, liberan  $\text{CO}_2$ , forman y mantienen la estructura del suelo, reducen los efectos de compactación y costras superficiales, reducen la erosión, mejoran la percolación y retención de agua del suelo, amortiguan cambios de pH y salinidad en el suelo, retienen los nutrimentos por sus propiedades de intercambio catiónico, incrementan la temperatura del suelo por

of the total dry biomass were not affected by the different doses of humic acids applied to the soil (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) under greenhouse conditions, since the time the wheat remained under the effect of humic acids, both in the soil and in the foliage, was not enough to obtain a significant effect in terms of growth.

**Key words:** compost, humic substances, sequential extraction, wheat.

## INTRODUCTION

Solid organic waste produced by humans become a source of pollution through the emission of greenhouse gases ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  and  $\text{N}_2\text{O}$ ), that cause climate change. Composting is a bio-oxidative process of the organic waste under controlled temperature, humidity and ventilation conditions, in which different groups of microorganisms, such as bacteria and fungi, are involved (Fortuna *et al.*, 2003).

These composts provide the soil with nutrients and large amounts of humic substances (Roinila, 1997; Chen y De Nobili, 2004). Therefore, carrying out a process of composting helps reduce pollution caused by solid organic waste, and extracting humic substances will reduce the use of synthetic fertilizers, and therefore the release of greenhouse gases.

Humic substances (SH) have profound physical, chemical and biological effects on the soil, and especially on those in the worst physical conditions that make farming difficult. They have a stimulating effect on plant growth and influence the mobility of organic, non-ionic compounds such as pesticides and pollutants, removing them from aqueous solutions. They are a reserve and a source of N, P, S and micronutrients for plants, they give microorganisms energy, release  $\text{CO}_2$ , form and maintain soil structure, lessen the effects of compression and surface scabs, reduce erosion, improve filtration and retention of water in the soil, cushion changes in pH and salinity in the soil, they retain nutrients due to their cationic exchange properties, increase soil temperature due to their optimization of hydrologic, wind and thermal regimes; they increase the availability of some nutrients that would otherwise form scarcely soluble compounds, they increase nutrient storage, protect the environment from the effects of toxic metals and some pesticides (Hayes and Swift, 1978; Stevenson, 1994; Popov, 2008).

optimizar los regímenes hídrico, eólico y térmico; incrementan la disponibilidad de algunos nutrientes que de otro modo formarían compuestos escasamente solubles, incrementan el almacén de nutrientes, protegen al ambiente de la acción de metales tóxicos y algunos pesticidas (Hayes y Swift, 1978; Stevenson, 1994; Popov, 2008).

Las sustancias húmicas contienen una variedad de grupos funcionales incluyendo COOH, OH fenólicos, OH enólicos, OH alcohólicos, quinonas, hidroxiquinonas, lactosas, entre otros (Stevenson, 1994).

El estudio de la composición y estructura química de las sustancias húmicas, ha representado un problema que surge como consecuencia de la gran complejidad y heterogeneidad en la naturaleza; así como de gran diversidad molecular. En un intento por explicar o elucidar la composición y estructura de las sustancias húmicas, se han aplicado técnicas de resonancia magnética nuclear del estado sólido (NMR), espectroscopia de transformación fourier de reflectancia infrarroja difusa (DRIFTS) y espectrometría de masas de ionización suave (Peña-Méndez *et al.*, 2007).

Los objetivos de esta investigación fueron: extraer secuencialmente las sustancias húmicas de cuatro compost mediante el uso de tres soluciones extractantes, para determinar los grupos funcionales de los ácidos húmicos contenidos en los compost; además medir los parámetros fisicoquímicos C/N, CIC, pH,  $\Delta$ pH y  $E_4/E_6$  y evaluar los efectos agronómicos de las sustancias húmicas sobre el crecimiento del trigo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales sólidos orgánicos sujetos de investigación fueron: a) rastrojo de maíz (RM) que se colectó en la finca de Cumuatillo, municipio Venustiano Carranza, Michoacán; b) paja de trigo, colectada en el predio de Jiquilpan, Michoacán; c) estiércol de bovino, se colectó del establo la periferia, Jiquilpan, Michoacán; y d) restos de fruta, fueron colectados en el mercado municipal de Jiquilpan, Michoacán.

Estos materiales se sometieron a un proceso de compostaje durante un periodo de 180 días, mediante una técnica de aireación pasiva con volteos periódicos, para airearlos, enfriarlos y humedecerlos. Este proceso se repitió periódicamente hasta obtener los compost maduros para la extracción de las sustancias húmicas.

Humic substances contain a variety of some functional groups, including COOH, phenolic OH groups, OH enolic groups, alcoholic OH groups, quinones, hydroxyquinones, lactoses, and others (Stevenson, 1994).

The study of the chemical composition and structure of humic substances has been a problem that arose as a consequence of their complexity and heterogeneity in nature, as well as the great molecular diversity. In an attempt to explain or elucidate the composition and structure of humic substances, techniques of nuclear magnetic resonance of the solid state (NMR) have been applied along with diffuse reflectance infrared fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and softionization mass spectrometry (Peña-Méndez *et al.*, 2007).

The aims of this research were: to sequentially extract humic substances from four composts using three extracting solutions, in order to determine the functional groups of the humic acids contained in the composts; also, to measure the physiochemical parameters C/N, CIC, pH,  $\Delta$ pH and  $E_4/E_6$  and to evaluate the agronomic effects of humic substances on wheat growth.

## MATERIALS AND METHODS

The studied organic waste solids were: a) maize stubble (RM), gathered in the farm of Cumuatillo, municipality of Venustiano Carranza, Michoacán; b) wheat hay, gathered in Jiquilpan, Michoacán; c) bovine manure, gathered in the La Periferia stable, in Jiquilpan, Michoacán; and d) fruit waste, gathered in the municipal market of Jiquilpan, Michoacán.

These materials underwent a composting process for 180 days, by means of a passive ventilation technique, with occasional turnovers to ventilate, cool and moisten them. This process was repeated periodically until the compost was ready for the extraction of humic substances.

### Sequential extraction

The extraction was carried out using extracting solutions, based on NaOH 0.5N,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1N and NaF 0.1N, using the method suggested by Kononova *et al.* (1966), sequencing each solution. The first extraction was carried out using NaOH at 0.5M, with 2 g of dry compost, grounded and sieved through a 1mm mesh. 40 mL of extracting solution

### Extracción secuencial

La extracción se llevó a cabo con soluciones extractantes a base de NaOH 0.5N,  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1N y NaF 0.1N empleando el método propuesto por Kononova *et al.* (1966), secuenciado cada una de las soluciones. La primera extracción se llevó a cabo con NaOH al 0.5M empleando 2 g de compost seco, molido y tamizado por una malla de 1 mm. Se agregaron 40 mL de solución extractante; la mezcla se agitó durante 24 h en un agitador eléctrico a velocidad de 180 oscilaciones por min; posteriormente se centrifugó a 3 000 rpm durante 20 min; después se decantó y el sobrenadante se conservó para su posterior análisis.

La segunda extracción se realizó agregando 50 mL de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1N, dejando el sedimento restante en agitación durante 24 h, después se centrifugó a 3 000 rpm durante 20 min. La tercera extracción se realizó agregando 50 mL de NaF 0.1N, se dejó el sedimento restante en agitación durante 24 h, después se centrifugó a 3 000 rpm durante 20 min.

Las tres muestras sobrenadantes se mezclaron y se acidificaron hasta un pH= 2 con HCl 2N, la mezcla se dejó en reposo durante 24 h a temperatura ambiente, después se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 min. Posteriormente se procedió a la separación de ácidos húmicos de los fúlvicos.

### Purificación de los ácidos húmicos

La purificación de los ácidos húmicos fue llevada a cabo de acuerdo al método descrito por Sánchez-Monedero *et al.* (2002). Los ácidos húmicos (AH) fueron tratados con una solución de HCl-HF al 0.5% (5 mL de HCl y 5 mL de HF por 1 L) durante 36 h. La suspensión fue centrifugada por 15 min a 2 350 rpm y el sólido se lavó dos veces con HCl 0.1M, después se lavó con agua destilada hasta quedar libre de cloruros (prueba de  $\text{AgNO}_3$ ) y finalmente los ácidos húmicos se liofilizaron para su caracterización fisicoquímica.

### Caracterización fisicoquímica de los ácidos húmicos

Para obtener las relaciones ópticas  $E_4/E_6$ , la absorbancia a 465 nm y 665 nm (Chen *et al.*, 1977) fue medido usando un espectrofotómetro Perkin Elmer UV/Vis Lambda 2. Se determinó pH en una suspensión acuosa y con KCl 1M, el  $\Delta\text{pH}$  se calculó con la diferencia de ambas lecturas. El

were added; the mixture was shaken for 24 h in an electric shaker at a speed of 180 oscillations per min; later, it was centrifuged at 3 000 rpm for 20 min; it was then decanted and the supernatant was stored for future analysis.

The second extraction was carried out by adding 50 mL of  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1N, shaking the remaining sediment for 24 h, and then centrifuging at 3 000 rpm for 20 min. The third extraction was carried out by adding 50 mL of NaF 0.1N, shaking the remaining sediment for 24 h, and then centrifuging at 3 000 rpm for 20 min.

The three supernatant samples were mixed and acidified up to a pH= 2 with HCl 2N; the mixture was left to settle for 24 h at room temperature, then centrifuged at 3 000 rpm for 10 min. The humic acids were then separated from fulvic acids.

### Purifying humic acids

The purification of humic acids was carried out according to the method described by Sánchez-Monedero *et al.* (2002). The humic acids (AH) were treated with an HCl-HF solution at 0.5% (5 mL de HCl and 5 mL of HF per 1 L) for 36 h. The suspension was centrifuged for 15 min at 2 350 rpm and the solid was washed twice with HCl 0.1M, later it was washed with distilled water until it was free of chlorides ( $\text{AgNO}_3$  test) and finally, the humic acids were freeze dried for their physicochemical characterization.

### Physicochemical characterization of humic acids

In order to obtain the optic relations  $E_4/E_6$ , absorbance was measured at 465 nm and 665 nm (Chen *et al.*, 1977) using a Perkin Elmer UV/Vis Lambda 2 spectrophotometer. The pH was determined in an aqueous suspension with KCl 1M; the  $\Delta\text{pH}$  was estimated with the difference in both readings. For the carbon (C) content, the Walkley and Black method (Bremner and Jenkinson, 1964) was used. The total content of functional groups (carboxylic groups, OH phenolic and C=O total) and total acidity (Kononova *et al.*, 1966) were determined. The CIC was calculated with a barium acetate 1N solution, using the Harada and Inoko (1980) technique. The total N was established using the Kjeldahl method (Bremner, 1996).

### Greenhouse work

To set up the experiment in a greenhouse 3 kg containers were filled with soil, previously gathered in the municipality

contenido de carbono (C) fue hecho por el método de Walkley y Black (Bremner y Jenkinson, 1964). Se determinó el contenido total de grupos funcionales (grupos carboxílicos, OH fenólicos y C=O totales) y la acidez total (Kononova *et al.*, 1966). La CIC se estimó con solución de acetato de bario 1N, por la técnica de Harada e Inoko (1980). El N total se determinó mediante el método Kjeldahl (Bremner, 1996).

### Trabajo en invernadero

Para el montaje del experimento en invernadero, se emplearon contenedores con 3 kg de suelo colectado en el municipio de Jiquilpan, Michoacán, con pH 6.9, textura arcillosa, materia orgánica 2.4%, N 0.1%, P Olsen 16.4 ppm y CIC 38.6  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ .

Como cultivo indicador de la respuesta de los tratamientos con ácidos húmicos se utilizó el trigo variedad Salamanca S75, sembrándose 10 semillas por maceta. Los tratamientos se generaron con AH extractados de cada uno de los compost, con dosis de 100, 200, 400 y 800  $\text{mg kg}^{-1}$  de suelo respectivamente. La aplicación de los tratamientos al suelo se llevó a cabo al momento de la siembra. La primera y segunda aplicaciones foliares se realizaron a los 35 y 53 días después de la siembra respectivamente.

Durante el montaje del experimento se fertilizó con 100N-60P-200K, empleando como fuentes de nitrógeno la urea (46% N), de fósforo el superfosfato triple de calcio (46%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) y potasio el sulfato de potasio (50%  $\text{K}_2\text{O}$ ). El experimento se condujo por 64 días durante los cuales se realizó el riego cada tercer día a capacidad de campo; las macetas fueron cambiadas de lugar semanalmente de forma aleatorizada. Finalmente se evaluó la biomasa seca y el contenido de N (Kjeldahl Bremner, 1996).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente empleando el análisis de varianza y las pruebas de comparación de medias (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) correspondientes. El contenido de SH, C, N, el análisis de los grupos funcionales,  $E_4/E_6$ ,  $\Delta\text{pH}$  y CIC, son presentadas como el promedio de las muestras por triplicado. La altura de la planta, días de espigamiento, longitud de la raíz, producción de materia seca y contenido de N se les realizó análisis de varianza (ANOVA).

of Jiquilpan, Michoacán, with a pH of 6.9, clayey texture, organic matter 2.4%, N 0.1%, P Olsen 16.4 ppm and CIC 38.6  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ .

As a crop that indicates the response of treatments with humic acids, Salamanca S75 variety wheat was used, placing 10 seeds in every pot. The treatments were created with AH taken each from compost, with doses of 100, 200, 400 and 800  $\text{mg kg}^{-1}$  of soil, respectively. Treatments were applied to the soil during the plantation. First and second foliar applications took place 35 and 53 days after plantation, respectively.

For the setup of the experiment 100N-60P-200K were used as fertilizers. The source of nitrogen was urea (46% N), triple calcium superphosphate for phosphorous (46%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) and potassium sulfate for sulfur (50%  $\text{K}_2\text{O}$ ). The experiment was conducted for 64 days, during which there was irrigation at field capacity every third day; the pots were moved weekly in a random fashion. Finally, dry biomass and the N content were evaluated (Kjeldahl Bremner, 1996).

### Statistical analysis

The data obtained were analyzed statistically using the corresponding variance analysis and average comparison test (Tukey,  $\alpha=0.05$ ). The content of SH, C, N, the analysis of functional groups,  $E_4/E_6$ ,  $\Delta\text{pH}$  and CIC, are presented as the average of the samples, times three. Plant height, heading days, root length, dry matter production and N content underwent variance analysis (ANOVA).

## RESULTS

### Sequential extraction

The percentages of humic acids obtained by sequential extraction were: 15.3% for wheat hay compost (PT), 16.89% for fruit waste (RF), 19.62% for bovine manure (EB) and 21.73% for maize stubble (RM). The solution with NaOH 0.5N extracted a greater amount of AH from wheat hay, fruit waste and bovine manure composts in comparison to the other solutions; only maize stubble compost surpassed NaOH 0.5N, despite the  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1N solution being used in the second extraction. The NaF 0.1N solution had the lowest yields (Table 1).

## RESULTADOS

### Extracción secuencial

Los porcentajes de ácidos húmicos obtenidos mediante la extracción secuencial fueron: 15.3% para el compost de paja de trigo (PT), 16.89% para residuo de fruta (RF), 19.62% para estiércol de bovino (EB) y 21.73% para rastrojo de maíz (RM). La solución con NaOH 0.5N extrajo una mayor cantidad de AH de los compost de paja de trigo, residuos de frutas y estiércol de bovino respecto a las otras soluciones; únicamente en el caso del compost de rastrojo de maíz, a pesar que la solución de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1N se utilizó en la segunda extracción superó a NaOH 0.5N. La solución de NaF 0.1N tuvo los menores rendimientos (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Ácidos húmicos de diferentes compost extractados secuencialmente.**

**Table 1. Humic acids from different composts extracted sequentially.**

Tipo de compost	Contenido total de AH (%)	1 <sup>ra</sup> extracción NaOH 0.5N	2 <sup>da</sup> extracción $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0.1N	3 <sup>ra</sup> extracción NaF 0.1N
RM	21.73	46.06% ±0.56	49.87% ±0.23	4.77% ±0.79
PT	15.3	68.9% ±2.76	27.03% ±2.29	4.07% ±0.48
RF	16.89	56.84% ±4.88	36.59% ±6.84	6.57% ±1.97
EB	19.62	73.14% ±2.1	23.33% ±1.61	3.52% ±0.08

RM= compost de rastrojo de maíz; PT= compost de paja de trigo; RF= compost de residuos de frutas; EB= compost de estiércol de bovino.

Los AH de los compost de estiércol de bovino y paja de trigo tuvieron el mayor contenido de C, presentando diferencias estadísticas significativas con respecto a los AH del compost de residuos de frutas y rastrojo de maíz. En cuanto al contenido de N los AH del compost de residuos de frutas y estiércol de bovino fueron diferentes estadísticamente contra el contenido de N de los AH de paja de trigo y rastrojo de maíz. La acidez total de los AH del compost de residuos de frutas, fue ligeramente mayor a los AH del compost de estiércol de bovino; estos últimos no muestran diferencias estadísticas con la acidez total de los AH del compost de paja de trigo, mientras que la menor acidez fue para los AH del compost de rastrojo de maíz.

El contenido de grupos COOH fue diferente entre los AH del compost de estiércol de bovino y el contenido de grupos COOH de AH de los compost de residuos de frutas, paja de trigo y rastrojo de maíz. El menor contenido de OH fenólicos fue para los AH del compost de rastrojo de maíz y el mayor para los ácidos húmicos del compost de residuos de frutas. En cuanto al contenido de grupos C=O los AH del compost de rastrojo de maíz y restos de frutas fueron similares,

The AH of the bovine manure and wheat hay had the greatest C content, showing significant statistical differences with the AH of the fruit waste and maize stubble composts. As for the N content, the AH of the fruit waste and bovine manure were statistically different to the N content of the AH of wheat hay and maize stubble. The total acidity of the AH of fruit waste was slightly higher to the AH of bovine manure compost; the latter show no statistical differences with the total acidity of the wheat hay compost, while the lowest acidity was for the AH of the maize stubble compost.

The content of COOH groups was different for bovine manure compost AH and the content of COOH groups of the AH of the fruit waste, wheat hay and maize stubble composts. The lowest phenolic OH content was for the AH in maize

stubble compost, and the greatest was for the humic acids in fruit waste compost. As for the content of C=O groups, the AH of maize stubble and fruit waste compost were similar, and there were statistical differences between those mentioned above and the AH for wheat hay and bovine manure compost (Table 2).

The AH in the maize stubble compost had the highest pH in an aqueous solution, and there were significant statistical differences between the fruit waste, bovine manure and wheat hay composts. The pH in a KCl 1N solution in the four AH had the same tendency as shown by the pH in water, since the highest pH was obtained with the AH of fruit waste, followed by wheat hay, maize stubble and bovine manure, in a descending manner. The  $\Delta\text{pH}$  of greater intensity belongs to the AH of the fruit waste compost (-0.041), followed by those of wheat hay (-0.08), maize stubble (-0.321) and bovine manure (-0.34).

On the other hand, the values of optical relations  $E_4/E_6$  of the AH of composts of different types were low, especially for the AH of the wheat hay and bovine manure composts. As

mientras que hubo diferencias estadísticas significativas entre los mencionados anteriormente y los AH de paja de trigo y AH del compost de estiércol de bovino (Cuadro 2).

for the CIC of AH of wheat hay compost, they turned out to be of greater intensity, whereas the CIC of AH of maize stubble was minimum (Table 3).

### Cuadro 2. Composición elemental y grupos funcionales de los ácidos húmicos.

Table 2. Elementary composition and functional groups of humic acids.

Compost	C (%)	N (%)	Relación (C/N)	Acidez total (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	COOH (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	OH fenólico (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Grupos C=O (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )
RM-AH	52±0.4b	1.52±0.04b	34.21	150±0c	136.1±0.05b	14	493±0a
PT-AH	69.68±0a	1.57±0.04b	44.38	250±0.5b	144.5±0.05b	105	386±0b
RF-AH	55.33±0b	3.49±0.05a	15.85	381.7±0.2a	150±0.08b	226	481±0a
EB-AH	72.66±0a	3.32±0.4a	21.88	300±0.5ab	177.8±0.05a	122	173±0c

RM-AH= ácidos húmicos del compost de rastrojo de maíz; PT-AH= ácidos húmicos del compost de paja de trigo; EB-AH= ácidos húmicos del compost de estiércol de bovino; y RF-AH= ácidos húmicos del compost de residuos de frutas. En las columnas con la misma letra, son estadísticamente iguales.

Los AH del compost de rastrojo de maíz tuvieron el mayor pH obtenido en solución acuosa y mostraron diferencias estadísticas significativas entre AH de los compost de residuos de frutas, estiércol de bovino y paja de trigo. El pH en solución de KCl 1N en los cuatro AH no tuvieron la misma tendencia como lo mostró el pH en agua, ya que el pH mayor fue obtenido con los AH del compost de residuos de frutas, siguiéndole en forma descendente la paja de trigo, rastrojo de maíz y estiércol de bovino. El ΔpH de mayor intensidad corresponde a AH del compost de residuos de frutas (-0.041), seguido por los AH de paja de trigo (-0.08), rastrojo de maíz (-0.321) y estiércol de bovino (-0.34).

Por otra parte, los valores de las relaciones ópticas E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> de AH de los compost de diferente origen fueron bajos, especialmente para AH de los compost de paja de trigo y estiércol de bovino. En cuanto a la CIC de AH del compost de paja de trigo, resultaron ser de mayor intensidad, en tanto que la CIC de AH del rastrojo de maíz fue mínima (Cuadro 3).

### Cuadro 3. Propiedades fisicoquímicas de los ácidos húmicos.

Table 3. Physicochemical properties of humic acids.

Muestra	ΔpH	Relación E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>	CIC (cmol <sub>c</sub> Kg <sup>-1</sup> )
RM-AH	-0.321	0.434±0.004b	334.61±2.17d
PT-AH	-0.08	0.382±0.005c	557.44±3.28a
RF-AH	-0.041	0.501±0.003a	365.15±4.37c
EB-AH	-0.34	0.381±0.005c	510.57±6.66b

Letras minúsculas distintas, indican diferencias estadísticas.

### Greenhouse results

The data obtained shows that applying different AH treatments to foliage, did not bring significant differences to the production of dry matter, plant height, root length and heading days of wheat plants (Table 4).

In regard to different AH treatments, the data obtained showed that applications on the soil did not bring significant differences to the production of dry matter, plant height, root length and heading days of wheat plants (Table 5).

### DISCUSSION

In the field of science, it is well-known that aqueous NaOH solution is a very effective reagent, because it extracts the greatest amount of SH (80%); its chemical strength is such that it can transform humic molecules into new ones that are not produced naturally (artefacts) (Stevenson, 1994). On the other hand, it is also said that the Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> solution is an ineffective reagent, since it extracts a minimum percentage of SH (30%); consequently, it does not modify humic molecules, and so it is the choice for most scientists to study physicochemical characteristics of these materials in an objective manner (Kononova *et al.*, 1966).

This study showed that the effectiveness of both reagents depends more on the material the SH come from, than on the physicochemical characteristics and the management of the humidifying process; this is justified when

## Resultados de invernadero

Los datos obtenidos mostraron que la aplicación de los diferentes tratamientos de AH aplicados al follaje, no produjo diferencias significativas en la producción de materia seca, altura de la planta, longitud de la raíz y días a espigamiento de las plantas de trigo (Cuadro 4).

analyzing the amounts obtained with both solutions: in the case of AH from maize stubble compost, the effectiveness of the  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  was higher to that of NaOH.

The amount of AH extracted by the reagents in this experiment is relatively high (15.31% of AH extracted from wheat hay compost, 16.91% of AH from fruit waste

### Cuadro 4. Variables de plantas de trigo con dosis de AH de compost, aplicadas foliarmente.

Table 4. Variables of wheat plants with doses of compost AH, applied on the leaves.

Muestra	Dosis (mg L <sup>-1</sup> )	Materia seca	Altura de planta	Longitud de raíz	Días a espigamiento	Contenido de N foliar (%)
Testigo	0	76.03	60	33.67	59	2.24
RM-AH	100	290.17	67.33	33	58.33	2.5
	200	107.57	65.33	27	57.67	2.26
	400	334.12	66.33	33.67	57	1.8
	800	86.02	61.67	41.67	59.33	2.26
	PT-AH	100	249.47	67	23.67	59.33
200		127.58	62	26.67	59	1.85
400		233.29	65	37.33	59	1.49
800		64.11	39	31	39.67	1.85
RF-AH	100	101.03	62.67	35.33	47.67	2.52
	200	116.44	65.33	37.33	59	2.21
	400	100.58	63.33	33.67	38.67	2.48
	800	81.56	56	28.67	57.67	2.42
EB-AH	100	149.68	66.67	28.33	59.67	2.05
	200	133.54	68	38	59.67	1.83
	400	182.32	65.67	38	58.33	2.26
	800	77.5	67.67	33.33	58.33	2.22

No hubo diferencias significativas, (Tukey, 0.05).

En cuanto a los diferentes tratamientos de AH, los datos obtenidos mostraron que la aplicación al suelo no produjo diferencias significativas en la producción de materia seca, altura de la planta, longitud de la raíz y días a espigamiento de las plantas de trigo (Cuadro 5).

compost, 19.63% of AH from bovine manure compost and 21.72% of AH from maize stubble compost) compared to those obtained by Pal and Sengupta (1985); Huang *et al.* (2006); López *et al.* (2008); Shirshova *et al.* (2006), who extracted amounts that varied from 0.43% to 8.3%, using

### Cuadro 5. Variables de plantas de trigo con dosis de AH del compost aplicadas al suelo.

Table 5. Variables of wheat plants with doses of compost AH, applied on the soil.

Muestra	Dosis (mg kg <sup>-1</sup> )	Materia seca	Altura de planta	Longitud de raíz	Días a espigamiento	Contenido de N foliar (%)
Testigo	0	76.03	60	33.67	59	2.24
RM-AH	100	88.9	51.67	30.33	57	3.49
	200	112.7	50.67	26.67	54.33	1.98
	400	196.2	57.67	34.67	53.67	2.26
	800	90.6	53.67	34.33	52.67	2.13

No hubo diferencias significativas, (Tukey, 0.05).



**Cuadro 5. Variables de plantas de trigo con dosis de AH del compost aplicadas al suelo (continuación).**  
**Table 5. Variables of wheat plants with doses of compost AH, applied on the soil (continuation).**

Muestra	Dosis (mg kg <sup>-1</sup> )	Materia seca	Altura de planta	Longitud de raíz	Días a espigamiento	Contenido de N foliar (%)
PT-AH	100	130	58	32.67	55	2.76
	200	59.9	65.33	29.33	54	2.74
	400	167.8	48.67	31	57.33	2.40
	800	168.2	54.33	30.33	60.67	2.92
RF-AH	100	88.1	60.33	32.33	35.67	3.47
	200	85.5	55.67	31.33	52.67	3.6
	400	103.1	60	27.67	36.33	3.39
	800	160.3	53	31.33	36.67	2.22
EB-AH	100	156.7	46.67	28.67	37.33	1.59
	200	772.3	55.67	31.67	36.67	2.34
	400	141.4	55.67	39	53.33	2.06
	800	154.7	59.33	28.33	50.33	2.52

No hubo diferencias significativas, (Tukey, 0.05).

## DISCUSIÓN

En el ámbito científico se conoce que la solución acuosa de NaOH constituye un reactivo muy efectivo, por lo que extrae la mayor cantidad de SH (80%); es tanta la fuerza química que es capaz de transformar a las moléculas húmicas y generar nuevas que no llegan a producirse en forma natural (artefactos) (Stevenson, 1994). Por otro lado, también se dice que la solución de Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> es un reactivo poco efectivo, por lo que extrae un mínimo porcentaje de SH (30%); consecuentemente, no modifica las moléculas húmicas, siendo preferido por muchos investigadores(as) para estudiar de una manera objetiva las características fisicoquímicas de estos materiales (Kononova *et al.*, 1966).

En la presente investigación se observó que la efectividad de ambos reactivos depende más del material del que provienen las SH, que de las características fisicoquímicas y del manejo de todo el proceso humificativo; lo anterior se justifica al analizar las cantidades obtenidas con ambas soluciones: en el caso de los AH provenientes del compost de rastrojo de maíz, se observó que la efectividad de la solución de Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> fue superior a la mostrada por el NaOH.

Respecto a la cantidad de AH, aquella extraída por los reactivos en este trabajo es relativamente alta (15.31% de AH extraídos del compost de paja de trigo, 16.91% de AH del compost de residuos de fruta, 19.63% de AH del compost

different techniques; however, the richness of SH depends on the degree of humidification and the composition of the original organic materials, since those that are rich in lignin will produce more SH through the humidification process (Stevenson, 1994).

As for the elementary composition of AH of different materials, there are much research (Kuwatsuka *et al.*, 1978; Celi *et al.*, 1997; Canellas *et al.*, 2002; Campitelli *et al.*, 2006; Shirshova *et al.*, 2006; Loffredo *et al.*, 2008). According to data obtained by Steelink (1983), carbon content of the AH varies from 53.8% to 58.7%, and nitrogen content, from 0.8% to 4.3%. However, the results obtained in this work show that in two composts, there were higher carbon values PT<sub>AH</sub>=69.68% and EB<sub>AH</sub>=72.66% respectively; on the other hand, N content for both composts were in the range of 1.57% and 3.32%, respectively.

Pal and Sengupta (1985) concluded that formic acid extracts a greater percentage of carbon in the AH (63.72%), while pyrophosphate and acetylacetone only extracts 53.87% and 50.58%, respectively. Therefore, the variations in carbon could be due to the following: a) the three extractants used; b) the nature of the compost; and c) the degree of humidification. The contents of C and N are higher, although with lower C/N relations in the AH of the composts in their different properties (34.21 for AH of maize stubble compost, 44.38 for wheat hay compost, 15.8 for fruit waste AH and 21.88 for the AH of bovine manure compost).

de estiércol de bovino y 21.72% de AH del compost de rastrojo de maíz) comparada con las obtenidas por Pal y Sengupta (1985); Huang *et al.* (2006); López *et al.* (2008); Shirshova *et al.* (2006), quienes extrajeron cantidades que variaron de 0.43% a 8.3% al emplear diferentes técnicas para ello; sin embargo, la riqueza de SH depende del grado de humificación y de la composición de los materiales orgánicos originales, pues aquellos ricos en lignina, a través del proceso humificativo generarán mayor cantidad de ellas (Stevenson, 1994).

En cuanto a la composición elemental de AH de diferentes materiales hay muchos trabajos realizados (Kuwatsuka *et al.*, 1978; Celi *et al.*, 1997; Canellas *et al.*, 2002; Campitelli *et al.*, 2006; Shirshova *et al.*, 2006; Loffredo *et al.*, 2008). De acuerdo con los datos obtenidos por Steelink (1983), el contenido de carbono de los AH varía de 53.8% a 58.7% y el nitrógeno de 0.8% a 4.3%. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo muestran que en dos compost obtuvieron valores de carbono mayores  $PT_{AH} = 69.68\%$  y  $EB_{AH} = 72.66\%$  respectivamente; por otro lado, el contenido de N de ambos compost estuvieron en el rango 1.57% y 3.32%, respectivamente.

Pal y Sengupta (1985), concluyeron que el ácido fórmico extrae mayor porcentaje de carbono en los AH (63.72%), mientras que el pirofosfato y la acetilacetona sólo 53.87% y 50.58%, respectivamente. Por lo tanto, las variaciones en carbono podrían ser atribuidas a lo siguiente: a) a los tres extractantes usados; b) a la naturaleza del compost; y c) al grado de humificación. Los contenidos de C y N son superiores aunque con relaciones C/N menores en los AH de los compost en sus diferentes calidades (34.21 para los AH de los compost de rastrojo de maíz, 44.38 para el compost de paja de trigo, 15.8 para los AH de residuos de frutas y 21.88 para los AH del compost de estiércol de bovino).

La reactividad de las sustancias húmicas, es debida en gran medida a su alto contenido de grupos funcionales conteniendo oxígeno, incluyendo COOH, OH fenólicos o enólicos, y posiblemente  $\alpha$ ,  $\beta$  cetonas insaturadas. Dsiadowiec (1994) indica que la maduración de los AH está acompañada por el aumento en la carboxilación y D'Orazio *et al.* (2008) mencionan que un mayor contenido de grupos carboxílicos probablemente está correlacionado a una gran oxidación.

Los materiales fueron tratados el mismo periodo de tiempo; por lo tanto, el contenido de los grupos carboxílicos es similar entre los AH de RM, PT y RF, aunque ligeramente

The reactivity of humic substances is largely due to its high content of functional groups containing oxygen, including COOH, OH phenols or enols, and possibly unsaturated  $\alpha$ ,  $\beta$  ketones. Dsiadowiec (1994) indicates that the development of AH comes with an increase in carboxylation, and D'Orazio *et al.* (2008) mention that a greater amount of carboxylic groups may be related to greater oxidation.

Materials were treated in the same time period, therefore the content of carboxylic groups is similar for the AH of RM, PT and RF, although the AH for EB had a higher content, indicating that the most quickly transformed into AH are the EB components.

The acidity or capacity of exchange of humic substances is mainly due to the presence of ionizable hydrogen in aromatic carboxylic and aliphatic groups and in phenolic OH groups (Schnitzer, 2000). Results obtained by Stevenson (1994), indicate that the total acidity of the AH is 560 to 890  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , although results in this work are very contrasting, due to the AH of all four composts being in the range of 381.7 to 150  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ .

On the other hand, the hydraulic load of the humic colloids ( $\Delta\text{pH}$ ) determines its activity in the organo-mineral complexes (Bratskaya *et al.*, 2008); adsorption in mineral surfaces (Jada *et al.*, 2006) and interactions with oppositely charged polyelectrolytes (Kam and Gregory, 2001). The  $\Delta\text{pH}$  of the AH was negative, probably due to the functional COOH groups, which are the sources of negatively charged sites to  $\text{pH} < 7$  (Stevenson, 1994).

According to Jiménez and García (1992), the increase of functional groups increases CIC. Such increases were only in the fractions obtained of maize stubble and bovine manure composts (334.61  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  y 365  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  in the AH of RM and EB, respectively). Pal and Sengupta (1985), obtained CIC values of 400 to 598.6  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  of AH and attributed these values to the action of the extractant.

Regarding optical relations  $E_4/E_6$ , Kononova *et al.* (1966) and Stevenson (1994), indicate that the absorption of light of the AH depends directly on the degree of condensation of its aromatic rings. A low relation  $E_4/E_6$  indicates a high degree of condensation of aromatic humic constituents. On the other hand, a high relation indicates a low degree of aromatic condensation. They also point out that they are frequently used for characterization of humic materials;

con mayor contenido fueron los AH de EB, esto indica que el material más rápidamente transformado a AH sean los componentes del EB.

La acidez o capacidad de intercambio de las sustancias húmicas, es debida principalmente a la presencia de hidrógenos ionizables en grupos carboxílicos aromáticos y alifáticos y en grupos OH fenólicos (Schnitzer, 2000). Los resultados obtenidos por Stevenson (1994), indican que la acidez total de los AH es de 560 a 890  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  aunque los resultados en este trabajo son muy contrastantes, debido que los AH de los cuatro compost se encuentran en el rango de 381.7 a 150  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ .

Por otro lado, la carga superficial de los coloides húmicos ( $\Delta\text{pH}$ ) determina su actividad en los complejos órgano-mineral (Bratskaya *et al.*, 2008); adsorción en las superficies minerales (Jada *et al.*, 2006) e interacciones con polielectrolitos cargados opuestamente (Kam y Gregory, 2001). El  $\Delta\text{pH}$  de los AH fue negativo, esta situación probablemente sea la consecuencia de los grupos funcionales COOH que son las fuentes de sitios cargados negativamente a  $\text{pH} < 7$  (Stevenson, 1994).

De acuerdo a Jiménez y García (1992), el aumento de los grupos funcionales aumenta la CIC; estos aumentos únicamente fueron en las fracciones obtenidas de los compost de rastrojo de maíz y estiércol de bovino (334.61  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  y 365  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  en los AH de RM y EB, respectivamente). Pal y Sengupta (1985), obtuvieron valores de CIC de 400 a 598.6  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  de AH y atribuyeron estas variaciones a la acción del extractante.

En cuanto a las relaciones ópticas  $E_4/E_6$ , Kononova *et al.* (1966) y Stevenson (1994), indican que la absorción de luz de los AH depende directamente del grado de condensación de sus anillos aromáticos. Una baja relación  $E_4/E_6$  indica alto grado de condensación de constituyentes húmicos aromáticos; inversamente, alta relación indica bajo grado de condensación aromática; además, ellos señalan que frecuentemente son usadas para la caracterización de materiales húmicos, relaciones menores de cinco son correspondientes a los AH. Por lo tanto, con este parámetro se puede indicar la madurez del compost (Stevenson, 1994; Wong *et al.*, 2001).

Senesi *et al.* (1989); Conte *et al.* (2006) mencionan que las relaciones ópticas  $E_4/E_6$  son variables espectroscópicas usadas como una función directa del peso molecular de

relations lower than five correspond to AH. Therefore, using this parameter, it is possible to indicate the development of the compost (Stevenson, 1994; Wong *et al.*, 2001).

Senesi *et al.* (1989); Conte *et al.* (2006) mention that the optical relations  $E_4/E_6$  are spectroscopic variables used as a direct function of the molecular weight of the SH. The results of the present work show that the AH of PT and EB with  $E_4/E_6$  relations of 0.382 and 0.381, respectively, indicate that they contain molecules with a high degree of polymerization; also, their molecular weights and degree of aromaticity are high.

On the other hand, the AH derived of RM and RF with optic relations of 0.434 and 0.501 indicate that they contain molecules of less complexity and greater degree of aliphaticity, although the difference between each one should not be very high, since they have a similar degree of humification. With greater composting times, the  $E_4/E_6$  optical relations of the AH decrease, in such a way that the carbohydrates and quinones are mineralized and the phenolic compounds are oxidized and bonded to methoxyl groups to the aliphatic chains of the SH. At the end of the composting there is an adequate degree of ripeness and stability, acquiring low optical relations (Huang *et al.* 2006; Sellami *et al.*, 2008).

In regard to the effect of the AH of different composts on wheat production, the results showed that in the production of dry matter, we did not find statistical differences. Similar results were found by Mackowiak *et al.* (2001) in wheat plants, and they attribute it to the fact that untreated plants did not sprout.

Pinton *et al.* (1999); Eyheraguibel *et al.* (2008), stated that the beneficial effect of humic substances on the nutrition of plants has been attributed to root growth enhancement. Canellas *et al.* (2002 y 2008), indicate that there is an increase in the growth and density of lateral roots. In contrast to what these authors suggest, the results of this research show that there was less root elongation.

Therefore, the differences in results shown in this work and others can be due to the concentration of humic substances applied. For example, Figliolia *et al.* (1994); Chen *et al.* (1994); Eyheraguibel *et al.* (2008), worked with humic concentrations of 16 to 27.5  $\text{mg kg}^{-1}$  of soil, and noticed the following effects when producing a physiological reaction: i) they stimulated the activity of soil microorganisms; ii) the availability increased in the dynamics of nutrients; and iii) enzyme and photosynthetic activity in plants increased.

las SH. Los resultados de este trabajo muestran que los AH de la PT y el EB con relaciones  $E_4/E_6$  de 0.382 y 0.381, respectivamente, indican que contienen moléculas con un alto grado de polimerización; además, sus pesos moleculares y grado de aromaticidad son altos.

En cambio, los AH derivados del RM y RF con relaciones ópticas de 0.434 y 0.501 indican que contienen moléculas de menor complejidad y mayor grado de alifaticidad, aunque la diferencia entre cada uno de ellos no debería ser muy alta, debido que tienen un grado de humificación semejante. Con aumento en el tiempo de compostaje las relaciones ópticas  $E_4/E_6$  de los AH disminuyen, de tal modo que los carbohidratos y las quinonas son mineralizados, y los compuestos fenólicos, oxidados y enlazados a grupos metoxil a los sitios de cadenas alifáticas de las SH. Al final del compostaje hay un grado adecuado de madurez y estabilidad, adquiriendo relaciones ópticas bajas (Huang *et al.* 2006; Sellami *et al.*, 2008).

Con respecto al efecto de los AH de diferentes compost en la producción de trigo, los resultados mostraron que en la producción de materia seca, no encontramos diferencias estadísticas significativas, similares resultados fueron encontrados por Mackowiak *et al.* (2001) en plantas de trigo, ellos lo atribuyeron a que las plantas no tratadas desarrollaron retoños.

De acuerdo a Pinton *et al.* (1999); Eyheraguibel *et al.* (2008), reportaron que el efecto benéfico de las sustancias húmicas en la nutrición de plantas ha sido atribuido a la promoción de desarrollo de las raíces. Por su parte Canellas *et al.* (2002 y 2008) indican que hay un aumento en el crecimiento y densidad de raíces laterales. Contrario a lo mencionado por estos autores, los resultados de esta investigación muestran que hubo menor elongación de las raíces.

Por lo tanto, las diferencias entre los resultados mostrados en éste y otros trabajos puede deberse a la concentración de sustancias húmicas aplicadas. Por ejemplo, Figliolia *et al.* (1994); Chen *et al.* (1994); Eyheraguibel *et al.* (2008), trabajaron con concentraciones de sustancias húmicas de 16 a 27.5 mg kg<sup>-1</sup> de suelo, notaron los siguientes efectos al producir una acción fisiológica: i) estimularon la actividad de los microorganismos del suelo; ii) aumentó la disponibilidad en la dinámica de los nutrientes; y iii) aumentó la actividad enzimática y fotosintética de las plantas.

According to Chang *et al.* (2006), the presence of SH in compost derivatives affect mobility and bioavailability of metals significantly, thanks to their carboxylic groups and phenolic OH. Nardi *et al.* (1999) found that the humid fractions that displayed greater amounts of phenolic and carboxylic groups showed the best metabolic effect on *Pinus sylvestris* and *Picea abies*.

Brunetti *et al.* (2007), on the other hand, found no significant correlation with the elementary and functional of the AH of the soil and wheat grains; however, they found a relation between carbon of the AH and fulvic acids (AF) and grain production.

For this reason, variability in the results obtained in the production of dry matter, root elongation, plant length, days to heading and foliar concentration of nitrogen in wheat are due to the carbon in the AH, content of COOH group, phenolic OH, doses of AH, CIC and  $\Delta pH$ , and therefore, it is not possible to attribute a property or characteristic that relate AH to their behavior.

## CONCLUSIONS

The effectiveness of extracting solutions is based on original materials, their composition and the management of the composting process.

Humic substances of the studied composts showed significant differences in their properties, which indicates that molecules are different.

The time that wheat was under the effect of humic acids in the soil and in the foliage was not enough to obtain a more significant effect in terms of its growth.

*End of the English version*



Por otra parte, de acuerdo a Chang *et al.* (2006), la presencia de SH derivadas de compost afectan significativamente la movilidad y biodisponibilidad de metales, gracias a sus grupos carboxílicos y OH fenólicos. Nardi *et al.* (1999) encontraron que las fracciones húmicas que exhibían mayor cantidad de grupos fenólicos y carboxílicos mostraban el mejor efecto metabólico en *Pinus sylvestris* y *Picea abies*.

En cambio, Brunetti *et al.* (2007) no encontraron ninguna correlación significativa con la composición elemental y funcional de los AH del suelo y la producción de granos de trigo; sin embargo, encontraron relación entre el carbono de los AH y ácidos fúlvicos (AF) con la producción de granos.

Por tal motivo, la variabilidad en los resultados obtenidos en la producción de materia seca, elongación de la raíz, longitud de la planta, días a espigamiento y concentraciones foliares de nitrógeno en el trigo se debe al carbono de los AH, al contenido de grupos COOH, OH fenólicos, las dosis de AH, CIC y  $\Delta$ pH; y por lo tanto, no se puede adjudicar que propiedad o característica los AH relacionan su comportamiento.

## CONCLUSIONES

La efectividad de las soluciones extractantes, está en función de los materiales originales, de su composición y del manejo del proceso de compostaje.

Las sustancias húmicas de los compost estudiados, manifestaron diferencias significativas en sus propiedades, lo que indica que las moléculas son distintas.

El tiempo que estuvo el trigo bajo el efecto de los ácidos húmicos tanto en el suelo como en el follaje, no fue suficiente para obtener un efecto más significativo en cuanto a su crecimiento.

## LITERATURA CITADA

- Bratskaya, S.; Golikov, A.; Lutsenko, T.; Nesterova, O. and Duradarchik, V. 2008. Change characteristic of humic and fulvic acids: comparative analysis by colloid titration and potentiometric titration with continuous pk-distribution function model. *Chemosphere*. 73:557-563.
- Bremner, J. H. and Jenkinson, D. S. 1964. Determination of organic carbon in soil. II Effect of carbonized material. *J. Soil Sci.* 11:403-408.
- Bremner, J. M. 1996. Total nitrogen. *In: Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods.* Sparks, D. L. (ed). SSSA. Book series. Núm. 5. Madison WI, USA. 69-73 pp.
- Brunetti, G.; Senesi, N. and Plaza, C. 2007. Effects of amendment with treated and untreated olive oil mill wastewaters on soil properties, soil humic substances and wheat yield. *Geoderma*. 138:144-152.
- Campitelli, P. A.; Velasco, I. M. and Ceppi, S. B. 2006. Chemical and physicochemical characteristics of humic acids extracted from compost, soil and attended soil. *Talanta*. 69:1234-1239.
- Canellas, L. P.; Olivares, F. L.; Okorokova-Façanha, A. L. and Façanha, A. R. 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergent, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATP activity in maize roots. *Am. Soc. Plant Biol.* 130:1951-1957.
- Canellas, L. P.; Teixeira, L. R. L. Jr.; Dobbss, L. B.; Silva, C. A.; Medici, L. O.; Zndonadi, D. B. and Façanha, A. R. 2008. *Annals of Applied Biology*. ISSN 0003-4746. 1-10 pp.
- Celi, L.; Shcintzer, M. and Négre, M. 1997. Analisis of carboxil groups in soil húmica acids by a wet chemicals method Fourier-Transform infrared spectrophotometry, and solution-state carbon-13 nuclear magnetic resonante. A comparative study. *Soil Sci.* 162(3):189-197.
- Chang, Ch. S.W.; Wang, M. C. and Huang, C. C. 2006. Reactions of compost-derived humic substances with leas, copper, cadmium and zinc. *Chemosphere*. 64:1253-1361.
- Chen, Y.; Senesi, N. and Schnitzer, M. 1977. Information provided on humic substances by E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41:352-358.
- Chen, Y.; Magel, H. and Riov, J. 1994. Humic substances originating from rapidity decomposing organic matter: properties and effects on plant growth. *In: Humic substances in the global environment and implications on human health.* Senesi, N. and Miano, M. T. (eds). Elsevier Science. 427-443 pp.
- Chen, Y. and De Nobili, M. 2004. The role of humic substances and DOM in metal binding and plant grown. *In: Humic substances and soil and water environmental.* San Paulo, Brazil. 95-197 pp.
- Conte, P.; Spacciniand, R. and Piccolo, A. 2006. Advanced CPMAS-<sup>13</sup>C NMR techniques for molecular characterization of size-separated fractions form a soil humic acids. *Anal. Bioanal. Chem.* 386:382-390.

- D'Orazio, V.; Traversa, A. and Senesi, N. 2008. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from urban soils. *In: From molecular understanding to innovative applications of humic substances. Proceedings of the 14<sup>th</sup> meeting of international humic substances society.* Perminova, I. V. y Kulikova, N. A. (eds). Moscow. 199-202 pp.
- Dziadowiec, H. 1994. Properties of humic acids from forest litters of different humification degree. *In: Humic substances in the global environment and implications on human health.* Senesi, N. and Miano, M. T. (eds). Elsevier Science. 573-578 pp.
- Eyheraguibel, B.; Silvestre, J. and Morard, P. 2008. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresour. Technol.* 99:4206-4212.
- Figliolia, A.; Benedetti, A.; Izza, C.; Indiati, R.; Rea, E.; Alianiello, F.; Canali, S.; Biondi, F. A.; Pierandrei, F. and Moretti, R. 1994. Effects of fertilization with humic acids on soil and plant metabolism: a multidisciplinary approach. *In: Humic substances in the global environment and implications on human health.* Senesi, N. and Miano, M. T. (eds). Elsevier Science. 579-581 pp.
- Harada, Y. and Inoko, A. 1980. The measurement of the cation exchange capacity of CSMBs for the estimation of the degree of maturity. *Soil Sci. Plant Nutr.* 26:127-134.
- Hayes, M. H. B. and Swift, R. S. 1978. The chemistry of soil organic colloids. *In: The chemistry of soil constituents.* Greenland, D. J. and Hayes, M. H. B. (eds). John Wiley & Sons. New York. 179-320 pp.
- Huang, G. F.; Wu, Q. T.; Wong, J. W. C. and Nagar, B. B. 2006. Transformation of organic matter during co-composing of pig manure with sawdust. *Bioresour. Technol.* 97:1834-1842.
- Jada, A.; Akbour, R. A. and Douch, J. 2006. Surface change and adsorption from water onto quartz sand of humic acid. *Chemosphere.* 64:1287-1295.
- Jiménez, I. E. and García, V. P. 1992. Determination of maturity indices for city refuse composts. *Agric. Ecosyst. Environ.* 38:331-343.
- Kam, S. K. and Gregory, J. 2001. The interaction of humic substances with cationic polyelectrolytes. *Water Res.* 35:3557-3566.
- Kononova, M. M.; Nowakowsky, Z. T. and Newman, D. C. A. 1966. Soil organic matter. Its nature, its role in soil formation and in soil fertility. 2<sup>nd</sup> edit. Pergamon Press. New York, USA.
- Kuwatsuka, S.; Tsutsuki, K. and Kumada, K. 1978. Chemical studies on soil humic acids. Elementary composition of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.* 24(3):334-347.
- Loffredo, E.; Berloco, M. and Senesi, N. 2008. The role of humic fractions from soil and compost in controlling the growth *in vitro* of phytopathogenic and antagonistic soil-borne fungi. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 69:350-357.
- López, R.; Gondar, D.; Iglesias, A.; Fiol, S.; Antelo, J. and Arce, F. 2008. Acid properties of fulvic and humic acids isolated from two acid forest soils under different vegetation cover and soil depth. *Eur. J. Soil Sci.* 59:892-899.
- Mackowiak, C. L. and Grossl, P. R. 2001. Beneficial effect of humic acid on micronutrient availability to wheat. *Soil Sci. Soc. Ame. J.* 65:1744-1750.
- Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Reniero, F. and Muscolo, A. 1999. Biological activity of humic substances extracted from soils under different vegetation cover. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30(5):621-634.
- Pal, S. and Sengupta, M. B. 1985. Nature and properties of humic acid prepared from different source and its effect on nutrient availability. *Plant Soil.* 88:71-91.
- Peña-Méndez, E. M.; Novotná, K.; Gajdosova, D.; González, V. and Havel, J. 2007. Characterization of humic substances of different origin by means of mass spectrometry a neural networks. *Chemosphere.* 68:2047-2053.
- Pinton, R.; Cesco, S.; Lacoletig, G.; Astolfi, S. and Varanini, Z. 1999. Modulation of NO<sub>3</sub> uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membranes H<sup>+</sup>-ATP. *Plant Soil.* 215:155-161.
- Popov, A. I. 2008. The probable mechanism of biological effect of humic substances. *In: From molecular understanding to innovative applications of humic substances; proceedings of the 14<sup>th</sup> meeting of international humic substances society.* Perminova, I. V. and Kulikova, N. A. (eds). Humus Sapiens. Moscow. 453-456 pp.
- Roinila, P. 1997. Composting of fish and the use of fish compost as a fertilizer. International symposium on composting and use of composted materials for horticulture. *Acta Hort.* 469:359-367.

- Sánchez-Monedero, M. A.; Roig, A.; Cegarra, J.; Bernal, M. P. and Paredes, C. 2002. Effects of HCl-HF purification treatment on chemical composition and structure of humic acids. *Eur. J. Soil Sci.* 53:375-381.
- Schnitzer, M. 2000. A lifetime perspective on the chemistry of soil organic matter. *In: Advances in agronomy.* Donald, L. S. (ed). Vol. 68. Academic Press. 1-58 pp.
- Sellami, F.; Hachicha, S.; Chtourou, M.; Medhioub, K. and Ammar, E. 2008. Maturity assessment of composted olive mill wastes using UV spectra and humification parameters. *Bioresour. Technol.* 32:244-252.
- Senesi, N.; Miano, T. M.; Provenzano, M. R. and Brunetti, G. 1989. Spectroscopic and compositional comparative characterization of I. H. S. S. referent and standard fulvic and humic acids of various origin. *Sci. Total Environ.* 81(82):143-156.
- Shirshova, L. T.; Ghabbour, E. A. and Geoffrey, D. 2006. Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures. *Geoderma.* 133:204-216.
- Stevenson, F. J. 1994. Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley & Sons. Inc. New York, USA.
- Steelink, C. 1983. Elemental characteristics of humic substances. *In: Humic substances in soils, sediments and water.* Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L. and MacCarthy, P. (eds). John Wiley. New York, USA. 457-476 pp.
- Wong, J. W. C.; Mak, K. F.; Chan, N. W.; Lam, A.; Fang, M.; Shou, L. X.; Wu, Q. T. and Liao, X. D. 2001. Co-composting of soybean residues and leaves in Hong Kong. *Bioresour. Technol.* 76:99-106.