

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA MATERIA ORGÁNICA NATURAL DEL RÍO PASTO

Milton Rosero Moreano^{1,2}, Cristina Nerín de la Puerta², Gonzalo Taborda Ocampo¹, Gloria Rodríguez Martínez³

Resumen

Rosero Moreano, M., C. Nerín de la Puerta, G. Taborda Ocampo, G. Rodríguez Martínez: Caracterización química de la materia orgánica natural del río Pasto. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **35** (136): 363-369, 2011. ISSN 0370-3908.

Este trabajo muestra los aspectos más relevantes relacionados con la primera caracterización química de la materia orgánica natural del río Pasto. Para este propósito fue necesario el uso de técnicas de análisis instrumental moderno tales como la: Termoquimólisis-CG-MS, Cromatografía de fraccionamiento en flujo mediante campos; plasma acoplado inductivamente acoplado a espectrometría de masas ICP-MS. Los resultados muestran que los principales componentes de esta materia fueron compuestos orgánicos tales como ácidos carboxílicos, compuestos aromáticos con pesos moleculares alrededor de 5 kDa. La presencia de hierro y cromo son signos de una posible contribución de suelos volcánicos del área ricos en pirita y algunos efluentes descargados sin control de la pequeña industria artesanal del cuero respectivamente.

Palabras claves: MON, termoquimólisis-CG-MS, fraccionamiento en flujo mediante campos, río Pasto.

Abstract

This work shows the more relevant issue related with the first chemical characterization of natural organic matter of Pasto River. Modern instrumental analysis techniques such as Thermochemolysis-GC-MS; Field flow fractionation chromatography and Inductively coupled plasma mass spectrometry ICP-MS were necessary. The results showed that the main composition of this matter were organic compounds such as carboxylic acids, aromatic compounds with molecular mass around 5 kDa. The presence of iron and chromium ions are signs of a possible contribution of pyrite-rich volcanic soils of the area and some effluent discharged without control of the small artisanal leather industry respectively.

Key words: NOM, thermochemolysis-GC-MS; field flow fractionation; Pasto's river.

¹ Departamento de Química, Universidad de Caldas, Calle 65 No. 26-10, A.A. 265 Manizales, Colombia.

² Departamento de Química Analítica, Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón I3A, EINA, Campus río Ebro. Universidad de Zaragoza, Edificio Torres Quevedo, Calle María de Luna 3,50018 Zaragoza, España.

³ Empresa de Obras Públicas y Sanitarias de Pasto EMPOPASTO Pasto, Colombia.

Introducción

En la actualidad los tratamientos en las plantas potabilizadoras dirigen su objetivo esencial de eliminación en la materia orgánica natural MON, dada la alta formación de subproductos de desinfección, el detrimento de la calidad visual por la presencia de olores y sabores desagradables, la formación de biopelículas de la fracción remanente a lo largo de las tuberías de conducción del agua con el riesgo microbiológico que ello representa y la aducción de metales por el alto grado de acomplejamiento que presenta (Pavel, J. 2003; Laborda, F. 2008; Laborda, F. 2009; Matilainen, A. 2010). Los procesos avanzados de oxidación PAOs para la remoción de MON han venido tomando gran repercusión (Matilainen, A. 2010); pero definitivamente a pesar del gran avance en su eliminación, la identificación exhaustiva de la composición de la materia orgánica natural requiere de instrumental analítico muy robusto (Wu, F.C. 2007). La separación cromatográfica sin duda alguna es la técnica que más se ha utilizado para el estudio de este tipo de moléculas cuyos pesos moleculares elevados (> 9000 Da), alta carga neta por la diversidad de sus grupos funcionales, alta labilidad que le confiere su capacidad de asociaciones intermoleculares condicionada por el pH hacen exigente su estudio de composición (Christy, A.A. 1999; Specht, C.H. 2000; Pavel, J. 2003; Wu, F.C. 2007).

El método de termoquimiólisis con hidróxido de tetrametilamonio (TMAH) ha sido recientemente introducido para la caracterización cualitativa de la materia orgánica de las aguas naturales (MON) (Challinor, J.M. 1995; Del Río, J.C. 1998; Christy, A.A. 1999; Mannino, A. 2000; Lehtonen, T. 2000; Frazier, S.W. 2003; Joll, C.A. 2004). Esta caracterización aunque resultó de carácter cualitativo, se utilizó un patrón interno para evaluar las interferencias espectrales y el rendimiento de la reacción de esterificación con TMAH. El fraccionamiento en flujo mediante campos FFF es uno de los métodos menos comunes para la determinación de pesos moleculares, y fue aplicado por primera vez para ácidos húmicos y fúlvicos en los finales de 1980 (Beckett, R. 1987; Pavel, J. 2003; Kowalkowski, T. 2006). Debido a la conocida complejidad y naturaleza de la MON con su alta variabilidad estructural y características de grupos funcionales diversos, la espectroscopia de RMN resulta apropiada y arroja información clave en su elucidación (Chen, J. 2002).

El principal objetivo de este trabajo consiste en dar luces sobre las características químicas de la materia orgánica del río Pasto principal fuente de abastecimiento de la ciudad y que permita el entendimiento de su influencia en la características del agua y el emprendimiento de posibles

acciones para disminuir el riesgo químico asociado con la desinfección en la planta y las reacciones conocidas de formación de subproductos (Chamorro-Bolaños, X. 2009) dado el alto contenido de materia orgánica y color presente en las aguas (Chamorro-Bolaños, X. 2010) y que supone según las revelaciones de este estudio son de origen natural.

Materiales y métodos

Muestreo de agua cruda en la planta de potabilización

Las muestras se tomaron en el canal de entrada a la planta Centenario de la ciudad de Pasto, fueron muestras compuestas y se tomaron 8 alícuotas horarias continuas desde las 8:00 a.m. hasta las 3:00 p.m. hasta completar el volumen total de 100 litros en envases de LDPE previamente lavados. Se realizaron dos muestreos: Primer muestreo, 11 de noviembre de 2008 y segundo muestreo del 26 de agosto de 2010 (mezcla río Pasto 450 l/s + río Bobo 120 l/s).

Liofilización de las muestras de agua del río Pasto

La introducción de muestras se hizo en el módulo FreeZone Stoppering Tray Dryer Freeze Dry System Modelo 79480 y el sitio de producción capa de hielo es un FreeZone 12 Liter Freeze Dry System Modelo 77540 y ambos equipos son marca Labconco. La programación de temperaturas en el liofilizador es la siguiente: permanece a -30°C durante 2 horas y luego pasa a 30°C y se deja la muestra durante 40-48 horas. Por cada muestreo separadamente se tomaron 800mL de agua cruda del río Pasto que se liofilizaron y se obtuvieron 0,04 g de muestra sólida, se recogieron en un vial de plástico y se trasladaron en avión comercial desde el sitio de muestreo. Pasto-Colombia hasta el lugar de análisis en Zaragoza-España, bajo todas las consideraciones de conservación y preservación de muestras.

Instrumental

GC-MS CombiPal HP6890 con automuestreador

Equipo GC-MS CombiPal HP6890 con automuestreador marca Hewlett Packard Horno: Rampa: Temperatura inicial 40°C , se incrementa hasta 310°C a $8,00^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Tiempo de análisis 35,75 minutos Inyección: Modo: Splitless Temperatura inicial 310°C Presión: 7,05 psi Flujo total: 103,6 mL/min Gas de arrastre: He Volumen de inyección: 2,00 microlitros Columna: J&W 122-5532 DB-5ms (30,0 m x $250\ \mu\text{m}$ x $0,25\ \mu\text{m}$) Modo: flujo constante Flujo inicial: 1,0 mL/min Detector: MSD Modo adquisición: Scan Tiempo de corte solvente: 2,00 min Modo EMV: Relativo Voltaje relativo:

200 Voltaje resultante EM: 1682 Parámetros Scan Masa baja: 35,0 Masa alta: 500,0 Fuente MS: 230°C Cuadrupolo MS: 150°C. Para el análisis de termoquimiólisis con TMAH de la MON, la muestra liofilizada del río Pasto, se homogenizó y 1,0 mg de la muestra se colocó en una ampolla de vidrio con 200 μ L de TMAH (25% en metanol). El metanol se evapora bajo una corriente de nitrógeno y la ampolla de vidrio fue sellada al vacío y luego se hornea a 250°C durante 30 minutos. Después las ampollas se enfriaron para evitar la pérdida de productos, luego se rompieron las ampollitas y en ese momento se adicionaron 50 μ L de patrón interno de 38 ppm (eicosano) en una solución en acetato de etilo (1,9 μ g en total de patrón interno). Los productos fueron extraídos de la ampolla con 1 μ L de acetato de etilo y se concentró en un vial de CG bajo una corriente de gas nitrógeno a aproximadamente 200 μ L. Estas muestras se prepararon por duplicado. Finalmente se inyectaron 2.0 μ L en el equipo de CG-MS.

Fraccionamiento en flujo mediante campo de flujo asimétrico (AsFIFFF)

Equipo AF2000 Focus Series de Postnova Analytics Principio rango de medición: Partículas: 1nm hasta 100 μ m Polímeros: 500 Da hasta 10¹² Da Dimensiones del canal: Volumen: entre 0,5-2,5 mL. Tamaño: 335 x 60 x 40 mm Espesor: 250 μ m Líquidos transportadores: Acuoso: agua MilliQ pH aprox. 7.00 Membrana: Material: Poliácrlato Masa molar: 1 kDa Tamaño de corte: 10 nm Detector: Detector de arreglo de diodos PDA UV-Vis Rango de flujo del canal: 1.0 mL/min Rango de flujo cruzado: 3,0 mL/min Volumen de inyección: 100 μ L. Para el análisis por fraccionamiento en flujo mediante campos se pesaron 0,0044 g de muestra liofilizada y se diluyó con agua a 20 mL.

Plasma acoplado inductivamente con detector de masas ICP-MS

Equipo 7500 Series ICP-MS *Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry*, de Agilent Cámara de spray peltier Generador de radiofrecuencia: 27,12 MHz Sistema de antorcha: de escudo Sistema de nebulización: Tipo Babington *Peak pattern: Full Quant* (3 puntos centrales por pico) Tiempo de integración: 0.1 s. Tiempo de integración por masa: 0,3 s. Número de repeticiones: 5 Separador de masas: cuadrupolo. Para el análisis por ICP-MS se pesaron 0,0086 g de muestra liofilizada y se adicionaron 58,0303 g de HNO₃ 1%; para el caso del hierro se requirió una nueva dilución de 1,0082 g de la anterior en 9,7376 g de HNO₃ 1%. La recta de calibración se preparó a partir de la solución estándar multielemento (Fe, Cr, Cd y Pb) de 1000 \pm 1 ppm preparando inicialmente una solución de trabajo de 8,9597 ppm y a partir de esta se construyó un rango de concen-

tración desde 9,4546-193,9306 ppb en envases de plástico de polietileno de baja densidad LDPE y pipetas pasteur de plástico y enrasando con HNO₃ 1% todo bajo control gravimétrico. Los isotopos de los cuatro elementos utilizados para la cuantificación en consideración de su abundancia, bajas interferencias espectrales y de matriz y oportunidad fueron: Fe₅₆; Cr₅₃; Cd₁₁₁ y Pb₂₀₆.

Resultados y discusión

Lecturas por GC-MS

Del análisis en modo scan por Termoquimiólisis-GC-MS para las muestras en estudio (ver figura 1) se identificaron en el estándar de ácidos húmicos Sigma-Aldrich 142 compuestos, en la muestra liofilizada río Pasto 1, 51 compuestos y en la muestra 2, 68 compuestos. En las dos muestras evaluadas de MON y en el patrón de ácidos húmicos se apreciaron con gran intensidad picos entre 23 y 28 minutos que corresponden por comparación con la librería espectral de la compañía Wiley (mínimo 90% de probabilidad) a la familia de los FAME (ésteres metílicos de ácidos grasos) en especial los ésteres metílicos de los ácido hexadecanoico (palmitato) y octadecanoico (estearato). Estos compuestos tienen origen microbiano y vegetal a partir de la degradación de lípidos y triglicéridos (Lehtonen, T. 2000) y según (Frazier, S.W. 2003) varían en tamaño a partir del éster metílico del ácido octanoico hasta el éster metílico del ácido tetratricontanoico, donde el éster metílico del ácido hexadecanoico y el éster metílico del ácido octadecanoico a menudo son los picos más prominentes en muestras de MON de río. Para reseñar igualmente que los picos marcados con asterisco en la figura 1 corresponden a compuestos de siloxano metil derivados debido a procesos de desangramiento de la columna y que ratifican que el proceso de derivatización de termoquimiólisis con TMAH es efectivo.

Y dada la reacción previa de derivatización por esterificación es de suponer que su ácido graso de origen sería el ácido hexadecanoico. En 23,941 minutos se identificó el estándar interno de eicosano y como se nota es el pico más grande. Respecto a la comparación entre muestras y patrones en este último hay muchos mas componentes y en mayor cantidad (entre 24 y 32 minutos), lo que hace presumible que las concentraciones de compuestos que a continuación se listan y cuyo porcentaje de similitud según la librería NIST de la compañía Wiley fue superior al 85%, están en concentraciones de trazas (ppb o ppt):

El origen de muchos compuestos que contienen nitrógeno y azufre en muestras de MON aunque aún no es claro, si orienta sobre el carácter posible de sus precursores

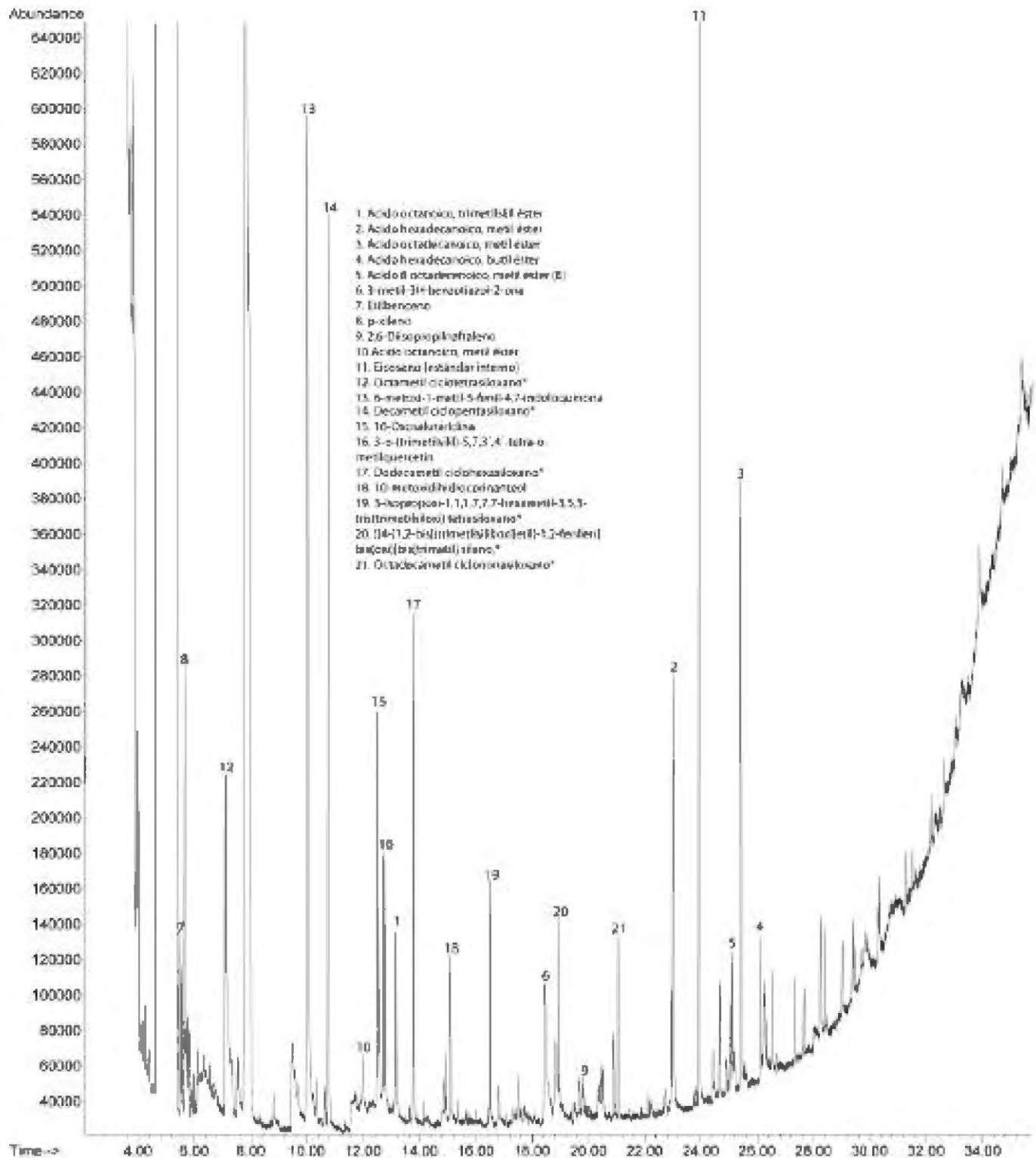


Figura 1. Espectro de masas TMAH GC-MS muestra liofilizada del río Pasto.

a partir de la reacción de termoquimiólisis con TMAH, en el caso de compuestos del tipo benzotiazol (tabla 1) es claro que su precursor es el dimetilsulfoniopropionato, base de muchos aminoácidos esenciales (Joll, C.A. 2004). Los compuestos conteniendo nitrógeno presentes en la muestra liofilizada de MON del río Pasto como los que aparecen en la figura 2 pueden ser derivados de proteínas mientras que otros han sido identificados como productos que no son fuente específica del procedimiento de la reacción de termoquimiólisis con TMAH realizada en este estudio como el correspondiente compuesto 6-metoxi-1-metil-5-fenil-4,7-indoloquinona (ver figura 2).

Los compuestos derivados del benceno (etilbenceno y xileno) (ver figura 1 y tabla 1) encontrados en estas muestras del río Pasto y en general en la MON de muestras de río ayudan a seguir especulando sobre el carácter y naturaleza de aromaticidad en la estructura de la MON, y cuyo origen puede encontrarse de las proteínas, lignina, carbohidratos y taninos. Muy concretamente el compuesto polihidroxiaromático de quercetin (figura 1 pico 16) corresponde a un pigmento natural de plantas (Joll, C.A. 2004) y que también evidencia que la reacción de derivatización es efectiva. Los demás compuestos relacionados con familias de alcoholes, azufrados y alifáticos tendrían algún origen de derivados de proteínas.

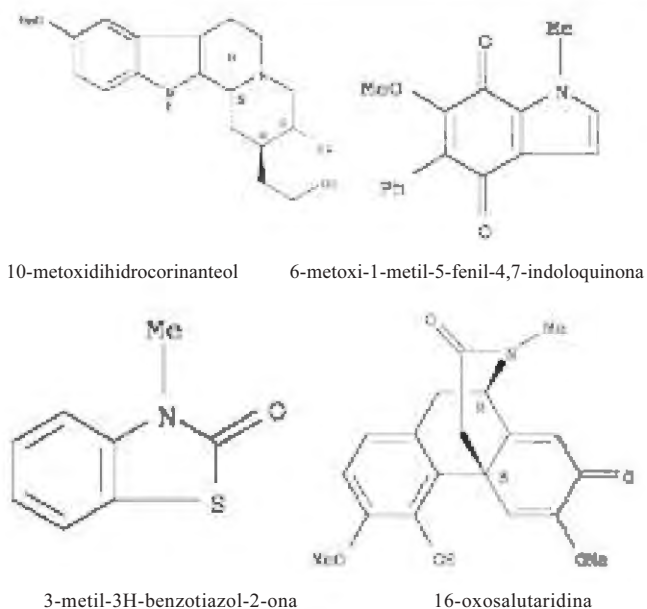


Figura 2. Estructuras de compuestos nitrogenados presentes en la MON del río Pasto.

Se presenta un método potente y robusto para el análisis de la materia orgánica natural, cuyos resultados develan la gran complejidad de compuestos que se encuentran en el agua del río Pasto (preliminarmente se identificaron mas

Tabla 1. Principales compuestos identificados en muestras liofilizadas del río Pasto por Termoquimiólisis GC-MS.

Item	Compuesto	t _R /min	Pico base/umas
Aromáticos			
1	Etilbenceno	5.505	91
2	p-Xileno	5.671	91
FAME²			
3	Acido acético, etil éster	2.654	43
4	Acido octanoico, trimetilsilil éster	13.153	73
5	Acido hexadecanoico, metil éster	23.011	74
6	Acido octadecanoico, metil éster	25.412	74
7	Acido hexadecanoico, butil éster	26.086	56
8	Acido 8 octadecenoico, metil éster (E)	25.124	55
9	Acido hexanodioico, dioctil éster	28.247	129
Conteniendo Nitrógeno			
10	6-metoxi-1-metil-5-fenil-4,7-indoloquinona	10.008	267
11	16-oxosalutaridina	12.511	341
12	10-metoxidihidrocortanteol	15.084	327
Conteniendo grupos OH			
13	2-metilpentan-1-ol	3.114	43
Conteniendo Azufre			
14	3-metil-3H-benzotiazol-2-ona	18.459	136
Cadenas alifáticas			
15	2-etil-1-hexeno	26.514	70

² FAME: ésteres metílicos de ácidos grasos.

de 40 compuestos agrupados en 6 familias químicas importantes) y cuyas fuentes en general tiene causas naturales y que se discriminan los posibles orígenes de cada tipo de familias, y que requiere su observación juiciosa en el momento de eliminación porque la incidencia en la calidad del producto final es total.

Lecturas por AsFIFFF

Se inyectó la muestra (volumen 100 μ L) en el sistema de separación AsFIFFF acoplado a un detector UV-Vis de arreglo de diodos. Los resultados del análisis se muestran a continuación:

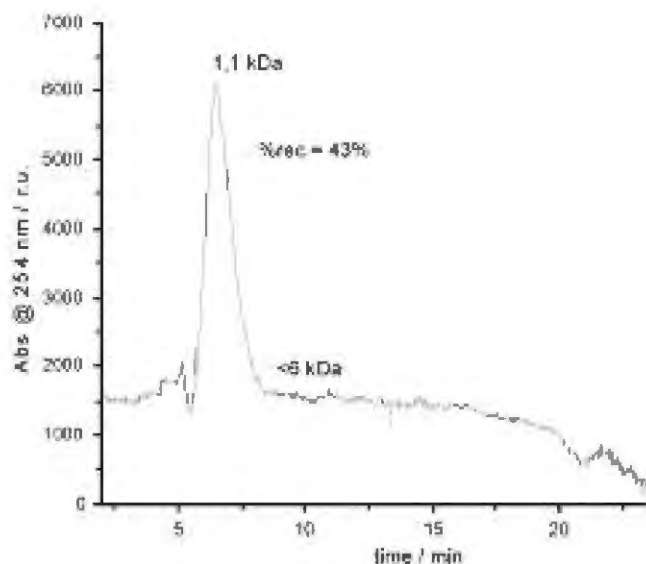


Figura 3. Fractograma muestra liofilizada del río Pasto.

La muestra contiene materia orgánica en el rango de hasta 5-6 kDa [tamaños en función de la calibración hecha frente a estándares de tamaño de poliester sulfonas (PSS)]. El hecho de que el máximo aparezca a una masa de 1,1 kDa se debe al uso de una membrana de permeación de un tamaño de poro de 1 kDa, por lo que especies de menor tamaño son filtradas a través de la misma y no es posible su caracterización. El porcentaje de este tipo de especies de bajo peso molecular puede estar próximo al 50-60% de acuerdo a la recuperación obtenida (calculada a partir del área del pico de la muestra sin pasar por el canal, y el área del pico del fractograma obtenido a 254 nm). Se adjunta el espectro de absorción en el máximo del pico del fractograma.

El 43% de los compuestos tienen un peso entre 5 y 6 kDa, denotando la presencia de compuestos de alto peso molecular con anillos aromáticos y cadenas carbonadas saturadas extremadamente complejas donde prevalece una

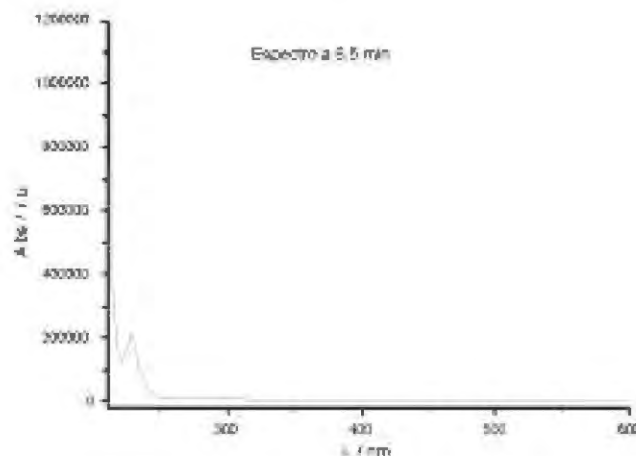


Figura 4. Espectro de absorción UV-VIS muestra liofilizada del río Pasto.

mezcla de moléculas orgánicas que abarcan una gran variedad de pesos moleculares.

Resulta contundente en la elucidación de las características químicas y de composición de la MON del río Pasto, el máximo de absorción obtenido en la muestra a 254 nm, donde normalmente estos compuestos tienen su máximo de absorción típico de estas sustancias húmicas y fúlvicas, debido a su constitución de sistemas p-conjugados con alta aromaticidad y ricos en grupos cromóforos que absorben en el ultravioleta visible.

Lecturas por ICP-MS

De los cuatro iones evaluados de especial interés resultaron con concentraciones importantes el hierro y el cromo (Fe^+ 2149.9 ppm; Cr^+ 26,4 ppm) en tanto que iones como cadmio y plomo mostraron niveles por debajo del límite de detección de la técnica que bordean los 0,6 y 6 ppb respectivamente. Este contenido de hierro y la reconocida capacidad acomplejante de la materia orgánica (Laborda, F. 2008; Laborda, F. 2009) en especial de compuestos fenólicos y aromáticos presentes en estas muestras podrían explicar la constante aparición de color rojizo en las aguas del río Pasto. La presencia de cromo puede estar relacionada con el aporte de la microindustria artesanal de la curtiembre y marroquinería que se asienta a la vera del río y hacen sus descargas sin controles efectivos.

Conclusiones

A pesar que la caracterización fue preliminar y cualitativa, confrontando todos los resultados que se obtuvo por diferentes técnicas, (termoquimiólisis-GC/MS, AsFIFFF

y ICP-MS) y aunque no hay un referente de este tipo de análisis en esta muestra del río Pasto frente a la determinación de compuestos por CG, ni de su ambiente protónico o de sus pesos moleculares como tal, si se esperaba unos rangos de masa entre 5 y 6 kDa, atendiendo que las mayoría de compuestos encontrados tras el análisis de termoquimiólisis fueron ácidos carboxílicos, compuestos nitrogenados, compuestos fenólicos y algunos aromáticos, entre otros y todos de origen natural, además que la influencia de la zona por sus suelos volcánicos ricos en piritita pueda ser la razón de la coloración rojiza de las aguas debido a los complejos coloreados que se estarían formando algunos constituyentes de la MON con el hierro en solución imprimiéndole color a las aguas del orden de 40-120 UPC (Galeano L.A. 2011).

Agradecimientos

M. Rosero-Moreano expresa agradecimientos al personal de laboratorio de las instituciones CENICAFÉ (Colombia) y Universidad de Zaragoza (España) por la liofilización, y toma de fractogramas sin ningún costo y muy especialmente a los Doctores Iñiqui Delso y Eduardo Bolea del Departamento de Química de la Universidad de Zaragoza-España por toda la ayuda recibida. Igualmente a COLCIENCIAS por la financiación del proyecto código 1127-489-25606.

Referencias bibliográficas

- Beckett, R. 1987. "Determination of molecular weight distributions of fulvic and humic acids using flow field-flow fractionation." *Environmental Science Technology* **21**(3):289-295.
- Challinor, J. M. 1995. "Characterisation of wood by pyrolysis derivatisation-gas chromatography/mass spectrometry." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **35**:93-107.
- Chamorro-Bolaños, X. 2009. "Determinación de precursores orgánicos y trihalometanos en agua para consumo humano de la planta Centenario de la ciudad de Pasto. Pasto, Universidad de Nariño. Química: 111.
- _____, Enríquez, A.; Rodríguez, G.; Rosero-Moreano, M. 2010. "Montaje y validación del método de análisis de combustión y detección por infrarrojo no dispersivo para determinación de carbón orgánico total (COT) en agua." *Revista Luna Azul* (30):1909-2474.
- Chen, J.; Gu, B.; LeBoeuf, E.; Pan, H.; Dai, S. 2002. "Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions" *Chemosphere* **48**:59-68.
- Christy, A.A.; Bruchet, A.; Rybacki, D. 1999. "Characterization of natural organic matter by pyrolysis/GC-MS" *Environment International* **25**:181-189.
- Del Rio, J.C.; McKinney, D.E.; Knicker, H.; Nanny, M.A.; Minard, R.D.; Hatcher, P.G. 1998. "Structural characterization of bio- and geo-macromolecules by off-line thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide." *Journal of Chromatography A* **823**:433-448.
- Frazier, S.W.; Nowak, K.O.; Goins, K.M.; Cannon, F.S.; Kaplan, L.A.; Hatcher, P.G. 2003. "Characterization of organic matter from natural waters using tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis GC-MS." *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **70**:99-128.
- Galeano, L.A.; Bravo, P. F.; Luna, C.; Vicente, M.A.; Gil, A.; Rosero-Moreano, M.; Delgado, S.X; Rodríguez, G. 2011. "Removal of natural organic matter from a surface feedstock for drinking water production by Al/Fe-PILC - catalysed wet peroxide oxidation". Valladolid, International Water Association Conference.
- Joll, C.A.; Couton, D.; Heitz, A.; Kagi, R. 2004. "Comparison of reagents for off-line thermochemolysis of natural organic matter." *Organic Geochemistry* **35**:47-59.
- Kowalkowski, T.; Buszewski, B.; Cantado, C; Dondi, F. 2006. "Field-Flow Fractionation: theory, techniques, applications and the challenges." *Critical reviews in analytical chemistry* **36**:129-135.
- Laborda, F.; Bolea, E.; Górriz, M.P.; Martín-Ruiz, M.P.; Ruiz-Beguiría, S.; Castillo, J.R. 2008. "A speciation methodology to study the contributions of humic-like and fulvic-like acids to the mobilization of metals from compost using size exclusion chromatography-ultraviolet absorption-inductively coupled plasma mass spectrometry and deconvolution analysis" *Analytica Chimica Acta* **606**(1):1-8.
- _____, Ruiz-Beguiría, S.; Bolea, E.; Castillo, J.R. 2009. "Functional speciation of metal-dissolved organic matter complexes by size exclusion chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry and deconvolution analysis" *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **64**(5):392-398.
- Lehtonen, T.; Peuravuori, J.; Pihlaja, K. 2000. "Characterisation of lake-aquatic humic matter isolated with two different sorbing solid techniques: tetramethylammonium hydroxide treatment and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry." *Analytica Chimica Acta* **424**:91-103.
- Mannino, A.; Rodger-Harvey, H. 2000. "Terrigenous dissolved organic matter along an estuarine gradient and its flux to the coastal ocean." *Organic Geochemistry* **31**:1611-1625.
- Matilainen, A.; Sillanpää, M. 2010. "Removal of natural organic matter from drinking water by advanced oxidation processes." *Chemosphere* **80**:351-365.
- Pavel, J. 2003. "Separation methods in the chemistry of humic substances." *Journal of Chromatography A* **983**:1-18.
- Specht, C.H.; Kumke, M.U.; Frimmel, F. H. 2000. "Characterization of NOM adsorption to clay minerals by size exclusion chromatography." *Water Research* **34**:4063-4069.
- Wu, F.C.; Evans, R.D.; Dillon, P.J.; Cai, Y.R. 2007. "Rapid quantification of humic and fulvic acids by HPLC in natural waters." *Applied Geochemistry* **22**:1598-1605.

Recibido: julio 18 de 2011.

Aceptado para su publicación: agosto 30 de 2011.

