

ESTUDIO TEORICO DE LAS INTERACCIONES DE DOS MODELOS DE ÁCIDOS HÚMICOS CON LOS CATIONES Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ y NH_4^+ A UN NIVEL DE CALCULO DFT Y UN MODELO DE SOLVATACIÓN PCM

Eduardo Espinosa-Fuentes^{a,*}, Fredy Colpas Castillo^b y Edgardo Meza Fuentes^c

^aGrupo GESSA, Programa de Ingeniería Ambiental, Universidad de la Costa, Barranquilla, Colombia

^bGrupo de Carboquímica, Programa de Química, Campus de San Pablo, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

^cGrupo de Estudios en Materiales y Combustibles, Programa de Química, Campus de San Pablo, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

Recebido em 22/09/2016; aceito em 29/11/2016; publicado na web em 10/02/2017

THEORETICAL STUDY OF THE HUMIC ACID INTERACTIONS WITH Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ AND NH_4^+ CATIONS AT DFT LEVEL OF THEORY AND PCM SOLVATION MODEL. In this paper, two models of humic acids, the Temple-Northeastern-Birmingham (TNB) and Kolla models, were studied. Also, the complexation reaction of the structures formed by the interaction of the TNB and Kolla models with Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ and NH_4^+ cations, common in agricultural soils, was studied. These calculations were made for the complexes, at PM6 and DFT / LANL2DZ level of theory, both in vacuum and in aqueous medium. We found a strong affinity between Kolla and TNB models, and Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ and NH_4^+ cations, influenced by the solvent that affected the interaction sites; the solvent increased the rate of reactivity and affinity for the cations in nucleophilic regions and decreased it in electrophilic regions of the structures. Calculations of molecular electronic potential, MEP and atomic charges, the local smoothness, Fukui functions and the HSAB principle adequately described the HA/cations interactions which were affected by the number of hydrogen bonds. The most reactive sites were the hydroxyl, phenolic, carbonyl oxygens and nitrogens at both vacuum and aqueous medium, especially carbonyl oxygens. These results are consistent with the properties of HA that make them attractive as components of agricultural soils.

Keywords: TNB; Kolla HA models; reactivity descriptors; DFT; HSAB; PCM; metal cations.

INTRODUCCIÓN

Los ácidos húmicos (HA) aumentan la fertilidad, la retención de minerales, la acidez del agua adsorbida y el transporte de contaminantes a través del suelo, también afectan la química de la atmósfera a través del ciclo del carbono.¹⁻³ La gran mayoría de los estudios realizados con sustancias húmicas y fúlvicas se han enfocado en suelos⁴ debido a la propiedad que tienen estas sustancias para recuperar suelos erosionados e infértiles; otro aspecto positivo son sus propiedades ambientales, bioquímicas, y terapéuticas. Aunque existen discrepancias entre las estructuras propuestas para los HA, estas poseen semejanzas en cuanto al número y tipo de grupos funcionales presentes.⁵

Los estudios reportados sobre sustancias húmicas son relativamente escasos, debido a su gran diversidad y ambigüedad estructural. Asimismo, las interpretaciones de las propiedades químicas teóricas de dichas sustancias han sido muy sesgadas en cuanto a predicción de su utilidad e interacción con los principales cationes metálicos de interés vital. Entre los estudios más sobresalientes encontramos: En el año 2007 a Troul y colaboradores, los cuales estudiaron las interacciones de ácidos fúlvicos con benceno y Al (III).⁶ En el mismo año, De Castro y colaboradores reportaron un estudio teórico de la complejación de Zn (II) y Cd (II) con ácidos fúlvicos.⁷ En el 2008, André y colaboradores estudiaron la regioselectividad de Al (III) frente a sustancias con grupos catecol.⁸ En el año 2009, Burk y colaboradores estudiaron las interacciones de cesio con sustancias orgánicas de naturaleza aniónica provenientes del suelo.⁹ En el año 2014, Aquino y colaboradores reportaron las regiones de transferencia protónica de ácidos húmicos.¹⁰ Recientemente, en el año 2017, Kimura y colaboradores estudiaron el efecto de agregación de suelos

y su relación con ácido húmicos como indicadores de restauración de un bosque ribereño.¹¹ En el mismo año, Xu y sus colaboradores estudiaron las estructuras de los ácidos húmicos presente en dos suelos típicos de China.¹²

En la presente investigación se estudiaron las interacciones de dos modelos de ácidos húmicos con los cationes Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ y NH_4^+ . El estudio teórico se realizó bajo el marco conceptual de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) con el fin de conocer la naturaleza de las interacciones de los ácidos húmicos con distintos cationes y su afinidad. Los modelos de HA: fueron el TNB (Temple-Northeastern-Birmingham)¹³ y el de Kolla^{1,3} (ver Figura 1); se utilizaron descriptores de reactividad global como el potencial químico, la electronegatividad y la dureza; y descriptores locales como la suavidad química y las Funciones de Fukui¹⁴⁻¹⁸ para describir su comportamiento.

METODOLOGÍA

Para optimizar la geometría de los HA y sus complejos metálicos se usó la siguiente metodología computacional:

Primero se optimizaron las estructuras HA a un nivel de cálculo semiempírico PM6. Posteriormente, estas geometrías fueron corridas a un nivel DFT utilizando el funcional B3LYP y la función de base 6-31+G (d),¹⁷ para simular la solvatación se usó el modelo continuo polarizable PCM. Las estructuras optimizadas de HA fueron usadas para construir los posibles complejos, los cuales se construyeron teniendo en cuenta los sitios de afinidad electrónica de acuerdo a los descriptores moleculares locales. Por último, se optimizaron las estructuras de los complejos formados entre los sitios activos de HA (sHA) y los cationes mencionados anteriormente, utilizando niveles de cálculos PM6 y DFT/LanL2dz iniciando en una distancia de

*e-mail: eespinos3@cuc.edu.co

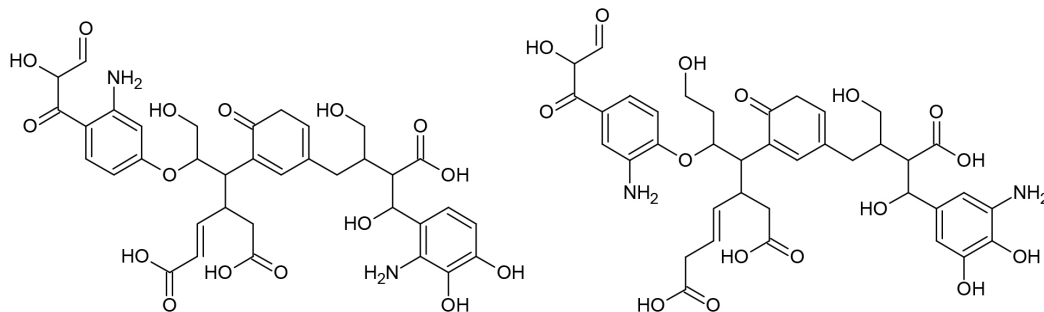


Figura 1 Estructura de los ácidos húmicos según el modelo de TNB y Kolla

enlace M-sHA de 2 Å.^{11,19} La primera optimización de la geometría de los complejos se realizó a nivel PM6.¹³ Luego, esta geometría se tomó como punto de partida para el cálculo de la energía a un nivel DFT/LanL2dz.

Finalmente, los resultados de los diferentes optimizaciones se utilizaron para calcular los descriptores de reactividad química tales como. Suavidad, dureza y funciones de Fukui para los sectores de afinidad electrónica. Todas las geometrías iniciales fueron dibujadas usando el programa Gaussview y los cálculos descriptos anteriormente fueron realizados usando el programa Gaussian 09.^{19,20}

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de las estructuras

Las estructuras iniciales de TNB y Kolla fueron optimizadas exitosamente y no se observaron frecuencias negativas, lo cual asegura que son las estructuras más estables o con la energía más baja. También se observaron varios enlaces de hidrogeno intramolecular, lo cual le da mayor estabilidad y menor energía al sistema molecular HA. Las Figuras 2 y 3 muestran las estructuras, correspondiente a los estereoisómeros RSSRSSR para el modelo TNB y RRRSRSR para el modelo de Kolla. Los isómeros de menor energía fueron los SSRSRSR, para Kolla y RRRSRSR para TNB.

En las estructuras optimizadas de ambos isómeros se observaron dos diferencias marcadas, las cuales fueron el número de enlaces de hidrogeno y la posición de la región ácido carboxílico, lo que le da el carácter ácido a las moléculas HA. Mientras que el modelo TNB presentó un enlace de hidrógeno intramolecular y dos interacciones tipo Van der Waals entre los átomos O---H-C, la estructura de Kolla mostro dos enlaces de hidrógeno intramolecular y tres interacciones

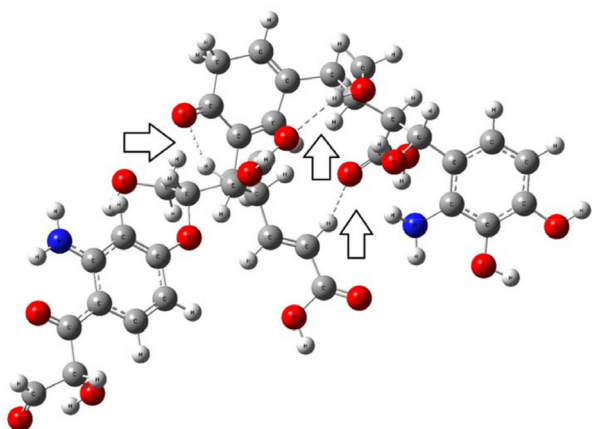


Figura 2. Enlaces de hidrógeno intramolecular y las tres interacciones tipo Van der Waals O---H-C en el stereoisomero RSSRSSR del modelo TNB (Temple-Northeastern-Birmingham)

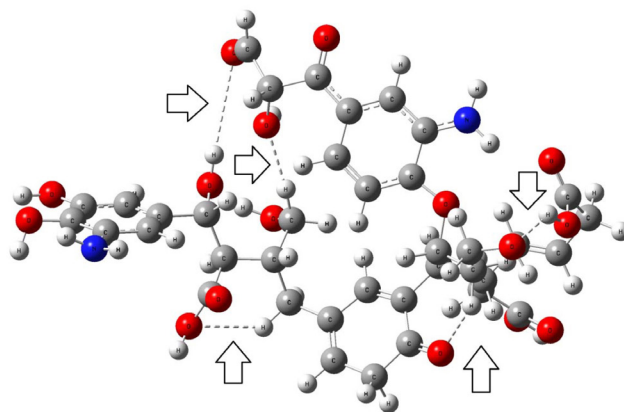


Figura 3. Entaces de hidrogeno intramolecular y las tres interacciones tipo Van der Waals O---H-C en el estereoisomero RRRSRSR del modelo de Kolla

tipo Van der Waals entre los átomos O---H-C., por lo que se puede considerar una estructura más estable y menos susceptible a transportar cationes.

Análisis de los sitios de interacción con cationes

Una vez optimizadas los diferentes isómeros, se usaron los de menor energía para estudiar la interacción con los cationes de mayor importancia en los procesos que ocurren en el suelo, entre los cuales están Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ y NH_4^+ .

Siguiendo el código de colores que muestra el mapa de potencial electrostático (Figuras 4 y 5), las regiones de mayor afinidad nucleofílica o los centros de mayor probabilidad de interacción con cationes para el modelo de Kolla son los átomos de oxígeno 2, 3, 12, 13, 17 y 18 y los átomos de nitrógeno 4 y 16; mientras que para el modelo TNB son los átomos de oxígeno 2, 3, 8, 9, 11, 12, 13, 17 y 18 y los nitrógenos 4 y 16. La ilustración cualitativa de los MEP y los indicadores de las funciones de Fukui para ataques electrófilos (f^+) permitió estimar el punto de partida para simular los diferentes complejos catión-HA. Teniendo en cuenta que valores altos de estos descriptores moleculares indican una alta reactividad. El análisis de los descriptores también mostró que el modelo TNB posee mayor número de sitios activos para interaccionar con cationes. Por su parte los descriptores moleculares suavidad local y funciones de Fukui para un ataque electrófilico mostraron concordancia a lo previsto en los MEP's (ver Tabla 1)

De acuerdo a los átomos de mayor afinidad electrónica y la estructura global de las modelos moleculares, se pudieron establecer las zonas de mayor probabilidad a interaccionar con cationes. Las huecos nucleofílicos quedaron distribuidas en cuatro zonas desde la A hasta la D. (ver Figura 6). De acuerdo a las zonas se simularon los distintos acercamientos catiónicos.

Específicamente, para el modelo TNB, en la región A se

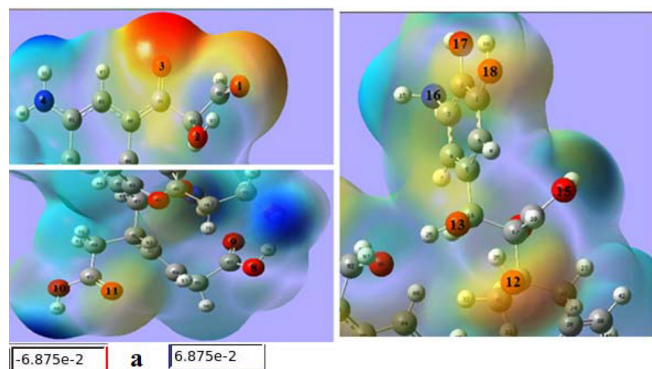


Figura 4. MEP para los átomos más representativos y susceptibles a la interacción con los cationes metálicos del modelo de Kolla

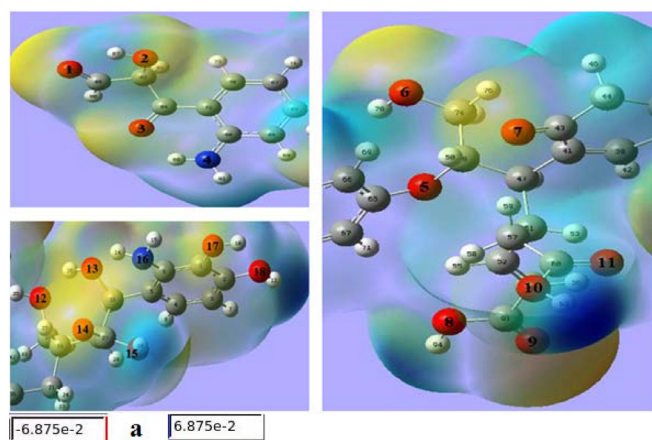


Figura 5. MEP para los átomos más representativos y susceptibles a la interacción con los cationes metálicos del modelo TNB

encuentran los átomos O1, O2, O3 y N4; los átomos con mayor valor en las Funciones de Fukui, N4, O2, y O3 (Tabla 1 y 2) tienen la mayor posibilidad de recibir un ataque electrófilo los cationes. El átomo O1 tiene menos posibilidades de interactuar con los cationes debido a su bajo valor en las Funciones de Fukui. En la región B, la cual presentó mayor reactividad se encuentran los átomos O5, O6 y O7; el O6. En la región C los átomos, O8, O9 y O11, los cuales mostraron un valor muy parecido en las funciones de Fukui lo que hace a esta región muy reactiva. En la región D, los átomos N16, O12, O13, O17 y O18 mostraron, en promedio, los valores más altos en las Funciones de Fukui; esto se debe a que estos átomos se encuentran libres de interacciones o repulsiones con otros átomos o grupos funcionales de la estructura por lo que no comparten su carga

electrónica, además los grupos hidroxilo y amino son excelentes nucleófilos. Sin embargo, para predecir qué átomo es más propenso a sufrir un ataque electrófilico deben usarse en conjunto las Funciones de Fukui y el potencial electrostático molecular.

Para el modelo de Kolla, en la región A los átomos con mayor valor en las Funciones de Fukui fueron: N4, O2 y O3; en la región B el átomo con mayor valor en las Funciones de Fukui fue el O6, en la región C no hay átomos que presenten un valor significativo en este parámetro, y en la región D los átomos con mayor valor fueron N16, O17, O12, O13 y O18. Altos valores de suavidad indican que los átomos son susceptibles a la deformación de la nube electrónica o son fácilmente polarizable. Los átomos con mayores valores de suavidad local y función de Fukui fueron los mencionados arriba, ya que estas funciones se relacionan directamente (Figura 6).

Por otro lado, se observó que los grupos fenólicos, hidroxilos, carboxilatos, carbonilos y amino son más reactivos en medio acuoso que en el vacío.

Generalmente, los valores de dureza fueron bajos y los de suavidad altos,²¹⁻²³ lo cual las hace estructuras susceptibles a la deformación de la nube electrónica tendiendo así a la interacción con un agente electrófilico o a la disociación, por lo que estas estructuras podrían interactuar fácilmente con los metales y otros aceptores de electrones; ambos modelos presentaron valores muy bajos de electrofilicidad y mucho más el de Kolla, por lo que este puede tener más afinidad por los agentes electrófilicos que el modelo TNB.

Por su parte, los cationes tendieron a ser blandos (Tabla 3) excepto el aluminio. Según el principio dureza-suavidad ácido-base (HSAB), las sustancias blandas como los cationes reportados prefieren unirse a los grupos carboxilatos, los cuales también son blandos.²⁴ Igualmente sustancias duras como el aluminio se unen con átomos duros como los oxígenos de los grupos hidroxilos. Los valores bajos de electronegatividad para los ácidos húmicos y altos para los cationes nos indican que hay transferencias de carga desde los ácidos húmicos hacia los cationes. Igualmente, se observaron valores de electrofilicidad bajos de los ácidos húmicos y altos para los cationes, lo cual mostró la dirección del movimiento de las cargas.

Análisis energético de los ácidos húmicos por los cationes

Para determinar la afinidad de los modelos HA de Kolla y TNB por cationes de distinta naturaleza se evaluó la estabilidad de los complejos formados entre los cationes Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ y NH_4^+ y cada cavidad nucleófilica de los isómeros RRRSRSR y RSSRSSR (Figuras 2 y 3). Para este análisis se calculó la energía siguiendo la reacción 1, las cuales están presentadas en la Tabla 4:

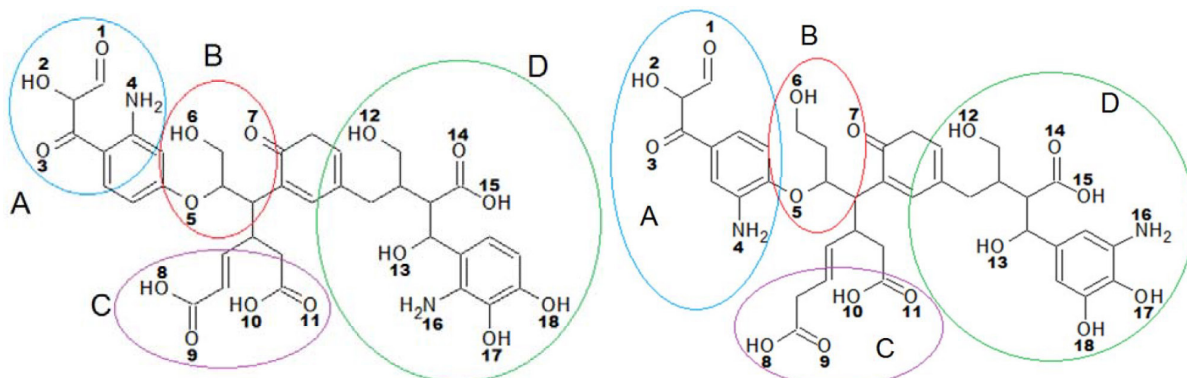
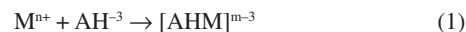


Figura 6. Regiones de afinidad nucleófilica de acuerdo a los indicadores de reactividad local en las estructuras del modelo (TNB) y (Kolla) respectivamente. Las letras A, B, C y D indican los sectores que presentaron mayor probabilidad de interacción frente a un catión

Tabla 1. Valores de las Funciones de Fukui y la suavidad local de los átomos más representativos de los modelos de ácidos húmicos a un nivel DFT/B3LYP/6-31G+(d, p) al vacío o en medio acuoso

Átomos de los estereoisómeros	Isómero RSSRSSR del Modelo TNB				Isómero RRRSRSR del Modelo de Kolla			
	Funciones de Fukui (ua)		Suavidad local (ua)		Funciones de Fukui (ua)		Suavidad local (ua)	
	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso
O1	0,382	0,421	1,264	1,411	0,372	0,412	1,196	1,421
O2	0,523	0,561	1,748	1,872	0,532	0,532	1,739	1,853
O3	0,432	0,478	1,426	1,582	0,460	0,570	1,509	1,987
N4	0,596	0,632	2,065	2,093	0,474	0,456	1,553	1,581
O5	0,294	0,304	0,960	1,000	0,167	0,225	0,549	0,774
O6	0,409	0,466	1,368	1,549	0,494	0,504	1,596	1,748
O7	0,248	0,316	0,837	1,051	0,270	0,326	0,884	1,135
O8	0,436	0,470	1,523	1,551	0,329	0,385	1,062	1,354
O9	0,470	0,539	1,558	1,803	0,392	0,451	1,274	1,558
O10	0,371	0,399	1,226	1,321	0,390	0,456	1,264	1,587
O11	0,451	0,460	1,490	1,546	0,368	0,432	1,196	1,518
O12	0,534	0,592	1,880	1,993	0,451	0,536	1,457	1,861
O13	0,588	0,637	1,970	2,136	0,539	0,519	1,764	1,793
O14	0,323	0,371	1,064	1,245	0,276	0,352	0,884	1,226
O15	0,285	0,323	0,988	1,083	0,266	0,352	0,855	1,207
N16	0,570	0,646	2,033	2,147	0,760	0,665	2,470	2,328
O17	0,578	0,608	1,921	2,029	0,568	0,617	1,862	2,156
O18	0,580	0,599	1,929	2,005	0,513	0,551	1,682	1,910

Tabla 2 Valores de los descriptores de reactividad global (potencial de ionización, afinidad electrónica, dureza, suavidad, electronegatividad, potencial químico, electrofilicidad y carga electrónica máxima) a un nivel B3LYP/6-31+G (d,p)

Descriptores globales (Hartrees)	Modelo TNB		Modelo de Kolla	
	Vacío	Medio acuoso	Vacío	Medio acuoso
Potencial de ionización (PI)	0,243	0,201	0,176	0,119
Afinidad electrónica (AE)	-0,049	-0,090	-0,120	-0,157
Dureza (η)	0,138	0,138	0,141	0,132
Suavidad (S)	3,104	3,110	3,040	3,251
Potencial químico (μ)	-0,096	0,054	-0,026	0,021
Electronegatividad (χ)	0,093	-0,053	0,026	-0,021
Electrofilicidad (ω)	0,030	0,009	0,002	0,002
Carga electrónica máxima (ΔN_{\max})	-0,618	-0,347	-0,166	-0,144

Tabla 3. Valores de los descriptores de reactividad global en Hartrees para los cationes en medio acuoso y vacío a nivel B3LYP/6-31+G (d,p)

	Dureza		Suavidad		Electronegatividad		Potencial químico		Electrofilicidad	
	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso	Vacío	Acuoso
Al ³⁺	0.791	0.616	0.632	0.811	1.191	-0.419	-1.191	0.419	0.896	0.142
NH ₄ ⁺	0.058	0.042	8.693	11.857	0.102	-0.003	-0.102	0.003	0.091	0.000
Ca ²⁺	0.300	0.042	1.669	11.937	0.371	-0.084	-0.371	0.084	0.229	0.084
Mg ²⁺	0.368	0.112	1.359	4.477	0.484	-0.119	-0.484	0.119	0.318	0.064
K ⁺	0.092	0.044	5.413	11.281	0.073	-0.001	-0.073	0.001	0.029	0.000
Zn ²⁺	0.443	0.162	1.128	3.086	0.583	-0.178	-0.583	0.178	0.383	0.097

Las energías de interacción (ΔE) entre HA y los respectivos cationes a un nivel de cálculo DFT B3LYP/LANL2DZ al vacío mostraron valores negativos indicando una fuerte afinidad entre ellos, sugiriendo además que dichas reacciones son espontáneas a condiciones normales. En algunas regiones específicas los cationes mostraron mayor afinidad por los modelos AH; por ejemplo, con el modelo de Kolla, los Al³⁺, Mg²⁺ y Zn²⁺ mostraron mayor afinidad en las regiones A y D de la estructura, ya que las regiones B y C presentaron mayor conectividad por enlaces de hidrógeno. Consecuentemente, los descriptores moleculares indicaron que la

mayoría de los átomos involucrados en la interacción con estos cationes provienen de grupos hidroxilos, unos pocos carbonilos y aminos, y muy pocos carboxilos.

El zinc mostró un comportamiento especial al ser el más fuertemente atraído por el modelo de Kolla en todas sus regiones, como lo indican las energías de interacción con los distintos átomos al vacío

Para el modelo TNB al vacío, los de mayor energía de interacción en promedio fueron Al³⁺, Mg²⁺ y Ca²⁺. Las regiones del estereoisómero que mostraron mayor afinidad por el Al³⁺ fueron las regiones A y D pero para Mg²⁺ y Ca²⁺ fueron las regiones B y C.

suelo, lo cual los hacen atractivos como componentes influyentes en la actividad agrícola.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Faiyz, Y. S. S.; *Arab. J. Chem.* **2012**, doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.12.018.
2. Humus chemistry: genesis, composition and reactions. En: Stevenson F.J., editor. New York: Wiley, 1994.
3. Senesi, N.; *Soil Sci.* **1999**, *164*, 841.
4. Jiménez Montoya, J. A.; *Revista Científica* **1999**, *1*, 143.
5. Le Person, A.; Moncomble, A.; Cornard, J. P.; *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 2646.
6. Trout, C.C.; Kubicki, J. D.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **2007**, *71*, 3859.
7. de Castro, T. R.; da Cunha, F. F. E.; Bicca, R.; Espínola, A.; *Water Air Soil Pollut.* **2007**, *183*, 467.
8. André, E.; Lapouge, C.; Cornard, J. P.; *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 9829.
9. Burk, P.; Tammiku-Taul, J.; Tamp, S.; Sikk, L.; Sillar, K.; Mayeux, C.; Gal, J. F.; Maria, J. P.; *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 10734.
10. Aquino, A. J. A.; Tunega, D.; Schaumann, G. E.; Haberhauer, G.; Gerzabek, M. H.; Lischka, H.; *Geoderma* **2014**, *213*, 115.
11. Kimura, A.; Baptista, M. B.; Scotti, M. R.; *Ecological Engineering* **2017**, *98*, 146.
12. Xu, J.; Zhao, B.; Chu, W.; Mao, J.; Zhang, J.; *Ecological Engineering* **2017**, *576*, 444.
13. Vivas-Reyes, R.; Arguello, E.; Ayazo, H.; *Revista de la Real Academia de Ciencias de Zaragoza* **2007**, *62*, 99.
14. Geerlings, P.; De Proft, F.; Langenaeker, W.; *Density Functional Theory: A bridge between Chemistry and Physics*, VUB Press: Brussel, 1998.
15. Jassen, F.; *Introduction to Computational Chemistry*, Wiley: Hoboken, **2006**.
16. Szabo, A.; Ostlund, N. S.; *Modern Quantum Chemistry. Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. Dover Publications: Mineola, **1996**.
17. Hehre, W. J.; Radom, L.; Schleyer P. V. R.; Pople, J.; *Ab initio molecular orbital Theory*, Wiley: New York, **1986**.
18. Foresman, J. B.; Frisch, A.; *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, 2nd ed., Gaussian Inc., **1996**.
19. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J.; *Gaussian 09, Revision B.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
20. Kolla, S.; Paciolla, M. D.; Sein, L. T.; Moyer, J.; Walia, D.; Heaton H.; Jansen, S. A. In *Humic Substances: Structures, Properties and Uses*; Ghabbour, E.A., Davies G., eds.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1998. pp. 215-225.
21. Vivas-Reyes, R.; Zapata, J.; *Rev. Colomb. Quim.* **2008**, *37*, 145.
22. Vivas-Reyes, R.; Espinosa-Fuentes, E.; Forigua, J.; Arias, H.; Gaitán, R.; Arguello, E.; *J. Mol. Struct.: THEOCHEM* **2008**, *862*, 92.
23. Pumachagua, R.; Pecho, R. H.; Pino, R. H.; Nagles, E. O.; Hurtado, J. J.; *Rev. Soc. Quim. Peru* **2010**, *76*, 92.
24. Chattaraj, P. K.; Lee, H.; Parr, R. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1855.