



Universidad de Matanzas

Sede Camilo Cienfuegos

Facultad de Ciencias Técnicas

Departamento de Química

*TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO*

*TÍTULO: Optimización del proceso de separación y
fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de la
cachaza*

Autor: Nailyn Vazquez Martínez de Valdivielso

Tutor: MSc. Irina Pedroso Rodríguez

DrC. Jesús Luis Orozco

Matanzas

Julio, 2018

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del tribunal

Miembro del tribunal

Miembro del tribunal

DECLARACIÓN DE AUTORIDAD

Declaro que soy la única autora de este Trabajo de Diploma y autorizo a la Facultad de Ciencias Técnicas, Departamento de Química, de la Universidad de Matanzas a que haga uso parcial o total del mismo con la finalidad que estime conveniente, siempre y cuando se respeten mis derechos sobre el mismo.

Firma

PENSAMIENTO

*"La ciencia será siempre una búsqueda,
Jamás un descubrimiento real. Es un
viaje, nunca una llegada."*

Karl R. Popper.

DEDICATORIA

A mi madre y a mi padre por su apoyo siempre, dedicación, sacrificio, por estar a mi lado en los momentos más difíciles, por ser la razón de mi vida y mostrarme que todo es posible, por darme fuerzas, por su lucha constante y por siempre confiar en mí.

A mi abuela América por darme su apoyo donde quiera que esté.

A mi familia en general, por todos estos años de entrega.

A mis tías Fina y Odalys por siempre confiar en mí.

A mi prima Lilita por saber estar siempre.

A mis amistades que me aprecian.

Para aquellas personas que no confiaron en mí.

Para ustedes que hoy ven el fruto de mis estudios y esfuerzos.

AGRADECIMIENTOS

En el transcurso de estos años, los conocimientos adquiridos han sido imprescindibles para la cúspide de este trabajo, siendo el fruto de la consagración de muchas personas que han estado involucradas conmigo durante todo este periodo...

A mis tutores, en específico a Irina, por transmitirme conocimientos, ecuanimidad y seguridad para el éxito del mismo, y por confiar siempre en mí...

A mis compañeros de aula por todos los buenos y malos momentos que pasamos juntos.

A los técnicos de laboratorio Anita y Lisdeisi, y al profesor Paco, a todos por su ayuda

A mis compañeros de estudio, por su apoyo siempre, por su paciencia y dedicación...

A todos mis amigos por ayudarme a superar momentos de tristeza por grandes momentos de felicidad...

A Todos, muchísimas gracias...

RESUMEN

En la actualidad existe un avance en el uso de sustancias orgánicas como fertilizantes, donde los ácidos húmicos juegan un papel importante, existiendo varios métodos de extracción. La torta de filtro, un residuo de la producción de azúcar es una fuente rica y renovable de materia orgánica y esas características la tornan una posible fuente de sustancias promotoras de crecimiento vegetal. Este trabajo determina las condiciones operacionales óptimas de extracción de los ácidos húmicos a partir de la cachaza. Se planifica un diseño experimental compuesto central, donde los factores son relación sólido – líquido, tiempo de EB y tiempo de EA. La cachaza presenta 74,57 % de MO, un contenido de cenizas de 25,43 %, pH igual a 6,2 y 65,02 % de humedad, con elevada disponibilidad de la misma para la producción de 1 tonelada de AH mensual por 5 meses. Se obtiene que en la etapa de separación de las sustancias húmicas influye la relación S/L y el tiempo de EB, mientras que en el fraccionamiento solo influye la relación sólido – líquido. Las condiciones operacionales óptimas de extracción de MO en el ácido húmico son: relación S/L igual a 0,12 g/mL, tiempo (EB) de 10 h y tiempo (EA) de 10 h, con un valor óptimo de 15,27% y un beneficio bruto igual a 824,38 \$/h.

ABSTRACT

At present there is a great advance in the use of organic substances like fertilizers, being the humic acids one of them, existing diverse forms of extraction. The filter cake, a waste of sugar production, is a rich and renewable source of organic matter and these characteristics place the filter cake as a possible source of plant growth promoting substances. This work determinate the optimum operations condition of humic acids from this waste. This work determinate the optimum operations conditions of humic acids extraction from this waste. Planning a orthogonal central composite design, the factors are: solid liquid ratio, basic and acid extraction time. The raw material present a organic matter 74,57 %, ash content 25,43 %, 6,2 of pH and the humidity is 65,02 %, with high availability. It is obtained for that during the stage of humic substances separation the solid-liquid ratio and basic extraction time influences significantly, and while in the HSs fractionation the solid-liquid ratio influence. The humic acid organic matter extraction optimum operations conditions are: solid-liquid ratio of 0,12 g/mL, basic extraction time de 10 h and acid extraction time de 10 h, with optimum value of 15, 27 % and gross profit of 824,38 \$/h.

ÍNDICE

	Pág.
Introducción	1
Capítulo I. Fundamentación teórica	3
1.1 Sustancias húmicas	3
1.1.1 Ácidos húmicos	4
1.1.2 Ácidos fúlvicos	6
1.1.3 Huminas	6
1.2 Métodos de extracción	7
1.3 Fuentes de sustancias húmicas	14
1.4 Usos de los ácidos húmicos	15
1.4.1 Usos en la agricultura.....	15
1.4.2 6Otros usos de los ácidos húmicos	16
1.4.3 Aplicaciones de ácidos húmicos en la medicina	18
1.4.4 Aplicaciones en las áreas farmacéuticas y cosméticas.....	19
1.4.5 Toxicidad de los ácidos húmicos.....	20
1.5 Conclusiones parciales del capítulo	20
CAPÍTULO II. Materiales y métodos	22
2.1 Descripción del método de extracción	22
2.2 Diseño experimental	25
2.3 Herramientas estadísticas	27
2.4 Técnicas analíticas utilizada en la investigación.....	28
2.4.1 Técnica operatoria para la determinación de humedad.....	28
2.4.2 Técnica operatoria para la determinación de las cenizas y de MO	28
2.4.3 Técnica para determinar el pH de la cachaza.....	29
2.5 Valoración económica	29
Capítulo III. Resultados y discusión	31
3.1 Caracterización de la materia prima	31
3.2 Análisis de la etapa de extracción básica	31
3.3 Análisis de la etapa de extracción ácida	37
3.4 Valoración económica	40

3.5 Conclusiones parciales del capítulo	45
Conclusiones	47
Recomendaciones	48
Referencias bibliográficas.....	49
Anexos.....	50

INTRODUCCIÓN

A pesar de sus ventajas, el empleo de fertilizantes químicos solo no ha podido solucionar los múltiples problemas relacionados con la fertilidad del suelo y debido al uso intensivo de este insumo agrícola, en función de métodos inadecuados de manejo de suelos y de los cultivos, se han presentado serios problemas de degradación ambiental, de pérdida de la capacidad productiva de los suelos y la contaminación de los alimentos destinados a la población (Kandil *et. al*, 2013).

Los fertilizantes químicos han sido utilizados durante muchos años con vistas a mejorar las propiedades del suelo a corto plazo, sin embargo la acumulación de cargas contaminantes en los suelos supone un riesgo a futuro inmediato y a largo plazo ya que el aumento progresivo de dicha carga puede transformarlos en sistemas inestables. La conservación de los suelos se ha convertido en una necesidad imprescindible para el mantenimiento de la vida en la tierra (Kandil *et. al*, 2013).

A nivel internacional existe una tendencia a sustituir productos químicos que se utilizan en la fabricación y/o producción de alimentos, por productos naturales, pues De Olivera, (2016) expone que los productos químicos pueden ser una de las fuentes causantes del incremento de cáncer y otras enfermedades que se observa en la actualidad, por lo que existe una tendencia a disminuir el consumo de los mismos e incrementar la utilización de productos naturales.

En los organopónicos urbanos de la provincia de Matanzas se utiliza como abono el estiércol de ganado vacuno, pero este presenta agentes patógenos, que afectan la salud humana. Es por ello, que la producción de fertilizantes orgánicos se ha convertido en una necesidad dada la no existencia de otros y para poder realizar producciones de alimentos ecológicos, es decir, libres de productos químicos.

El ácido húmico es el componente activo de varios materiales orgánicos, por lo que estudios sobre purificación y usos del mismo, se reportan a nivel internacional (Raposo, *et al.*, 2016; Guo, *et. al*, 2016; Yang, *et. al*, 2016; Scaglia *et. al*, 2016 b; Sachs, 2004), buscándose las vías y métodos más adecuados para la extracción del mismo, para su uso como fertilizante y en terapéutica en el tratamiento del

virus de inmunodeficiencia adquirida SIDA y de diferentes tipos de metástasis de cáncer (Zanetti, 1984).

La cachaza es un residuo del proceso azucarero, considerado por Galba, *et al.*, (2010) una fuente rica y renovable de materia orgánica, lo que la convierte en una posible fuente de sustancias promotoras de crecimiento vegetal como es el ácido húmico. Según datos de la zafra del 2017, en la provincia de Matanzas existe una disponibilidad del mismo de 605 641,6 kg/día.

Por lo que se plantea como **problema de la investigación**:

Problema: ¿Cómo obtener las condiciones óptimas de operación en el proceso de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de la cachaza?

Hipótesis: Si se valoran diferentes alternativas de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de la cachaza se podrán determinar las condiciones óptimas del proceso.

Para comprobar la hipótesis se plantea el siguiente objetivo:

Objetivo General:

- ✓ Determinar las condiciones operacionales óptimas de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de la cachaza.

Para el cumplimiento del objetivo trazado se plantean las siguientes tareas:

Objetivos Específicos:

- ✓ Determinar en la bibliografía especializada los métodos de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas.
- ✓ Caracterizar la materia prima utilizada en la investigación.
- ✓ Determinar las condiciones óptimas de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de la cachaza.
- ✓ Estimar económicamente las alternativas de extracción.

Capítulo I. Fundamentación teórica

En este primer capítulo se presenta un análisis de los aspectos que se reflejan en la bibliografía especializada sobre la historia, definición, materias primas, métodos de extracción y usos que puede tener los ácidos húmicos.

1.1 Sustancias húmicas

Según Romera (2005) los primeros estudios de las sustancias húmicas (SHs) se presentan en el siglo XIX por autores como:

- El alemán, Kart Franz Achard en 1786, es el que descubre los ácidos húmicos, al extraerlos por primera vez de la turba de los pantanos.
- Sprengel en el año 1826 realiza las primeras descripciones detalladas y el análisis de ácidos húmicos. Así, a los ácidos húmicos poco solubles en álcali lo llama “carbón húmico”, que años después se le llama humina.
- Berzerlius en 1839 descubrió los ácidos crénico y apocrénico, hoy en día llamados ácidos fúlvicos.
- Morder sistematizó, en 1862, las materias húmicas según el color y su solubilidad en agua y soluciones alcalinas.

Las sustancias húmicas (SHs) son el resultado de la degradación, oxidación y transformación de desechos orgánicos de plantas y animales (Guo *et al.*, 2016; Aiken *et al.*, 1985). Estas modificaciones de la materia orgánica son llevadas a cabo por enzimas del suelo y microorganismos en el microcosmos del suelo durante períodos indefinidos de tiempo. El proceso de la transformación de materia orgánica fresca en materia húmica que ocurre en el suelo se llama humificación (Jisheng *et al.*, 2017; Guggenberger, 2005; Stevenson, 1997) y ocurre a partir de diferentes precursores de origen biótico (Romarís, 2007).

Guo *et al.*, (2016) establecen como definición formal que las sustancias húmicas generalmente se caracterizan por tener un color oscuro, de alto peso molecular, sin embargo, otros autores como Romarís (2007) plantean que pueden ser desde

amarillo a negro, mientras Romera (2005) asegura que toman un color marrón, pardo y amarillo.

Por otra parte, Guo *et al.* (2016) plantea que las sustancias húmicas son la materia orgánica estabilizada en el compost que pueden proporcionar nutrientes de carbono para las plantas y microorganismos, mejorar la capacidad de retención de agua y nutrientes, forman agregados y aumentan la porosidad, cuando se aplican al suelo.

Zherebker *et al.* (2016) determinan en estudios realizados que las sustancias húmicas representan entre un 50 y un 90 % de la materia orgánica disuelta en aguas y suelos, mientras otros autores (Shen *et al.* 2016; Zularisam *et al.*, 2007) reportan que consisten del 60 al 70 % del total de carbono orgánico en los suelos y del 60 al 90 % de carbono en agua natural.

Las sustancias húmicas están compuestas por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas (Raposo *et al.*, 2016; Kulikowska *et al.*, 2015). Según Raposo *et al.* (2016) difieren en su peso molecular, número de grupos funcionales, grado de polimerización, solubilidad y a su vez en su composición general (Jisheng, 2017; Tadini *et al.* 2015; Tan, 2014; Stevenson, 1997). Según Bettoni *et al.* (2016) estos son derivados de transformaciones bioquímicas de compuestos de material orgánico, tales como la lignina, celulosa, azúcares y aminoácidos después de la descomposición microbiana.

Las sustancias húmicas se clasifican en tres grupos en dependencia de su solubilidad (Raposo *et al.*, 2016):

- Ácidos húmicos: la fracción de las sustancias húmicas insolubles en agua bajo condiciones ácidas ($\text{pH} < 2$), pero soluble a valores mayores de pH.
- Ácidos fúlvicos: la fracción soluble en agua en todo el intervalo de pH.
- Humina: Fracción insoluble a cualquier valor de pH.

1.1.1 Ácidos húmicos

Los ácidos húmicos (AH) son el componente principal del humus y es omnipresente en los minerales, el suelo, los sedimentos y el agua (Chandan *et al.*, 2016; Roba *et al.*, 2011).

Para Susic (2016) el término ácidos húmicos se utiliza para los ácidos marrón-negros, poliméricos y se encuentran en suelos, plantas, pastos marinos, hongos, sedimentos y aguas terrestres y marinas. Autores como Romera (2005), Kolonovav (2003) y Logan (2003) entienden que son el grupo en el que se engloban las materias que se extraen del suelo por disolventes (NaOH, KOH, NH₄OH, Na₂HCO₃, Na₄P₂O₇, oxalato sódico, urea, y otros) y que al acidificar con ácidos minerales, se precipitan de las soluciones obtenidas en forma de un gel oscuro.

Los ácidos húmicos son las fracciones de sustancias húmicas que son solubles en medios alcalinos, parcialmente soluble en agua e insoluble en los medios ácidos (Gomes de Melo *et al.*, 2016). Para Raposo *et al.* (2016) el ácido húmico no es soluble bajo condiciones ácidas (pH<2), pero es soluble en valores superiores del pH, también se destaca que se pueden considerar generalmente solubles desde condiciones neutras a alcalinas (Gomes de Melo *et al.*, 2016), pero esta propiedad varía con la composición química por lo que depende del origen. Prado *et al.* (2011) y Gomes de Melo *et al.* (2016) plantean que el pH está relacionado con la solubilidad pero también con la estabilidad de las suspensiones acuosas de los ácidos húmicos.

Los ácidos húmicos del suelo contienen de 53 a 58 % de carbono y de 32 a 38 % de oxígeno (Kulikowska *et al.*, 2015), mientras que Gomes de Melo *et al.* (2016) demuestra que la composición de ácidos húmicos extraídos de diferentes fuentes, incluyendo los comerciales, son aproximadamente 50 % de carbono, 35 % de oxígeno y 5 % de hidrógeno, con el porcentaje restante distribuido entre nitrógeno y azufre.

Las principales propiedades son la solubilidad, la dependencia del pH y la interacción con grupos hidrofóbicos. Contribuyen a la fertilidad del suelo, hecho que ha sido reconocido desde la antigüedad, se unen fuertemente a los suelos y

son resistentes al metabolismo microbiano, por lo tanto tienen una vida media muy larga en los suelos y se agotan de los suelos por la erosión del viento y el agua, y por lixiviación de agua (Gomes de Melo *et al.*, 2016).

1.1.2 Ácidos fúlvicos

Los ácidos fúlvicos son la fracción de las sustancias húmicas solubles en agua bajo cualquier condición de pH. Ellos permanecen en solución después de removido el ácido húmico por la acidificación (Raposo *et al.*, 2016; Weber, 2004; Stevenson, 1997). Los ácidos fúlvicos (AF) son solubles en ácidos y alcohol (Chandan *et al.*, 2016; Piccolo, 2002; Stevenson, 1997).

Los ácidos fúlvicos son más bajos en peso molecular que los ácidos húmicos, y son los constituyentes que se encuentran a menudo en las aguas coloridas de lagos, arroyos y acuíferos (Kulikowska *et al.*, 2015; Stevenson y Goh, 1971). Muchos informes muestran que los ácidos fúlvicos, debido a su mayor contenido de grupos funcionales, son generalmente la fracción de sustancias húmicas que reacciona principalmente con los metales, independientemente del origen ácido (suelos naturales o contaminados o compost). Pueden actuar como portadores metálicos, principalmente debido a su menor peso molecular y mayor contenido de grupos funcionales (Kulikowska *et al.*, 2015).

Las propiedades comunes de los ácidos húmicos y fúlvicos son su heterogeneidad y posibilidad de separación en una serie de fracciones por distintos procedimientos (mediante precipitación fraccionada por ácidos y soluciones buffer, métodos de ultracentrifugación, electroforesis y cromatografía) (Pérez, 2009).

1.1.3 Huminas

Bajo el término huminas, se engloba, la fracción de las sustancias húmicas que no es soluble en agua bajo ningún valor de pH (Romera, 2005; Weber, 2004; Ramos 2000; Rice, 2001; Stevenson, 1997). Varios autores (Chandan *et al.*, 2016; Tadini *et al.*, 2015; Piccolo, 2002; Stevenson, 1994) plantean que la humina es insoluble en ácidos y alcoholes.

Rice (2001) y Stevenson (1997) la consideran el componente principal de las sustancias húmicas y la definen como el extracto de porción que permanece insoluble en soluciones acuosas a todos los niveles de pH, y se trata de forma operativa como el residuo materia orgánica disuelta (SOM) restante (Tadini *et al.* 2015), mientras que algunos autores (Jisheng *et al.*, 2017; Mylotte *et al.*, 2015; Chang *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2011) afirman que la humina no se ajusta a las definiciones clásicas para considerarla como una sustancia húmica.

Se compone de biopolímeros vegetales degradados (Tan, 2014), que contienen una variedad de materiales tales como lípidos y ácidos húmicos unidos a minerales del suelo, y residuos insolubles con un alto contenido de cenizas (Stevenson, 1994; Song *et al.*, 2008; Schnitzerand y Monreal, 2011). Sin embargo, debido a la heterogeneidad y la insolubilidad, la estructura química ha sido la menos estudiada de todas las fracciones húmicas (Jisheng *et al.*, 2017; Tadini *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2011). Jisheng *et al.* (2017) suponen que la insolubilidad y recalcitrancia de la humina están asociadas con el predominio de estructuras de hidrocarburos alifáticos.

En la Tabla 1.1 se muestra un resumen de la composición elemental de las SHs.

Tabla 1.1: Intervalos usuales para la composición elemental de las sustancias húmicas Fuente: (Ramos, 2000; Weber, 2004).

Elementos	Ácidos Húmicos (%)	Ácidos Fúlvicos (%)
Carbono	53,8 - 58,7	40,7 - 50,6
Oxígeno	32,8 - 38,3	39,7 - 49,8
Hidrógeno	3,2 - 6,2	3,8 - 7,0
Nitrógeno	0,8 - 4,3	0,9 - 3,3
Azufre	0,1 - 1,5	0,1 - 3,6

1.2 Métodos de extracción

Existen una gran variedad de técnicas de extracción de sustancias húmicas, que dependen del extractante y material a extraer. Susic (2016) clasifica los extractantes de sustancias húmicas en tres grupos:

- Extractantes Fuertes
- Extractantes Medios
- Extractantes Suaves

También se utiliza el ácido fórmico como extractante, aunque algunas bibliografías definen a los extractantes suaves y medios en un solo grupo, sin embargo en este trabajo se harán distinción entre ellos. En la Tabla 1.2 se muestra un resumen de los diferentes extractantes utilizados para la extracción de sustancias húmicas. Encontrados en la bibliografía especializada.

La extracción con agentes fuertes es la que permite mayor porcentaje de extracción, pero provoca alteraciones en las sustancias húmicas, por lo que la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS, 2008) recomienda que a nivel industrial este proceso se lleve a cabo en atmósfera inerte (en presencia de N_2) y ocurra a pH mayores que 7. Pérez (2009) plantea que tanto las alteraciones en las sustancias húmicas como la cantidad de materia orgánica extraída, son mayores cuanto más concentrada es la base y cuanto mayor es el tiempo de contacto.

Para el fraccionamiento de las sustancias húmicas (ácidos húmicos y fúlvicos) es necesario una etapa de acidificación de las sustancias húmicas hasta valores de pH entre 1 y 2 (IHSS, 2008). Los extractantes ácidos más utilizados son el HCl (Raposo *et al.*, 2016; Scaglia *et al.*, 2016; Lukyanov *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2016; IHSS, 2008) y H_2SO_4 (Tsuda *et al.*, 2016; Saito *et al.*, 2014).

Tabla 1.2 Extractantes utilizados para la extracción de sustancias húmicas.

Extractante		Fundamentos	Referencias
Fuertes	NaOH	Es el procedimiento más utilizado para la extracción de sustancias húmicas de tipo comercial, por su alto por ciento de extracción (80 %).	Santana, 2017; Raposo <i>et al.</i> , 2016; Scaglia <i>et al.</i> , 2016; Lukyanov <i>et al.</i> , 2016; Fuentes <i>et al.</i> , 2016; IHSS, 2008
	KOH		Lukyanov <i>et al.</i> , 2016; Fuentes <i>et al.</i> , 2016; Saito <i>et al.</i> , 2014; Pérez, 2010
Medios	Na ₄ P ₂ O ₇ , EDTA	Estos extractantes producen mínimas alteraciones en la materia orgánica. En algunos casos se emplean junto a productos alcalinos para aumentar su efectividad.	Fuentes <i>et al.</i> 2016; Asing <i>et al.</i> , 2009
Suaves	(EDTA, acetilcetona, cupferrón y disolventes orgánicos de varios tipos como el tetrahidrofurano	Una manera de aumentar la efectividad es la mezcla de estos reactivos con otros productos, como la urea a altas concentraciones. Obviamente, aunque las alteraciones que se producen en la materia orgánica extraída son menores, la efectividad que muestran estos productos es mucho menor.	Hemati <i>et al.</i> , 2012
Ácido Fórmico (HCOOH)		Se obtiene desde un 55 % de extracción de materia orgánica en suelos minerales, hasta un 80 % en compost. La extracción con ácido fórmico es la más eficiente para donde la mayoría de las sustancias orgánicas están parcialmente humificadas.	Ramos, 2000

Se muestran a continuación diferentes métodos de extracción de sustancias húmicas:

- Determinación de sustancias húmicas en sedimentos por ultrasonido focalizado y espectroscopia ultravioleta visible (Raposo *et al.*, 2016).

El desarrollo de una metodología nueva y rápida para determinar la cantidad de sustancias húmicas (SHs) presente en las muestras de sedimentos se optimiza profundamente con este método. Se realiza énfasis en la extracción alcalina porque los métodos tradicionales requerían altos volúmenes y largos tiempos de extracción. Se realiza la extracción de líquidos-sólidos por ultrasonidos focalizados (FUSLE) seguido por la separación de SHs en medios ácidos. Su determinación por medio de espectroscopia ultravioleta visible resultó ser un procedimiento analítico muy adecuado para acelerar la extracción de SHs, específicamente ácido húmico (AH) y ácido fúlvico (AF). Todas las variables que afectan al proceso de extracción (concentración y volumen de hidróxido de sodio, potencia de ultrasonido, ciclos y tiempo) se seleccionaron utilizando el análisis de varianza y el diseño multivariante. Los valores óptimos de estas variables son la potencia de aplicación continua del (FUSLE), 95 % (10 ciclos) y 15 mL de NaOH 1 mol/L⁻¹.

- Extracción de sustancias húmicas a partir de la metodología utilizada por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS, 2008; Santi, 2000) y el aplicado por el Instituto de Química de Araraquara en Brasil (Rocha *et al.*, 1998).

La metodología que se utiliza para la extracción de ácido húmico se basa en dos métodos, los cuales se basan en dos etapas fundamentales, primero la extracción de las sustancias húmicas utilizando como extractantes el NaOH el cual es recomendado por IHSS (2008) and Santi (2000) o el KOH (Rocha *et al.*, 1998) y después la separación de los ácidos húmicos y fúlvicos a partir de la acidificación de las sustancias húmicas con HCl o H₂SO₄ diluido (Pérez, 2009). Se obtienen los mejores porcentajes de extracción con NaOH y HCl.

- Evaluación de la eficacia de diferentes solventes para la extracción en fase sólida de ácidos húmicos acuáticos (Roba *et al.*, 2011).

En este estudio, se realiza un procedimiento sencillo para el aislamiento por extracción en fase sólida (EFS) y cuantificación por espectrometría ultravioleta visible (400 nm) de los ácidos húmicos (AHs) en las aguas naturales. Siete sorbentes diferentes son utilizados: Porapak P (poliestireno- Divinilbenceno), Florisil (composición química: 84,0 % de SiO₂, 15,5 % de MgO y 0,5 % de Na₂SO₄), (Silano), Strata X (poliestireno-divinilbenceno modificado superficialmente), Strata NH₂ (ligando amino trifuncional basado en sílice), Strata SAX (Amina cuaternaria trifuncional a base de sílice) y Strata C18-E (C18 trifuncional basado en sílice con terminación hidrofóbica de Silanoles). La eficiencia de extracción se evaluó comparando los AHs recuperadas. La repetibilidad de los resultados se estimó mediante la desviación estándar relativa (DER). Los datos confirmaron que Porapak P, El gel de sílice C18, Florisil, Strata NH₂ y Strata X podrían ser buenas alternativas para el aislamiento tradicional de los AHs acuáticos con resina XAD.

- Determinación de sustancias húmicas acuáticas en lagos japoneses y los humedales por el aislamiento de resina basada en la técnica de concentración de carbono (Tsuda *et al.*, 2016)

Las sustancias húmicas acuáticas (SHAs) son constituyentes de materia orgánica disuelta (MOD) en cuerpos agua dulce. Se realizan análisis cuantitativos de SHAs en 14 lagos japoneses y las aguas de los humedales, centrándose en aguas transparentes con bajo contenido de carbono, utilizando la técnica de aislamiento basada en la concentración de resinas. La proporción de AHS en la (MOD) en las aguas claras oscilaba entre 38,4 y 64,1%. Además, las proporciones de SHAs en (MOD) no fueron constantes, por lo que el análisis de regresión no se puede utilizar para predecir la concentración de SHA, así, las concentraciones debe determinarse por separado para cada muestra de agua.

- Metodología para evaluar la cantidad y calidad de los ácidos húmicos en sustancias orgánicas (Fuentes *et al.*, 2016)

El método tradicional para determinar el contenido húmico (ácidos húmicos y fúlvicos) en fertilizantes comerciales, bioestimulantes y los materiales orgánicos se basa en la oxidación de la materia orgánica carbono contenido en la fracción soluble en ácido pero insoluble en ácido (ácidos húmicos) y la fracción soluble en ácido básico (ácidos fúlvicos) de sus extractos de agua alcalina. Esta metodología, meramente operativa, hace imposible distinguir si el carbono cuantificado corresponde a sustancias con carácter químico humérico o a materia orgánica no húmica pero con propiedades de solubilidad. Esta metodología no sólo cuantifica el contenido húmico en los productos (y materias primas), sino que también evalúa la calidad de la materia orgánica cuantificada.

Para llevar a cabo la nueva metodología las fracciones se aíslan y purifican de varios húmicos y materiales no húmicos y se caracterizan por medio de análisis y espectroscopia ultravioleta visible, fluorescencia e infrarrojo, y estos datos se han utilizado para realizar un análisis de discriminación (AD). El modelo obtenido para discriminar las fracciones húmicas y fúlvicas proporciona funciones de clasificación discriminantes que han demostrado exitosamente la predicción de la calidad de las fracciones aisladas, por lo tanto, la combinación del fraccionamiento, caracterización y evaluación por la AD se propone como una metodología eficaz para cuantificar y evaluar la calidad del contenido en la materia orgánica.

Metodo1: Oxidación de carbono orgánico

El contenido húmico fue cuantificado por oxidación de carbono orgánico, siguiendo el método oficial español de extractos húmicos totales (EHTs); (BOE, 1991). Se aíslan de las materias primas muestras de 0,5 a 0,6 g donde se añaden a cada una 100 mL de 0,1mol de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ y de 0,1mol de NaOH, agitando durante 1 h a temperatura ambiente. El sobrenadante (contiene los ETHs) se separa entonces del residuo sólido por centrifugación (11.000 x g, 5 min) y se diluye con agua

desionizada hasta un volumen final de 1 L. Doscientos mililitros de esta solución se acidifica a pH 1 a 2 con 96 % H₂SO₄, permitiendo la precipitación del ácido húmico (AH) durante 8 h. El precipitado se centrifuga para separar los ácidos húmicos del sobrenadante y redisueltas en 50 ml de NaOH 0,01 M (solución de AH).

Método 2 de extracción de sustancias húmicas con Amberlite XAD-8

La extracción de SH se realiza utilizando el método estándar de la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS) (Aiken, 1985). Se toma una muestra de 3 L de agua coloreada y se hace pasar a través de un filtro de membrana de 0,45 µm para la eliminación de materia orgánica. El agua filtrada se acidificó con HCl 1mol a pH 2 y 200 g de resina Amberlite XAD-8 se lava con 200 ml de etanol y se coloca en una columna de vidrio de 30 x 3 cm². Después se lava la resina con dos volúmenes de agua con una velocidad de flujo de 10 ml / min y tres volúmenes de NaOH 0,1 mol, HCl 0,1 mol y 3 L de agua acidificada a pH 2. La eficiencia de la extracción se mide mediante la absorbancia a 254 nm (Zherebker *et al.*, 2016).

- Mejora de la extracción de ácidos húmicos de residuos orgánicos en una columna por el método de elución continua (Chandan *et al.*, 2016).

Se desarrolla un método de elución continua basado en columnas (ECC) para extraer ácidos húmicos (AHs) a partir de residuos orgánicos. La disolución de AHs mediante el paso del extractante (NaOH a 0,2 mol) a través de lombricompost en una columna seguida por elución por gravedad dieron como resultado rendimientos de 47,5 % y 74,7 % de ácido húmico extraíble en 24 h por el método de la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS, 2008) y ECC, respectivamente. Estos resultados son de 63,3 % y 97,9 % en 48 h, respectivamente. Los AHs extraídos mostraron espectros de absorción y composiciones químicas similares. La tasa de oxidación y degradación de AHs

durante la extracción por el método ECC fue menor en comparación con el IHSS, lo cual indica una mejor extracción sin alterar la calidad.

En este trabajo se selecciona el NaOH como extractante básico y el H₂SO₄ como extractante ácido, de acuerdo con estudios realizados por Santana (2017), Pérez (2009) y Pedroso (2007).

1.3 Fuentes de sustancias húmicas

Existen varias fuentes orgánicas de las que se pueden extraer sustancias húmicas y en particular los ácidos húmicos. A continuación se mencionan algunas de las usadas con más frecuencia:

- Estiércol de ganado (Santana, 2017; Guo, *et al.*, 2016; Ranganathan, 2006; Huang *et al.*, 2006; Ueda, 2006; Plaza *et al.*, 2005)
- Lodos de plantas de tratamientos de agua (Yang *et al.*, 2016)
- Humus de lombriz (Scaglia *et al.*, 2016 a; Chandan *et al.*, 2016; Pérez, 2009; Pedroso, 2007; Romera, 2004).
- Compost (Scaglia *et al.*, 2016 b; Pérez, 2009; Ranganathan, 2006; Huang *et al.*, 2006; Plaza *et al.*, 2005; La Montagne, 2002; Santi 2000)
- Turba (Saito, 2014; Sachs, 2004)
- A partir de la hoja de piña (Ahmed, 2002)
- A partir de residuos de jardinería. (Montoneri *et al.*, 2008)
- Residuos de la industria azucarera, la cachaza. (Galba *et al.*, 2010).
- Sistemas acuáticos (De Olivera *et al.*, 2016; Tsuda *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2016)
- Leonardita (Fuentes *et al.*, 2016)

En este trabajo se utiliza la cachaza, por la disponibilidad existente en la provincia de Matanzas, además se considera una fuente rica y renovable de materia orgánica. Según estudios de Galba *et al.* (2010) la cachaza presenta altos contenidos de nutrientes, principalmente calcio y sulfuro, que permiten remover los

sólidos en el suelo. Además, la carencia de aluminio, el alto contenido de fósforo y la débil acidez favorecen su uso como enmienda en el suelo y promueve las condiciones químicas óptimas para estabilizar la materia orgánica.

1.4 Usos de los ácidos húmicos

1.4.1 Usos en la agricultura

El uso principal de las sustancias húmicas es en la agricultura, como fertilizante orgánico, por las grandes ventajas que le brinda tanto al suelo como a las plantas, entre las que se pueden mencionar (Fernández *et al.*, 2004):

- Liberación biológica de nutrientes por parte de minerales insolubles.
- Fuerza, vigorosidad y crecimiento de la raíz de la planta.
- Respiración.
- Fotosíntesis.
- Biohabilidad mineral y estabilización.
- Estabilización del nitrógeno y eficiencia fertilizante.
- Resistencia a las enfermedades.
- Mejora las propiedades físicas del suelo.
- Incrementa la energía para plantas y suelos.
- Incrementa la velocidad de germinación de las semillas.
- Elimina toxinas.
- Agrega oxígeno al suelo.
- Incrementa las poblaciones de microorganismos en el suelo.
- Reduce el uso de herbicidas entre un 25 – 50 % (Faust, 2005)

Numerosos estudios han demostrado que las sustancias húmicas son beneficiosas para la fertilidad del suelo: actúan como tapones de pH del suelo y como agentes redox (); aumentan la disponibilidad de micronutrientes para las plantas (Donisa *et al.*, 2003; Nardi *et al.*, 2002); adsorben solutos orgánicos, lo cual es especialmente importante cuando se trata de contaminantes o problemas de plaguicidas (Hayes *et al.*, 1989; Nardi *et al.*, 2002); y son capaces de estimular el crecimiento de las plantas (Canellas *et al.*, 2015; Nardi *et al.*, 2004; Fuentes,

2016). Autores como Piccolo and Spiteller (2003) plantean que son capaces de controlar la disponibilidad de nutrientes y el intercambio de carbono y oxígeno entre el suelo y la atmósfera (Bettoni *et al.*, 2016).

Se reportan a gran escala los efectos beneficiosos sobre las plantas, ya que son capaces de promover el crecimiento de las plantas (Calvo *et al.*, 2014), aumenta el crecimiento de las raíces y la absorción de nutrientes como N, P, Fe y Zn (Baldotto *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2004; Ertani *et al.*, 2011; Quaggiotti *et al.*, 2004), tiene efectos de tipo auxina (Quaggiotti *et al.*, 2004; Rodda *et al.*, 2006; Zandonadi *et al.*, 2007), inciden en el aumento de la concentración de clorofila para la fotosíntesis (Baldotto *et al.*, 2009; Ertani *et al.*, 2011; Canellas *et al.*, 2002) y tiene impactos en su utilización en cultivos en el aumento de azúcares (Lima *et al.*, 2011), carbohidratos (Aminifard *et al.*, 2012) y almidón. (Canellas *et al.*, 2002; Ertani *et al.*, 2011; Nardi *et al.*, 2007; Bettoni *et al.*, 2016)

La diferencias entre ácidos húmicos y fúlvicos según el Dr. José Mario García (Faust, 2005) desde el punto de vista de aplicación, son principalmente relacionadas con su peso molecular y su movilidad en la solución del suelo. Así, los ácidos húmicos con alto peso molecular tienen mayor impacto en las propiedades físicas y efectos biológicos locales del suelo, mientras que los ácidos fúlvicos con bajo peso molecular pueden influir en el transporte de micronutrientes en la solución del suelo. Utilizándose el ácido húmico como tratamiento contra la erosión de los suelos por sus propiedades de absorción y retención de agua (Romera, 2005; Douglas, 1998).

1.4.2 Otros usos de los ácidos húmicos

Se ha encontrado (Santana, 2017; Gomes de Melo *et. al.*, 2016; Pérez, 2009), que los ácidos húmicos tienen otros usos en diferentes industrias y también en la salud humana y animal, enumerando algunos de estos a continuación:

- Industria del cemento o concreto: Los ácidos húmicos se usan como agente licuante en concreto u hormigón, es un aditivo especial de control de densidad (peso ligero) en cemento.

- Industria del papel: Es usado para colorear el papel, mientras mejora el grosor y elimina la penetración de sustancias tóxicas en las aguas residuales, todo esto al mismo tiempo.
- Tratamiento de aguas residuales: Los ácidos húmicos y sus derivados pueden ser usado para eliminar metales tóxicos y sus iones de dichas aguas. Ayuda a la eliminación de grasas, aceites, líquidos orgánicos y materia suspendida.
- Utilizados como adsorbentes: Los ácidos húmicos pueden ser usados como medios para filtros especiales, extractantes selectivos y sustancias cromatográficas; además, para eliminar cantidades de trazas de líquidos no acuosos tales como aceites, de corrientes acuosas y trazas de contaminantes de dichas corrientes.
- Mejoramiento de las características del asfalto: Los ácidos húmicos pueden modificar los productos base del asfalto, como compuestos de cubrimiento, mástiques, recubrimientos, etc.
- Cerámica: Los ácidos húmicos han sido utilizados tradicionalmente en cerámica como agentes dispersantes y licuantes. Arenas para fundición: Los ácidos húmicos puede ser usados como aditivos para la arena de las fundiciones.
- Grasa y lubricantes: Los ácidos húmicos pueden ser usados como un aditivo especial para modificar la estructura gelatinosa y otras propiedades saponíficas de las grasas y lubricantes.
- Inmovilización de enzimas: Debido a las características hidrofóbicas y superficie potencialmente reactiva, los ácidos húmicos pueden inmovilizar ciertos tipos de enzimas.
- Pinturas y recubrimientos industriales: Los ácidos húmicos pueden ser utilizados como agentes de color negro, pigmentos especiales y aditivos de control reológico en pinturas con base de aceite, recubrimientos industriales, barnices y lacas.
- Tintas para impresión: Los ácidos húmicos pueden ser aplicados para modificar las propiedades reológicas de las tintas para impresión de color oscuro o negro
- Farmacéuticos y Cosméticos:

- Los ácidos húmicos pueden cambiar la actividad de las enzimas, por ejemplo en la piel. Son tradicionalmente usados en la industria farmacéutica en la preparación de sales para el baño y lodos de baño artificiales.
 - En combinación con diferentes perseverantes, los productos que contiene ácidos húmicos son aplicados en el tratamiento de enfermedades reumáticas y ginecológicas.
 - También tiene un uso potencial en el tratamiento del cáncer.
- Como alimento animal: Los ácidos húmicos introducidos en la comida de animales o humanos presentan las siguientes ventajas:
- Estabilizan la flora intestinal.
 - Promueven el crecimiento.
 - Estimulan el sistema inmunológico.

1.4.3 Aplicaciones en la medicina

Se consideran agentes para la prevención o el tratamiento de diversas enfermedades (Gomes de Melo *et al.*, 2016), citando algunos estudios realizados:

- La actividad antiviral de ácidos húmicos (AHS) se observa contra muchos virus, tales como el citomegalovirus (CMV), virus de la vacuna y virus de inmunodeficiencia tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2) (Klöcking y Helbig, 2005; Junek *et al.*, 2009) pueden inhibir la replicación del virus uniendo dominios catiónicos del virus, que son necesarios para la fijación del virus a la superficie celular (Junek *et al.*, 2009).
- Los AHs también se reconocen como inhibidores de mutagénesis, que poseen una actividad antimutagénica que bloquea el proceso de mutagénesis dentro y fuera de la célula (Endo *et al.*, 2014; Gomes de Melo *et al.*, 2016).
- Según Ferrara *et al.* (2006) tienen la capacidad para reducir la mutagenicidad de la mitomicina C (MMC) en el ser humano.
- Pueden tener un efecto positivo en la cicatrización de las heridas y en la terapia del cáncer, como sugiere (Gomes de Melo *et al.*, 2016).
- En el tratamiento contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), las preparaciones de ácidos húmicos son útiles en el tratamiento del síndrome de

inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y se describen particularmente útiles solas o como adyuvantes para ser administradas en inmunovacunas contra el VIH.

- En combinación con diferentes perseverantes, los productos que contiene ácidos húmicos son aplicados en el tratamiento de enfermedades reumáticas y ginecológicas.
- También tiene un uso potencial en la cicatrización de las heridas y en el tratamiento del cáncer.
- En tratamientos terapéuticos: Algunos productos médicos con contenidos de ácidos húmicos son utilizados con este objetivo. Por ejemplo, en atletas: para mejorar su desempeño mental y físico.

1.4.4 Aplicaciones en las áreas farmacéuticas y cosméticas

- Son utilizados para la protección solar, anti-envejecimiento y cuidado de la piel, sin embargo Klöcking *et al.* (2013) estudió su potencial como un componente de barras de labios para prevenir la reactivación del virus del herpes simple.
- Se demuestra que en concentraciones superiores a $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ fueron capaces de proteger las células U937 de daño inducido por rayos ultravioletas (Gomes de Melo *et al.*, 2016).
- La actividad antiviral también podría explorarse en los componentes de máscaras faciales, que se utilizan para la prevención de la reactivación después de un tratamiento facial químico, según lo descrito por Wollina (2009)
- Para Khil'ko *et al.* (2011) tienen la capacidad antioxidante a través de su comportamiento en la inhibición de la cadena radical del proceso de oxidación del etilbenceno iniciado por el azobisisobutironitrilo (AIBN) y dimetilsulfóxido (DMSO).
- Aeschbacher *et al.* (2012) y Dhanapal y Sekar (2014) sugieren el uso de derivados de AH como antioxidantes naturales para conservantes de alimentos, además de su utilización en suplementos nutricionales donde

asegura su eficiencia y rentabilidad en comparación con otros antioxidantes alimenticios.

- Ghosal (2003) y Khanna *et al.* (2010) desarrollaron sistemas de sustancias húmicas (SHs) para ingredientes activos (farmacéuticos, nutricionales y cosméticos) con baja solubilidad. Estos sistemas consisten en complejos fármacos producidos por unión hidrófoba, unión covalente o quelación. Que son capaces de aumentar la solubilidad del fármaco, la permeabilidad y biodisponibilidad y eran adecuados para uso tópico u oral.

1.4.5 Toxicidad de los ácidos húmicos

La toxicidad se reconoce como notablemente baja (). Pruebas realizadas en ratas y conejos no revelaron anomalías de toxicidad aguda o crónica con preparados de HS pero se observa signos de irritación). Los efectos de la irritación ocular causada y la irritación en las mucosas, membranas y piel no fue detectable a concentraciones hasta 10 %. Otros investigadores como realizaron pruebas mutagénicas con Salmonella y no observaron efectos mutagénicos, pero algunos autores ven los AHs como tóxicos para muchas células de mamíferos (Yang *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2009) contribuyendo a la enfermedad de Blackfoot (Gomes de Melo *et al.*, 2016)

1.5 Conclusiones parciales del capítulo

1. Las sustancias húmicas están compuestas por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humina que difieren en su peso molecular, número de grupos funcionales, grado de polimerización, solubilidad y composición general.
2. Existe una gran variedad de materias primas que sirven como fuentes de las sustancias húmicas, en esta investigación se utiliza la cachaza por su alta disponibilidad en la provincia y el contenido de materia orgánica que presenta.
3. Existen diversos métodos de extracción de sustancias húmicas en dependencia del tipo de extractante básico, en este trabajo se aplica la combinación extractante básico – extractante ácido de NaOH y H₂SO₄, por resultados de estudios anteriores.

4. Los ácidos húmicos se aplican con mayor frecuencia en la agricultura debido a los efectos positivos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas además de mejorar la calidad general del suelo. Aunque también tienen una amplia aplicación en la medicina y en diversas industrias para la obtención de otros productos.

CAPÍTULO II. Materiales y métodos

En este capítulo se describen los métodos y técnicas que se aplican en la investigación. La etapa experimental se desarrolla en los laboratorios de Química del Departamento de Química de la Universidad de Matanzas en la Sede "Camilo Cienfuegos". En la figura 2.1 se muestra el algoritmo de trabajo de la investigación.

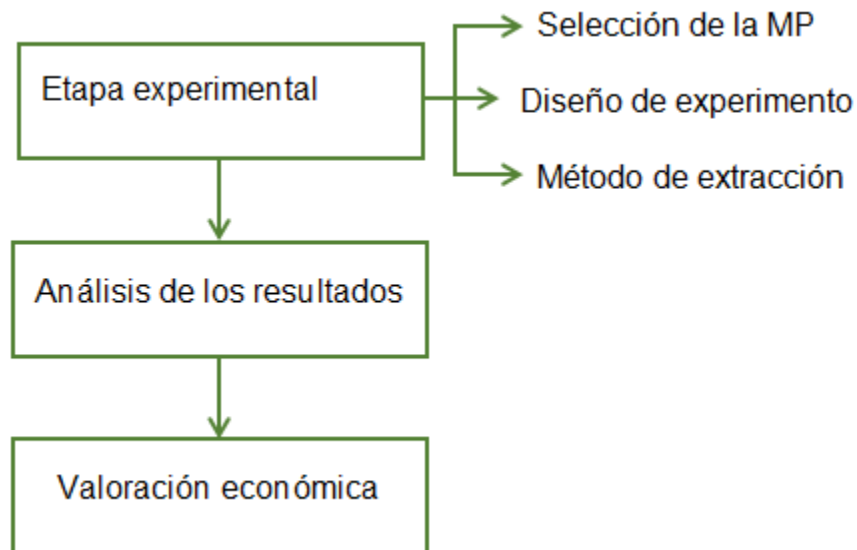


Figura 2.1 Algoritmo de trabajo de la investigación.

2.1 Descripción del método de extracción

El método de extracción de sustancias húmicas que se aplica es el utilizado por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (Raposo *et. al*, 2016), el cual consta de tres etapas (Anexo 1):

Etapa 1: Preparación de la materia prima

La materia prima utilizada es la cachaza, proveniente del Central Azucarero Jesús Rabí. La misma se tritura para lograr una homogenización de la muestra.

Para caracterizar la materia prima se determinan los siguientes parámetros: materia orgánica, contenido de cenizas, humedad y pH.

Etapa 2: Separación de sustancias húmicas (extracción básica)

Se pesan las muestras de materia prima por triplicado, las cuáles son sometidas a un tratamiento básico, con el extractante hidróxido de sodio (NaOH) con concentración de 0,5 mol/L (Santiago, 2017) que permiten la separación de las sustancias húmicas y la humina, con diferentes relaciones sólido – líquido. Después de transcurrido el tiempo de la reacción básica se centrifuga la muestra durante 10 minutos a una velocidad de 3200 rpm, siendo la humina el precipitado y las sustancias húmicas el sobrenadante.

Para determinar la materia orgánica (MO) obtenida en las sustancias húmicas se utiliza el siguiente balance por componentes:

$$X_{(MO)C} * m(C) + X_{(MO)NaOH} * m(NaOH) = X_{(MO)H} * m(H) + X_{(MO)SH} * m(SH) \quad (2.1)$$

Donde:

$X_{(MO)C}$: Composición de materia orgánica en la cachaza

$X_{(MO)NaOH}$: Composición de materia orgánica en el hidróxido de sodio (igual a 0).

$X_{(MO)H}$: Composición de materia orgánica en la humina

$X_{(MO)SH}$: Composición de materia orgánica en las sustancias húmicas

$m(C)$: Flujo de cachaza (g)

$m(NaOH)$: Flujo de NaOH (g)

$m(H)$: Flujo de humina (g)

$m(SH)$: Flujo de sustancias húmicas (g)

Etapa 3: Separación del ácido húmico y el ácido fúlvico (extracción ácida)

Se añade ácido sulfúrico con concentración de 6 mol/L (Santana, 2017) a las sustancias húmicas obtenidas en la etapa anterior hasta lograr un pH entre 1 y 2. Después de transcurrir el tiempo de extracción se centrifuga durante 10 minutos a 3200 rpm obteniéndose ácido húmico en forma de precipitado y ácido fúlvico como sobrenadante.

Para determinar la materia orgánica en el ácido fúlvico se utiliza la expresión siguiente:

$$X_{(MO)SH} * m(SH) + X_{(MO)H_2SO_4} * m(H_2SO_4) = X_{(MO)AH} * m(AH) + X_{(MO)AF} * m(AF) \quad (2.2)$$

Donde:

$X_{(MO)H_2SO_4}$: Composición de materia orgánica en el ácido sulfúrico (igual a 0)

$X_{(MO)AF}$: Composición de materia orgánica en el ácido fúlvico

$X_{(MO)AH}$: Composición de materia orgánica en el ácido húmico

$m(H_2SO_4)$: Flujo de H_2SO_4 (g)

$m(AF)$: Flujo de ácido fúlvico (g)

$m(AH)$: Flujo de ácido húmico (g)

A continuación se muestran los materiales, reactivos y equipos de laboratorio empleados, así como la materia prima utilizada.

Materiales de laboratorio:

Beaker de 100 mL

Beaker de 250 mL

Erlenmeyer 250 mL

Volumétricos de 1000 mL

Probetas de 100 y 250 mL

Embudos

Agitador

Cucharilla

Crisoles

Papel de aluminio

Buretas

Desecadora

Pinzas

Picnómetro Gay-Lussac

Materia Prima:

Residuos de la industria azucarera, la cachaza.

Reactivos:

Hidróxido de sodio

Ácido sulfúrico

Equipos:

Balanza Analítica, modelo BS 2202 S, SARTORIUS

Balanza Técnica, modelo BS 124 S, SARTORIUS

PHmetro, modelo PHSJ-3F

Estufa, modelo DHG-9146A

Mufla, modelo DHG-9146A

Centrífuga, modelo SX2

Zaranda, modelo Thys 2

2.2 Diseño experimental

Se planifica un diseño experimental de superficie de respuesta compuesto central ortogonal con tres factores y seis variables respuestas (Ver Anexo 2). En la tabla 2.1 se muestran los niveles de los factores a estudiar.

Las variables respuestas son:

- ✓ Fracción de Humina
- ✓ Fracción de Sustancias Húmicas
- ✓ Porcentaje de extracción MO en las sustancias húmicas (%)
- ✓ Fracción de Ácidos fúlvicos
- ✓ Fracción de Ácidos húmicos
- ✓ Porcentaje de extracción de MO en los ácidos húmicos (%)

Tabla 2.1 Niveles de los factores

Factores	Unidad	Niveles	Bibliografía
Relación sólido-líquido	g/mL	(1/5; 1/10; 1/15)	Santiago (2017); Asing <i>et al.</i> (2009)
Tiempo de reacción básica	h	(4; 8; 12)	Santiago (2017); Raposo <i>et al.</i> , (2016); Galba <i>et al.</i> , (2010); Asing <i>et al.</i> , (2009)
Tiempo de reacción ácida	h	(4; 8; 12)	Santiago (2017); Raposo <i>et al.</i> , (2016); Galba <i>et al.</i> , (2010); Asing <i>et al.</i> , (2009)

A continuación se muestran las ecuaciones para la determinación de las variables respuestas:

✓ Fracción de Humina:

$$H = \frac{m(H)}{m(H) + m(SH)} \quad (2.3)$$

✓ Fracción de Sustancias Húmicas:

$$SH = \frac{m(SH)}{m(H) + m(SH)} \quad (2.4)$$

✓ % de extracción de MO en las SHs

El % de extracción de MO en la etapa básica se determina a través de la expresión siguiente:

$$\% EB = \frac{X_{(MO)SH} * SH}{X_{(MO)C} * C} \quad (2.5)$$

✓ Fracción de Ácido Húmico:

$$AH = \frac{m(AH)}{m(AH) + m(AF)} \quad (2.6)$$

✓ Fracción de Ácido Fúlvico:

$$AF = \frac{m(AF)}{m(AH) + m(AF)} \quad (2.7)$$

✓ % de extracción de MO en el AH

El % de extracción de MO en el ácido húmico se determina a través de la expresión siguiente:

$$\% EA = \frac{X_{(MO)AH} * AH}{X_{(MO)C} * C} * fch \quad (2.8)$$

Donde:

H: Fracción de Humina en la extracción básica

SH: Fracción de Sustancias Húmicas en la extracción básica

% EB: Porcentaje de extracción de MO en las SH

AH: Fracción de Ácido Húmico en la extracción ácida

AF: Fracción de Ácido Fúlvico en la extracción ácida

% EA: Porcentaje de extracción de MO en el AH

fch: Factor de corrección para la humedad

2.3 Herramientas estadísticas

Para determinar la influencia de los factores en las dos etapas de extracción se aplica un Análisis de Varianza Multifactorial y Diagramas de Pareto.

Se realiza una optimización a los resultados experimentales obtenidos, a partir gráficos de superficie de respuesta.

Para determinar los modelos matemáticos bajo las condiciones óptimas del diseño se realiza un análisis de regresión múltiple.

Para todas las técnicas descritas se utiliza el paquete estadístico Statgraphics Plus Versión 5.1.

2.4 Técnicas analíticas utilizadas en la investigación

La materia se caracteriza según el contenido de humedad, de cenizas, materia orgánica y pH. También se caracteriza la humina y el ácido húmico (Martinez *et al*, 2004).

2.4.1 Técnica operatoria para la determinación de humedad

- Tomar crisol y llevar a la estufa a 105 °C hasta alcanzar peso constante.
- Transferir al crisol tarado, aproximadamente 5 g de cachaza seca al aire libre y poner en la estufa a 105 °C durante una noche o 18 horas.
- Pasar el crisol tapado a la desecadora y mantenerlo en esta durante 30 minutos hasta enfriar.
- Pesar en la balanza analítica la cachaza seca.

Mediante la ecuación (2.9) se determina el % de humedad .

$$\% \text{ humedad} = \frac{B-C}{C-A} \cdot 100 \quad (2.9)$$

Donde: A: Peso constante del crisol a 105 °C (g)

B: Peso del crisol más la muestra seca al aire (g)

C: Peso del crisol más la muestra seca a 105 °C (g)

2.4.2 Técnica operatoria para la determinación de las cenizas y la materia orgánica

- Pesar 5 g del material seco al aire en crisoles previamente tarados a 550 °C.
- Llevar a la mufla elevando la temperatura paulatinamente (de 50 en 50 °C) para evitar perdida en la combustión. Una vez alcanzada la temperatura de 550 °C, mantener el crisol durante 3 horas.
- Pasar el crisol tapado a la desecadora y mantenerlo en esta durante 30 minutos hasta enfriar.
- Pesar posteriormente en balanza analítica.

Mediante la ecuación (2.10) se determina el % de cenizas

$$\% \text{ cenizas} = \frac{B - A}{M} \cdot 100 \quad (2.10)$$

Donde:

A: Peso del crisol constante a 550 °C (g)

B: Peso constante del crisol más cenizas (g)

M: Peso de la muestra seca al aire (g)

Por vía indirecta se determina el contenido de materia orgánica (%)

$$\% \text{ materia orgánica} = 100 - \% \text{ cenizas} \quad (2.11)$$

2.4.3 Técnica para determinar el pH de la cachaza

1. Se pesan 5 g de la muestra seca y molida y se coloca en un vaso de extracción.
2. Se agregan 125 mL de agua desionizada y se agita durante 10 minutos.
3. Se introduce el electrodo en la muestra y se proceda a realizar la lectura.

2.5 Valoración económica

Para la selección de la alternativa de extracción más factible se tendrá en cuenta el rendimiento de extracción y la factibilidad económica.

La factibilidad económica de este proyecto de investigación se define por el beneficio bruto obtenido del resultado de venta del producto así como los costos de la materia prima consumida, para ello se utiliza la ecuación siguiente:

$$BB = VP - \Sigma CMP \quad (2.12)$$

Siendo:

VP – Valor del producto (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, no considerándose la venta de los subproductos y humina).

CMP – Costo de la materia prima y los materiales auxiliares consumidas.

En la Tabla 2.2 se muestran los costos unitarios de la materia prima y los materiales auxiliares.

Tabla 2.2 Costos unitarios de la materia prima y los materiales auxiliares.

Materiales auxiliares	Costo unitario		Fuente
	Unidad	Valor	
Cachaza	\$/t	18,50	MINAG (2018)
Hidróxido de sodio	\$/t	460,93	ELQUIM (2018)
Agua	\$/m ³	1,55	INRH (2018)
Ácido sulfúrico	\$/t	150	UEB Rayonitro (2018)

Los costos unitarios de cada material fueron seleccionados de los listados de precios reportados por las empresas según el Ministerio de Finanzas y Precios.

En la Tabla 2.3 se muestran los precios unitarios de los ácidos húmicos y fúlvicos.

Tabla 2.3 Precios unitarios de los productos

Productos	Precio unitario		Fuente
	Unidad	Valor	
Ácidos húmicos	\$/kg	11,55	Santana (2017)
Ácidos fúlvicos	\$/kg	1,75	Quiminet (2015)

Capítulo 3. Resultados y discusión

En este capítulo se realiza un análisis de los resultados obtenidos en la investigación. Se determina la influencia de los diferentes factores estudiados en las etapas de extracción básica y ácida. Además, a partir de los resultados experimentales se realiza una valoración económica a partir del beneficio bruto.

3.1 Caracterización de la materia prima

La cachaza utilizada en la investigación proviene del Central azucarero Jesús Rabí ubicado en el municipio de Calimete en la provincia de Matanzas. Presenta un contenido de materia orgánica (MO) igual a 74,57 %, similar al obtenido por Galba *et al.*, (2010) que es de 78,25 %, el cual en su estudio expone que esta materia prima es de los residuos orgánicos que se utilizan como fertilizante el que presenta mayor contenido de MO. Por ejemplo, Santiago (2017) utiliza un estiércol de ganado vacuno con 32,21 % y Kulikowska *et al.* (2015) un compost con 47,9 % de MO. El bajo contenido de cenizas (25,43 %) permite una mayor degradación de la materia orgánica, lo que indica un alto grado de maduración de la fuente orgánica.

El valor del pH es igual a 6,2 similar al obtenido por Galba *et al.*, (2010) de 6,0. Esta débil acidez permite el uso de este residuo como enmienda en el suelo.

La humedad de la cachaza es de 65,02 %, con alto contenido de agua, lo que provoca un mayor consumo de materia prima y favorece un menor consumo de agua, en dependencia de la relación sólido-líquido utilizada en la extracción básica.

3.2 Análisis de la etapa de extracción básica (EB)

En la Figura 3.1 se observa que la relación sólido – líquido y el tiempo de extracción básica influyen significativamente sobre la fracción de sustancias húmicas (SHs) extraídas en esta etapa, así como las interacciones entre ambos factores y dentro de cada uno de forma independiente. Esto se corrobora en la Tabla ANOVA del Anexo 3, donde los valores de probabilidad son menores que 0,05.

La relación S/L influye de forma inversa, mientras mayor es la relación S/L menor fracción de SHs se obtiene y en el caso del tiempo de extracción la relación es directa, lo cual se debe a que existe mayor contacto entre materia prima y extractante. La influencia de la relación sólido-líquido se debe fundamentalmente al contenido de humedad que presenta la materia prima, por lo que se recomienda en estudios posteriores analizar el efecto de esta variable en la extracción.

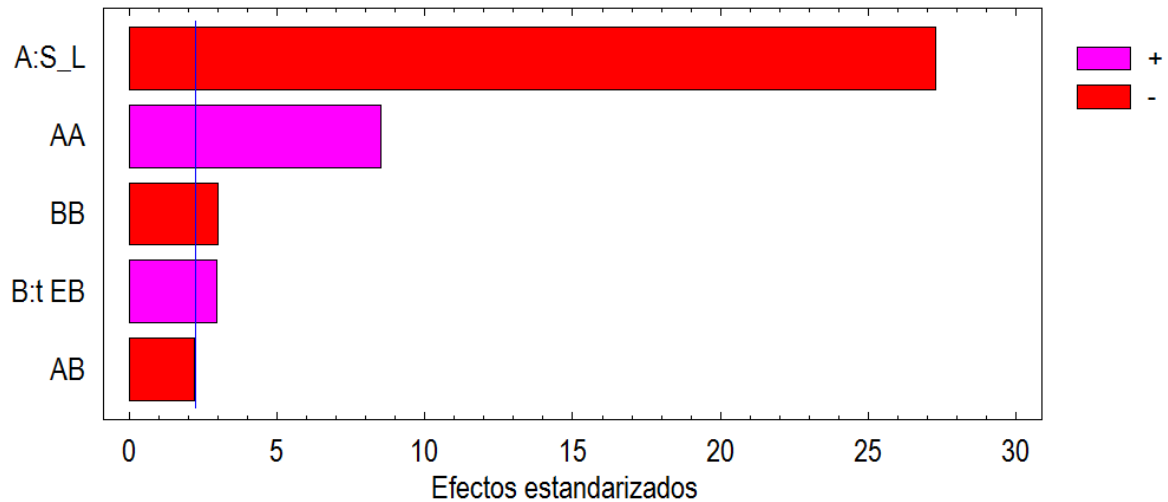


Figura 3.1 Diagrama de Pareto para las sustancias húmicas.

Se obtiene la mayor fracción de sustancias húmicas (0,91) para una relación sólido - líquido de 1/20 g/mL y 12 horas de extracción básica. Se recomienda para estudios posteriores estudiar relaciones de S/L menores que 1/20 g/mL porque el óptimo se encuentra en ese límite (Ver Figura 3.2). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Saito y Seckler (2014), donde la mayor extracción de SHs se obtiene para esas mismas condiciones. Esto comprueba que es necesario un tiempo que permita la ruptura de los enlaces entre los componentes inorgánicos y la MO de la cachaza, así como para despolimerizar los compuestos complejos de alto peso molecular.

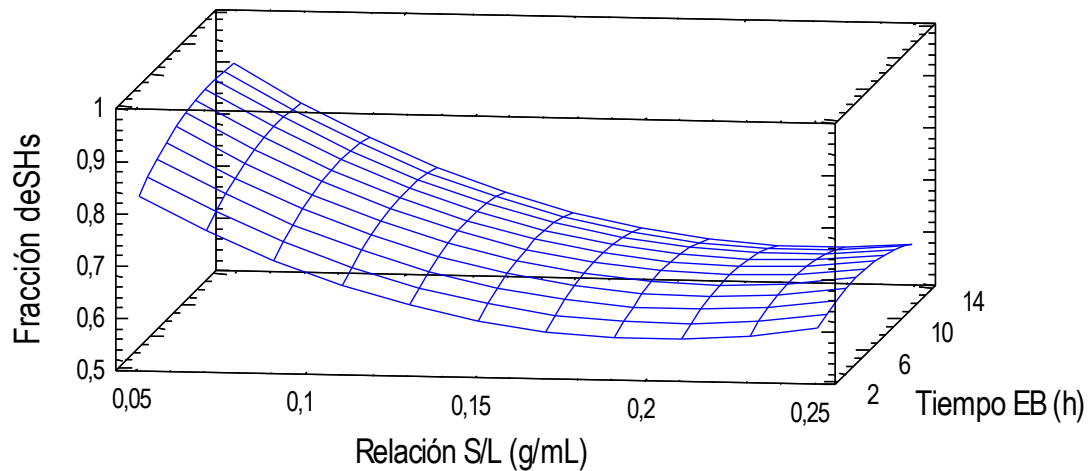


Figura 3.2 Superficie de respuesta para la fracción de SHs.

La ecuación 3.1 muestra el modelo matemático que correlaciona la fracción de sustancias húmicas con los efectos que influyen significativamente. El mismo muestra una correlación significativa para un 95 % de confianza entre la fracción de SHs extraída y los efectos, pues el valor de la probabilidad del coeficiente Durbin-Watson ($P=0,4957$) es mayor que 0,05 y el R^2 es igual a 98,78 %. Además, en la Figura 3.3 se muestra que el error absoluto entre el valor experimental y el calculado por la ecuación 3.1 es menor que el 5 % para todas las alternativas.

$$SH = 0,98 - 4,40 * SL + 0,02 * TEB + 11,14 * SL^2 - 0,04 * SL * TEB - 9,18 * 10^{-4} * TEB^2 \quad (3.1)$$

Donde:

SH: Fracción de SH

SL: Relación sólido – líquido (g/mL)

TEB: Tiempo de extracción básica (h)

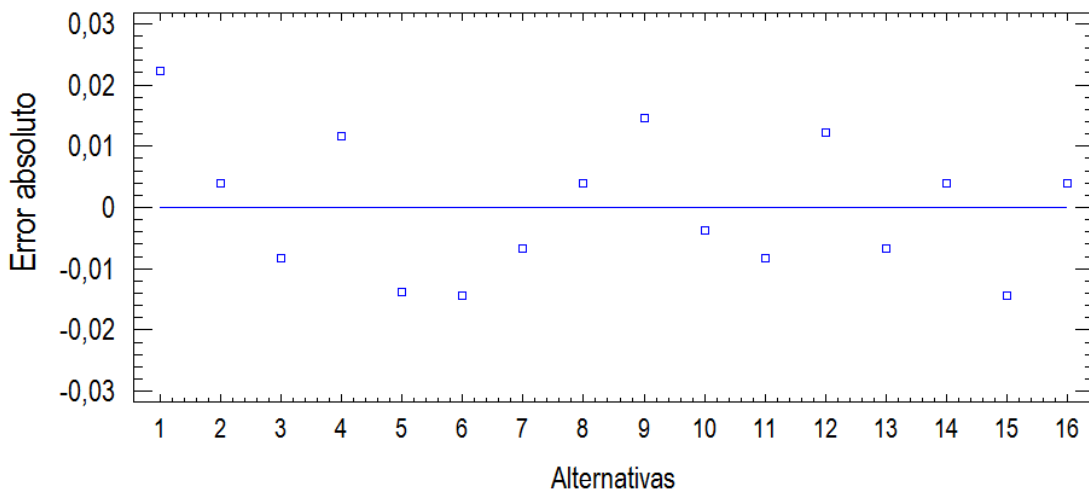


Figura 3.3 Representación del error absoluto entre la fracción de SHs experimental y la calculada por la ecuación 3.1.

Con respecto a la fracción de humina influyen significativamente para un 95 % de confianza los mismos efectos que para la fracción de sustancias húmicas, pues los valores de probabilidad son menores que 0,05 (Ver Tabla del Anexo 4). Sólo difieren estos efectos en la tendencia de correlación, como se muestra en la Figura 3.4, un aumento de la relación sólido – líquido y una disminución del tiempo de extracción favorecen a una mayor separación de la humina.

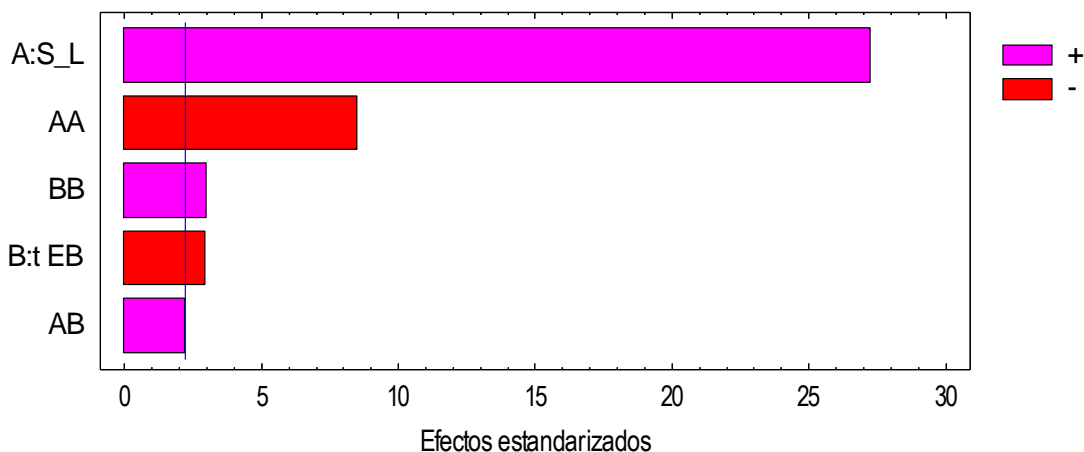


Figura 3.4 Diagrama de Pareto para la fracción de Humina.

La mayor fracción de humina (0,43) se extrae para una relación sólido – líquido de 1/5 g/mL y 2 h de extracción básica. La ecuación 3.2 muestra el modelo

matemático que permite predecir la humina, el cual es representativo para un 95 % de confianza, pues el valor de la probabilidad (0,50) es mayor que 0,05 y el error medio absoluto entre los valores experimentales y los calculados es igual a 0,0095, es decir, menor que el 5 % (Ver Figura 3.5).

$$H = 0,02 + 4,4 * SL - 0,02 * TEB + 11,14 * SL^2 + 0,04 * SL * TEB + 9,18 * 10^{-4} * TEB^2 \quad (3.2)$$

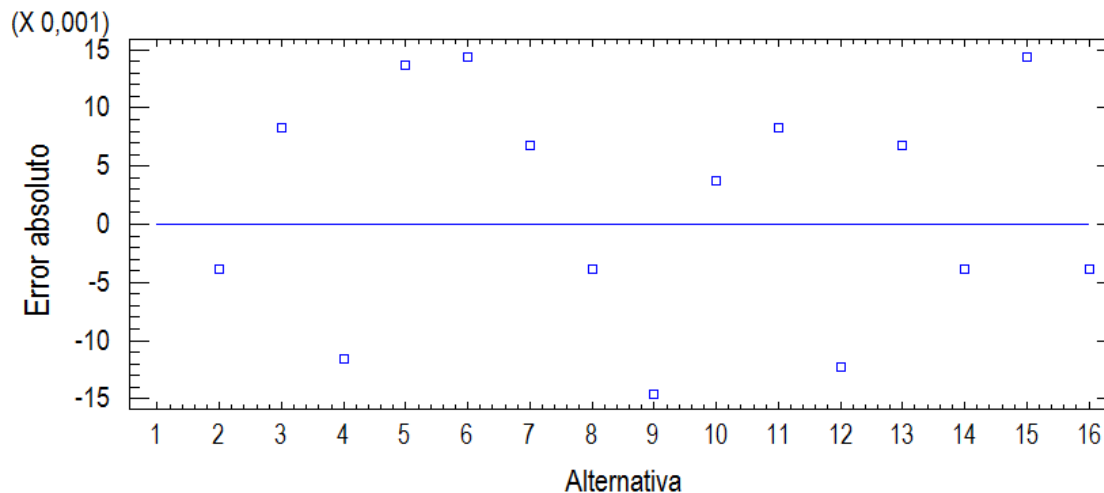


Figura 3.5 Representación del error absoluto entre la fracción de humina experimental y la calculada por la ecuación 3.2.

La Figura 3.6 refleja el efecto significativo de la relación sólido – líquido y el tiempo de la extracción básica en el % de extracción de MO en esta etapa, demostrado también en la Tabla ANOVA (Anexo 5) donde los valores de probabilidad son menores que un 0,05. La influencia de la relación sólido-líquido es inversa, es decir, a medida que aumenta desfavorece la extracción de MO en las SHs, mientras que el tiempo influye de forma directa.

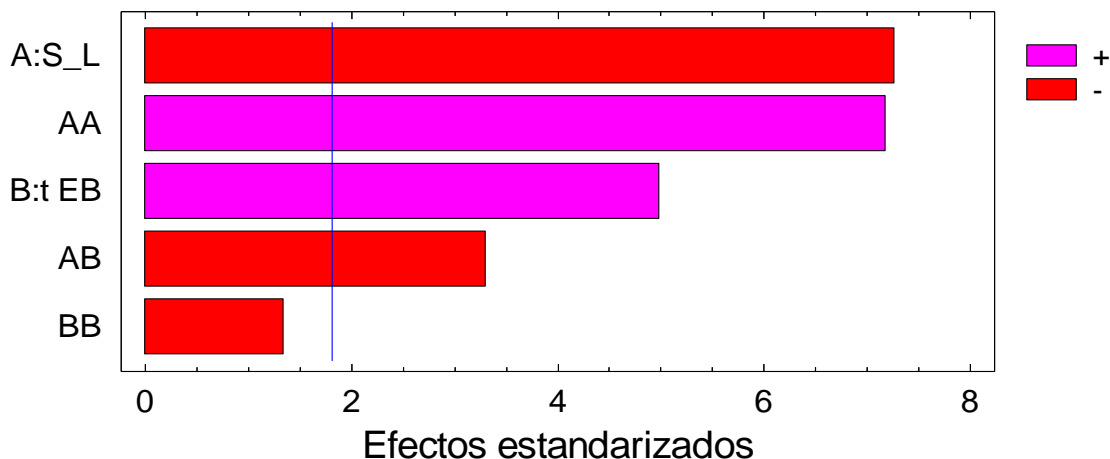


Figura 3.6 Diagrama de Pareto para el % de extracción de MO en las SHs.

Las condiciones óptimas de extracción de materia orgánica en las SHs son: relación sólido-líquido 1/20 g/mL y tiempo de extracción básica 14 h, tal como se muestra en la Figura 3.7, con 74,89 %. Se recomienda para estudios posteriores estudiar relaciones sólido-líquido inferiores a 1/20 g/mL y tiempo de extracción básica superior a 14 h, pues los valores óptmos se encuentran en los límites.

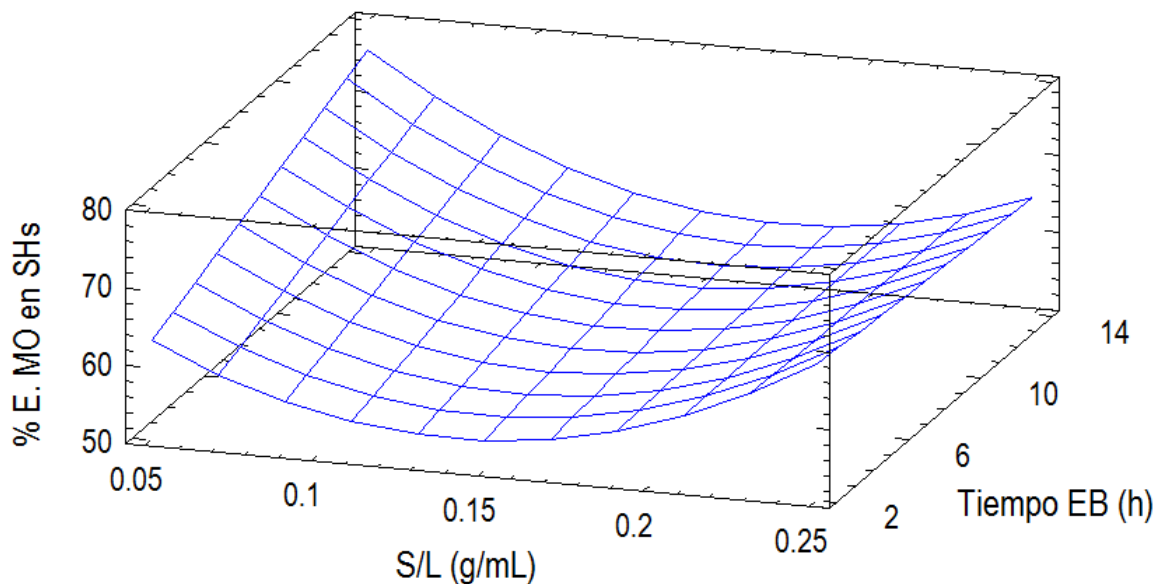


Figura 3.7 Superficie de respuesta para el % de extracción de MO en las SHs.

La ecuación 3.3 refleja el modelo matemático que correlaciona el % de extracción de MO con los efectos que ejercen influencia significativa. El mismo es

representativo significativamente, pues presenta un coeficiente R^2 igual a 92,60 % y un valor de probabilidad de 0,15 (mayor que 0,05).

$$\% \text{ EB} = 69,51 - 287,55 * \text{SL} + 2,21 * \text{TEB} + 1078,78 * \text{SL}^2 - 6,644 * \text{SL} * \text{TEB} \quad (3.3)$$

3.3 Análisis de la etapa de extracción ácida

En la etapa de extracción ácida se analiza la influencia de los factores estudiados sobre las variables respuestas (fracción de ácido fúlvico, fracción de ácido húmico y porcentaje de extracción de MO de ácido húmico).

En la Tabla ANOVA del Anexo 6 se aprecia que sólo influye significativamente la relación sólido – líquido y su interacción con el tiempo de extracción básica, ya que los valores de la probabilidad (p-value) son menores que 0,05 y se analiza con un 95 % de confianza. En el diagrama de Pareto (Figura 3.8) se obtiene que aumento de la relación sólido – líquido favorece la fracción de AH a extraer. Los tiempos de extracción básica (B) y extracción ácida (C) no son determinantes, por lo que se recomienda extracciones de 4 h lo que disminuye los costos por concepto de energía y permite el aumento de la producción.

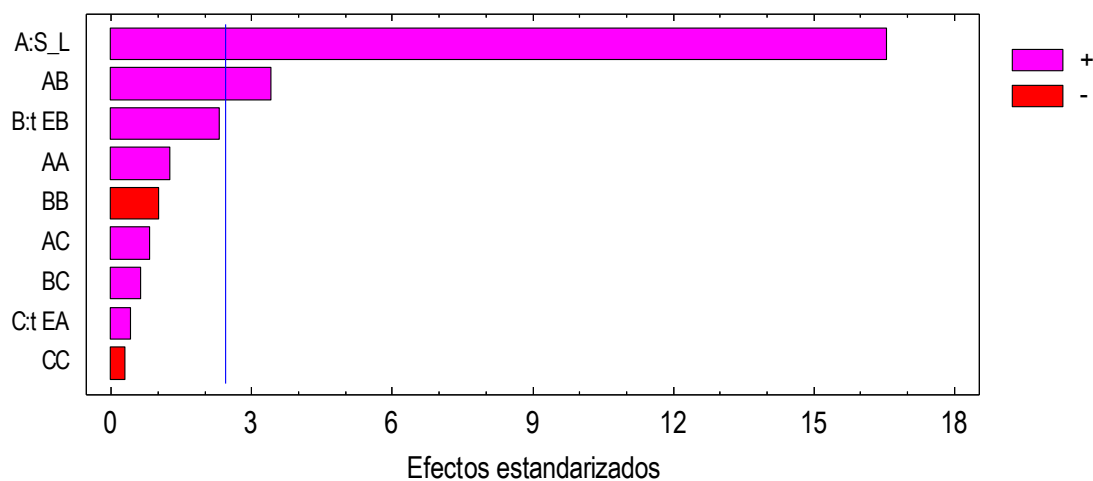


Figura 3.8 Diagrama de Pareto para la fracción de ácido húmico.

La mayor fracción de AH que se obtiene (0,45) para las condiciones de la investigación son: 1/4 g/mL de relación sólido-líquido, 14 y 14 h de extracción básica y ácida respectivamente.

El modelo que correlaciona la fracción de AH con la relación sólido - líquido y su efecto al cuadrado se muestra en la ecuación 3.4:

$$AH = 0,08 + 0,74 * SL - 0,007 * TEB + 0,07 * SL * TEB \quad (3.4)$$

El modelo presenta un R^2 igual a 98,57 %, un valor de probabilidad mayor que 0,05 (0,45) y un error medio absoluto de 0,008, lo que indica que la correlación es significativamente estadística para un 95 % de confianza (Ver Figura 3.9).

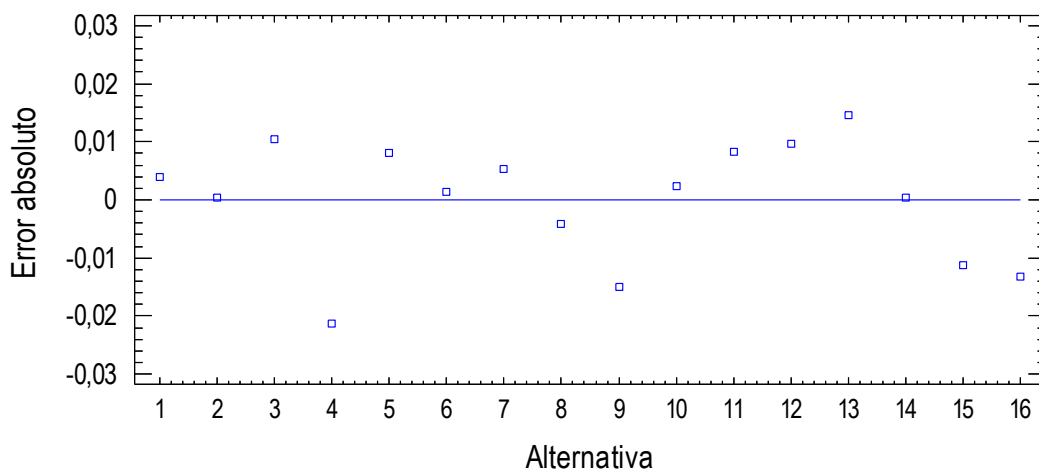


Figura 3.9 Representación del error absoluto entre la fracción de AH experimental y la calculada por la ecuación 3.4.

En la fracción de AF influyen los mismos efectos que en el AH, con la diferencia que la relación sólido – líquido afecta de forma inversa, es decir, una disminución de la relación S/L favorece la extracción de AF (Ver Anexo 7). La mayor fracción de AF que se obtiene (0,92) para las condiciones de la investigación son: 1/20 g/mL de relación sólido-líquido, 14 y 4 h de extracción básica y ácida respectivamente.

La Figura 3.10 muestra que sólo el tiempo de extracción básica y su efecto al cuadrado influyen significativamente para un 95 % de confianza, pero si se considera un 90 % de confianza, influyen también el tiempo de extracción ácida y su efecto al cuadrado, tal como se muestra en la tabla ANOVA del Anexo 8.

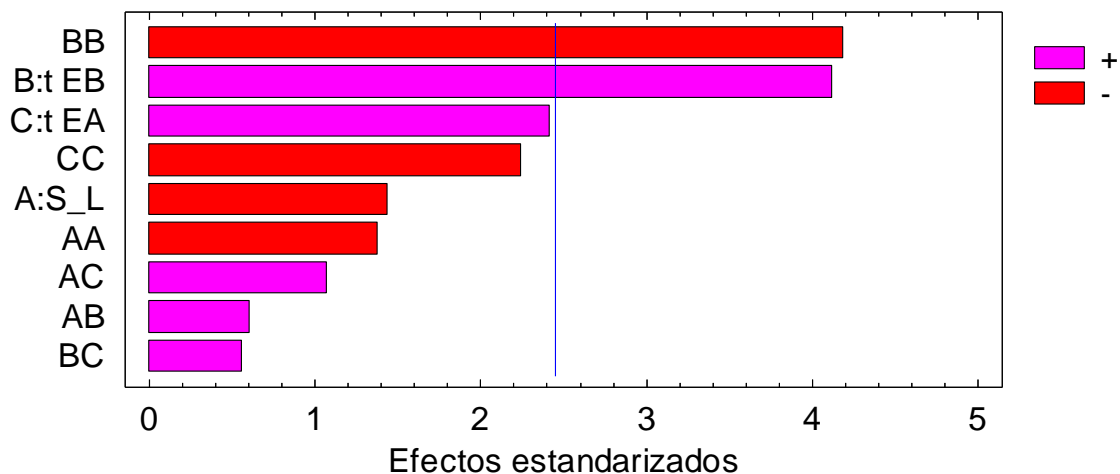


Figura 3.10 Diagrama de Pareto para el % de extracción de MO en el AH.

En la Figura 3.11 se observa que las condiciones óptimas de extracción de materia orgánica en el ácido húmico son: 0,12 g/ml de relación sólido – líquido, 10 h de EB y 10 h de EA, para 15,72 % de MO en el AH.

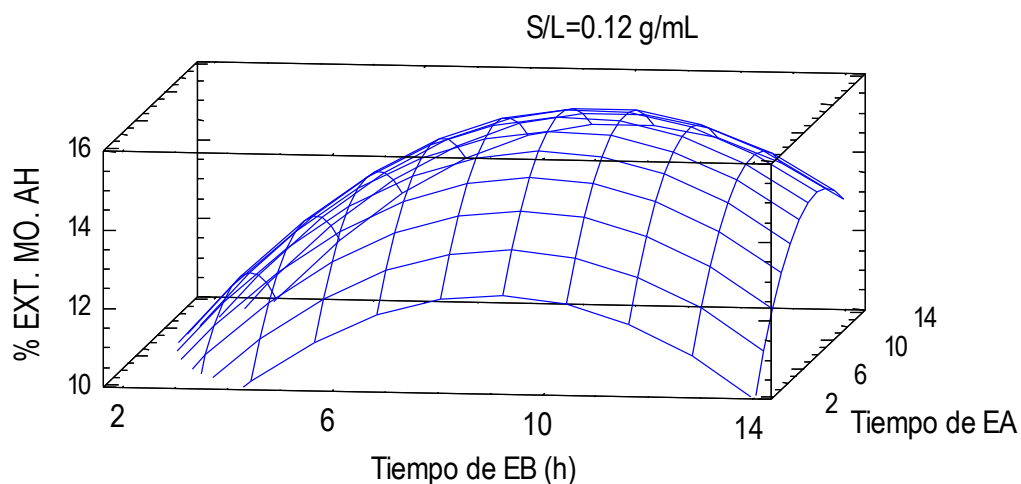


Figura 3.11 Superficie de respuesta para el % de extracción de MO en el AH.

La ecuación 3.5 muestra el modelo matemático que correlaciona el % de extracción de MO en el ácido húmico con los efectos que influyen significativamente para un 90 % de confianza. Presenta un R^2 igual a 88,76 % y un valor de probabilidad de 0,28.

$$\% EA = 2,55 + 1,77 * t_{EB} + 0,78 * t_{EA} - 0,10 * t_{EB}^2 - 0,05 t_{EA}^2 \quad (3.5)$$

3.4 Valoración económica

Para el desarrollo del análisis económico se debe señalar que la investigación se realiza a nivel de laboratorio, por lo que no se cuenta con los costos de producción (mano de obra, utilidades, mantenimiento, impuestos, seguros, reparaciones, etc.), entonces se determina la factibilidad económica a partir del beneficio bruto, que se calcula mediante la ecuación 2.12

- Cálculo de los flujos de los productos (AH y AF)

La producción de AH se realizará por cinco meses, teniendo en cuenta el período de zafra. Si se considera una demanda de 1 tonelada mensual de ácido húmico (Santiago, 2017), en dependencia del estimado del tiempo de producción (t_{prod}) para cada alternativa, como se muestra en la Tabla 3.1, se determina los kg de AH por hora a partir de la ecuación 3.11.

$$kg \frac{AH}{h} = \frac{1 \text{ ton}}{\text{mes}} * \frac{1000 \text{ kg}}{1 \text{ ton}} * \frac{1 \text{ mes}}{30 \text{ días}} * \frac{1 \text{ día}}{24 \text{ h}} * t_{prod} \quad (3.11)$$

El tiempo de cada producción se determina por la siguiente expresión:

$$t_{prod} = t_{EB} + t_{EA} + t_{sep} \quad (3.12)$$

Donde:

t_{prod} : tiempo de cada producción por día (h)

t_{EB} : tiempo de extracción básica (h)

t_{EA} : tiempo de extracción ácida (h)

t_{sep} : tiempo de separación en el proceso completo (4h)

El flujo de AF producido se calcula por la ecuación 3.13

$$m(AF) = \frac{kg \text{ AH}}{h} \times \frac{g \text{ AF obtenido}}{g \text{ AH obtenido}} \quad (3.13)$$

Tabla 3.1 Relación de kg/h para los diferentes tiempos de extracción

Tiempo (EB); (h)	Tiempo (EA); (h)	t _{prod} (h)	kg AH/ h
12	4	20	27,78
12	12	28	38,89
8	8	20	27,78
8	14	26	36,11
4	4	12	16,67
14	8	26	36,11
4	12	20	27,78
8	2	14	19,44
2	8	14	19,44

- Cálculo de los consumos de materias primas y materiales auxiliares y de las cantidades de productos para alternativa

Debido a que no se conocen los pesos moleculares de cada uno de los componentes que forman parte en las etapas de extracción, se debe tomar la relación de reactivos-productos brindada por cada uno de los experimentos realizados (Ver Anexo 9).

Con las ecuaciones 3.14, 3.15, 3.16 se puede conocer la cantidad de reactivos y materia prima necesarios para producir el ácido húmico en cada alternativa (Ver Anexo 10)

$$m(MP) = \frac{kg\ AH}{h} \times \frac{g\ MP}{g\ AH\ obtenido} \quad (3.14)$$

Donde:

m (MP): masa de materia prima necesaria para producir AH en cada alternativa (kg/h)

g MP: es la cantidad de MP base seca utilizada en el laboratorio (g)

g AH obtenido: es la cantidad de ácido húmico obtenido en el laboratorio (g)

En la Figura 3.16 se muestran los consumos de cachaza necesarios para producir ácido húmico en cada alternativa, los cuales son inferiores a la disponibilidad de esta materia prima diaria en todos los centrales de la provincia (605 641,6 kg/día), lo que indica que es posible utilizar la misma, por su alta disponibilidad.

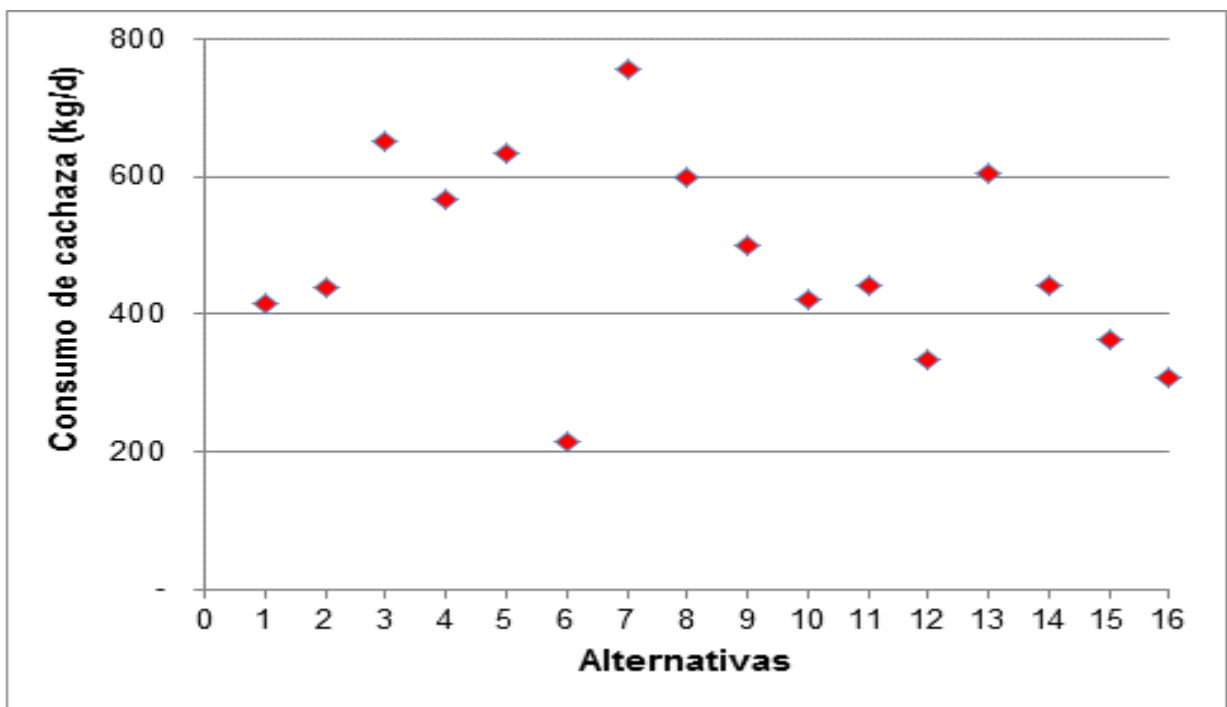


Figura 3.4 Consumo de cachaza por producción de ácido húmico en cada alternativa.

El cálculo de las cantidades de extractantes consumidas en cada alternativa se muestran en el Anexo 9

$$m(\text{NaOH}) = \frac{\text{kg Ah}}{\text{prod}} * \frac{\text{EB consumido}}{\text{AH obtenido}} * \frac{40 \text{ kg NaOH}}{1000 \text{ L EB}} \quad (3.15)$$

$$m(\text{H}_2\text{SO}_4) = \frac{\text{kg AH}}{\text{prod}} * \frac{\text{EA consumido}}{\text{AH obtenido}} * \frac{\text{cantidad H}_2\text{SO}_4 98\%}{1000 \text{ L EA}} * \frac{1,83 \text{ kg}}{1 \text{ L H}_2\text{SO}_4 98\%} \quad (3.16)$$

El agua consumida en el proceso de extracción se calcula mediante las ecuaciones 3.17, 3.18 y 3.19.

$$m(H_2O) = m(H_2O)_{EB} + m(H_2O)_{EA} + m(H_2O)_{adicional} \quad (3.17)$$

$$m(H_2O)_{EB} = \frac{kg \text{ AH}}{prod} \times \frac{L \text{ EB consumido}}{AH \text{ obtenido}} \times \frac{L \text{ H}_2\text{O consumido}}{1000 L \text{ EB}} \times \frac{0,995 kg \text{ H}_2\text{O}}{1 L \text{ H}_2\text{O}} \quad (3.18)$$

$$m(H_2O)_{EA} = \frac{kg \text{ AH}}{prod} \times \frac{L \text{ EA consumido}}{AH \text{ obtenido}} \times \frac{L \text{ H}_2\text{O consumido}}{1000 L \text{ EA}} \times \frac{0,995 kg \text{ H}_2\text{O}}{1 L \text{ H}_2\text{O}} \quad (3.19)$$

En el Anexo 10 se muestran los resultados de los consumos de materia prima y materiales auxiliares, así como los flujos de los productos (AH y AF) para cada alternativa.

- Cálculo del beneficio bruto

Para el cálculo del beneficio bruto se determinan los costos de los diferentes materiales utilizados en el proceso (materia prima y materiales auxiliares) y el valor de los dos productos (ácido húmico y ácido fúlvico).

En la Tabla 3.2 se muestran los resultados del beneficio bruto para cada alternativa.

Alternativa	Costo cachaza (\$/h)	Costo H ₂ SO ₄ (\$/h)	Costo NaOH (\$/h)	Costo H ₂ O (\$/h)	VP AH \$/h	VP AF \$/h	BB (\$/h)
1	0,32	0,04	3,19	0,27	224,58	211,210024	431,98
2	0,34	0,11	3,38	0,31	320,83	256,255802	572,95
3	0,50	0,16	7,51	0,65	449,17	635,781747	1076,12
4	0,44	0,10	4,37	0,38	417,08	312,074402	723,87
5	0,49	0,08	2,43	0,22	320,83	143,29228	460,90
6	0,17	0,05	2,49	0,21	192,50	190,395848	379,98
7	0,58	0,05	2,90	0,25	449,17	146,557873	591,94
8	0,46	0,10	4,60	0,40	417,08	326,363939	737,89
9	0,39	0,03	1,54	0,13	320,83	75,7426105	394,49
10	0,32	0,03	1,62	0,14	192,50	89,1735392	279,56
11	0,34	0,12	5,08	0,45	320,83	430,486617	745,33
12	0,26	0,11	3,86	0,34	320,83	447,607986	763,87
13	0,47	0,03	2,33	0,20	320,83	117,13503	434,95
14	0,34	0,11	3,39	0,31	320,83	256,020663	572,70
15	0,28	0,07	4,20	0,36	320,83	325,135013	641,05
16	0,24	0,05	2,36	0,21	224,58	165,928268	387,66

La alternativa 3 (relación S/L de 1/15 g/mL, 12 h de EB y 12 h de EA) arroja el mayor beneficio bruto (1076,12 \$/h); sin embargo estas no coinciden con las que se obtiene el mayor porcentaje de extracción de MO en el ácido húmico (15,27 %): 0,12 g/ml de relación sólido – líquido; tiempo (EB) = 10 h; tiempo (EA) = 10 h. Para estas condiciones no existen resultados a escala de laboratorio, por lo que resulta necesario calcular los flujos de consumos de materia prima y materiales auxiliares y los de los productos, a partir de las ecuaciones 3.15 a la 3.19.

$$t_{prod} = t_{EB} + t_{EA} + t_{sep} = 10 + 10 + 4 = 24 \text{ h}$$

$$\text{kg} \frac{\text{AH}}{\text{h}} = \frac{1000 \frac{\text{kg}}{\text{mes}} * 24 \text{ día}}{30 \frac{\text{día}}{\text{mes}} * 24 \text{ h}} = 33,33 \text{ kg/h}$$

Para obtener el ácido húmico producido a nivel de laboratorio se determina el modelo de correlación (ecuación 3.20), el cual arroja una correlación significativa estadísticamente para un 95 % de confianza, pues el valor de la probabilidad (0,0020) es menor que 0,05.

$$\text{AH} = 28,17 + 0,15 * t(\text{EA}) + 0,31 * t(\text{EB}) + 166,46 * \text{SL} \quad (3.20)$$

El ácido húmico a nivel de laboratorio obtenido es igual a 52,74 g.

La ecuación 3.21 expresa el modelo matemático que correlaciona el flujo de AF producido con los factores: relación S/L y tiempo (EB). La correlación es significativamente estadística para un 95 % de confianza, pues el valor de la probabilidad (p-value = 0,0000) es menor que 0,05.

$$\text{AF} = 407,04 - 1245,39 * \text{SL} \quad (3.21)$$

El flujo de AF obtenido a nivel de laboratorio es 257,59 g.

La ecuación 3.22 expresa el modelo matemático que correlaciona el consumo de H₂SO₄ con los factores: relación S/L y tiempo (EB). La correlación es significativamente estadística para un 95 % de confianza, pues el valor de la probabilidad (p-value = 0,0129) es menor que 0,05.

$$H_2SO_4 = 6,16 - 26,65 * SL + 0,29 * T(EB) \quad (3.22)$$

El flujo de H₂SO₄ al 98 % a consumir es 5,80 kg/h (0,03 L/h)

Al sustituir en las ecuaciones 3.15, 3.16, 3.17 y 3.19.

$$m(MP) = \frac{kg \text{ AH}}{h} \times \frac{g \text{ MP}}{g \text{ AH obtenido}} = \frac{33,33 \text{ kg}}{h} * \frac{30 \text{ g}}{49,23 \text{ g}} = 20,31 \text{ kg/h}$$

$$m(NaOH) = \frac{33,33 \text{ kg}}{h} * \frac{0,3 \text{ L}}{0,052 \text{ kg}} * \frac{40 \text{ kg NaOH}}{1000 \text{ L EB}} = 7,70 \text{ kg/h}$$

$$m(H_2O)_{EB} = \frac{33,33 \text{ kg}}{h} \times \frac{0,30 \text{ L}}{0,052 \text{ kg}} \times \frac{1000 \text{ L H}_2\text{O consumido}}{1000 \text{ L EB}} \times \frac{0,995 \text{ kg H}_2\text{O}}{1 \text{ L H}_2\text{O}} = 191,32 \text{ kg/h}$$

$$m(H_2O)_{EA} = \frac{33,33 \text{ kg}}{h} \times \frac{0,03 \text{ L}}{0,052 \text{ kg}} \times \frac{837,80 \text{ L H}_2\text{O consumido}}{1000 \text{ L EA}} \times \frac{0,995 \text{ kg H}_2\text{O}}{1 \text{ L H}_2\text{O}} = 16,00 \text{ kg/h}$$

$$m(H_2O) = 191,31 + 16,0 + 0,0943 = 207,41 \text{ kg/h}$$

El beneficio bruto para las condiciones óptimas es igual a 824,38 \$/h, superior al obtenido en la alternativa 14 que arroja el mayor % de extracción de MO en el AH (572,70 \$/h).

3.5 Conclusiones parciales del capítulo

De los resultados obtenidos se concluye que:

1. La cachaza presenta 74,57 % de MO, contenido de cenizas de 25,43 %, pH igual a 6,2 y 65,02 % de humedad.
2. En la etapa de separación de las SHs influyen significativamente la relación sólido – líquido (indirecta) y el tiempo de EB (directa) para un 95 % de confianza.
3. En la etapa de fraccionamiento de SHs influye significativamente la relación sólido - líquido para un 95 % de confianza.
4. En el % de extracción de MO influyen significativamente los tiempos de las dos extracciones para un 90 % de confianza.

5. El valor óptimo del % de extracción de MO en el AH es de 15,27 %, para 0,12 g/mL de relación S/L, 10 horas para cada extracción, con un beneficio bruto de 824,38 \$/h.

CONCLUSIONES

Para las condiciones establecidas en la investigación se concluye que:

1. Las condiciones óptimas de operación en el proceso de separación y fraccionamiento de las SHs son: 0,12 g/mL de relación S/L, 10 h de extracción y 10 h extracción ácida que garantizan 15,27 % de MO en el AH.
2. La cachaza presenta 74,57 % de MO, un contenido de cenizas de 25,43 %, pH igual a 6,2 y 65,02 % de humedad.
3. Existe disponibilidad de cachaza para la producción de 1 tonelada de AH mensual por 5 meses.
4. En la etapa de separación de las SHs influyen significativamente la relación sólido – líquido (indirecta) y el tiempo de EB (directa) para un 95 % de confianza.
5. En la etapa de fraccionamiento de SHs influye significativamente la relación sólido - líquido para un 95 % de confianza.
6. En el % de extracción de MO influyen significativamente los tiempos de las extracciones básica y ácida para un 90 % de confianza.
7. Todas las alternativas presentan un beneficio bruto positivo, para las condiciones óptimas es igual a 824,38 \$/a.

RECOMENDACIONES

Se recomienda para estudios posteriores:

- ✓ Ampliar los niveles de los factores relación S/L y tiempos de extracción.
- ✓ Estudiar el efecto de la humedad de la materia prima en el proceso de extracción de ácidos húmicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aeschbacher, M.; Graf, C.; Schwarzenbach, R.P.; Sander, M. Antioxidant properties of humic substances, *Environ. Sci. Technol.* Vol. 46, (2012), p4916–4925.
2. Ahmed, O.; Husni, M.H.A.; Anuar, A.; Hanafi, M. Effect of residue management practices on yield and economic viability of malaysian pineapple production, *Journal of Sustainable Agricultura*, Vol. 20, (2002), p83-94.
3. Aiken, G.R.; McKnight, D.M.; Wershaw, R.L.; MacCarthy P. Humic substances in soil, sediment and water, wiley. New York, Estados Unidos, (1985).
4. Asakawa, Daichi; Limura, Yasuo; Kiyota, Takuro; Yanagi, Yukiko; Fujitake, Nobuhide. Molecular size fractionation of soil humic acids using preparative high performance size exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1218, (2011), p. 6448– 6453.
5. Backhus, D.A.; Golini, C.; Castellanos, E. *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 37, No. 20, (2003), p47-17.
6. Baldotto, L.E.B.; Baldotto, M.A.; Giro, V.B.; Canellas, L.P.; Olivares, F.L.; Bressan-Smith, R. Desempenho do abacaxizeiro Vitória em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimação. *Revista Brasileirade Ciência do Solo*, Vol. 33, (2009), p979– 990.
7. Bettoni, Marcelle; Mogor, Átila; Pauletti; Nieves Goicoechea, Volnei; Iker Aranjuelo; Garmendia Idoia. Nutritional quality and yield of onion as affected by different application methods and doses of humic substances. *Journal of food composition and analysis*, Vol. 51, (2016), p37–44.
8. Boletín Oficial del Estado (Spanish State Official Bulletin), Real Decreto 1110/1991, de 12 de julio, por el que se aprueban los métodos oficiales de análisis de productos orgánicos fertilizantes, (1991), p23725–23730.
9. Calvo, P.; Nelson, L.; Kloepper, J.W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant soil*, Vol. 383, (2014), p. 3–41.

10. Canellas, L.P.; Olivares, F.L.; Aguiar, N.O.; Davey, L.; Jones, D.L.; Nebbioso, A.; Mazzei, P.; Piccolo, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *SciHortic*, Vol. 196: (2015), p15–27.
11. Cavani, L.; Ciavatta, C.; Gessa, C. Identification of organic matter from peat, leonardite and lignite fertilisers using humification parameters and electrofocusing. *Bioresour Technol*, Vol. 86, (2003), p45–52.
12. Chandan Kumar, Jana; Nilanjana, Das; Gunindra Nath, Chattopadhyay. Improved extraction of humic acids from vermicomposted organic waste by a column-based continuous elution method. *Separation science and technology*, Vol. 51, No. 17, (2016), p. 2780-2789.
13. Chang, R.R.; Mylotte, R.; Hayes, M.H.B.; McInerney, R.; Tzou, Y.M. A comparison of the compositional differences between humic fractions isolated by the IHSS and exhaustive extraction procedures. *Naturwissenschaften*, Vol. 101, (2014), p197–209.
14. Chen, Y.; Clapp, C.E.; Magen, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. *Soil Sci. Plant Nutr*, Vol. 50, (2004), p1089–1095.
15. De Oliveira, Lilian Karla; De Almeida, Camila; Fernandes, Leonardo; Friese, Kurt; Rosa, André Henrique. Interaction of arsenic species with tropical river aquatic humic substances enriched with aluminum and iron. *Environ Sci Pollut Res*, Vol. 23, (2016), p6205-6216.
16. Dhanapal, S. and Sekar, D.S. Antioxidant potential of coal extracted humic acid on invitro propagation of *Musa accuminata*: a comparison study with humic rooting and keradix, *Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. Technol*. Vol. 3, No. 6, (2014), p13649–13657.
17. Donisa, C.; Mocanu, R.; Steinnes, E. Distribution of some major and minor elements between fulvic and humic acid fractions in natural soils. *Geoderma* VI. 111. (2003), p75–84.
18. Endo, S.; Nishiyama, A.; Suyama, M.; Takemura, M.; Soda, M.; Chen, H.; Tajima, K.; El- Kabbani, O.; Bunai, Y.; Hara, A.; Matsunaga, T.; Ikari, A. Protective roles of aldo-keto reductase 1B10 and autophagy against toxicity

- induced by p-quinone metabolites of tert-butylhydroquinone in lung cancer A549 cells, *Chem. Biol. Interact.* Vol. 234, (2014), p282–289.
19. Ertani, A.; Francioso, O.; Tugnoli, V.; Righi, V.; Nardi, S. Effect of commercial lignosulfonate-humate on *Zea mays* L. metabolism. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 59, (2011), p11940–11948.
 20. Faust, R. Humisolve usa brand humate the space age soil treatment in our future, (2005).
 21. Fernández, J. F.; Giner, G.; Arciniega, L. Las Sustancias Húmicas: Incidencias en la Fertilidad de Los Cultivos, *Agrícola Vergel*, Vol. 269, (2004).
 22. Ferrara, G.; Loffredo, E.; Senesi, N.; Marcos, R. Humic acids reduce the genotoxicity of mitomycin C in the human lymphoblastoid cell line TK6, *Mutat. Res.*, Vol. 603, No. 1, (2006), p27–32.
 23. Fuentes, Marta; Baigorri, Roberto; González Gaitano, Gustavo; García-Mina, José María. New methodology to assess the quantity and quality of humic substances in organic materials and commercial products for agricultura. *J soils sediments*, (2016).
 24. Gomes de Melo, B.A.; Motta, F.L.; Santana, M.H.A. The interactions between humic acids and Pluronic F127 produce nanoparticles useful for pharmaceutical applications, *J. Nanoparticle Res.* Vol. 17, No. 10, (2015), p400.
 25. Gomes de Melo, Bruna Alice; Lopes Motta, Fernanda Maria; Andrade Santana, Helena. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials science and engineering C*, Vol. 62, (2016), p. 967–974.
 26. Ghosal, S. Patentes delivery system for pharmaceutical, nutritional and cosmetic ingredients, US Patent number 6558712, (2003).
 27. Guggenberger, G. Humification and mineralization in soils. In: Varma, A., Buscot, F. (Eds.), *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions* 3. Springer, Berlin, (2005), p85–106.

28. Guo, Xiaobo; Junhao, Huang; Yanyu, Lu; Guangchun, Shan; Qunliang, Li. The influence of flue gas desulphurization gypsum additive on characteristics and evolution of humic substance during co-composting of dairy manure and sugarcane pressmud. *Bioresource Technology*. Vol. 219, (2016), p169–174.
29. Hayes, M.H.B.; MacCarthy, P.; Swift, R.S. The search for structure: setting the scene. In: Hayes MHB, MacCarthy P, Swift RS (eds) *Humic substances II: in search of structure*. Wiley, Chichester, (1989), p3–31.
30. Huang, G.F.; Wu, Q.T.; Wong, J.W.; Nagar, B.B. Transformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology*, Vol. 97, (2006), p1834–1842.
31. Hutta, Milan; Gora, Robert; Halko, Radoslav; Chalanyova, Maria. Some theoretical and practical aspects in the separation of humic substances by combined liquid chromatography methods. *Journal of chromatography A*, Vol. 1218, (2011), p. 8946– 8957.
32. Ishiguro, M. and Koopal, L.K. Predictive model of cationic surfactante binding to humic substances, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* Vol. 379, (2011), p70–78.
33. Jisheng, Xu; Bingzi, Zhao; Wenying, Chu; Jingdong, Mao; Jiabao, Zhang. Chemical nature of humic substances in two typical Chinese soils (upland vs paddy soil): A comparative advanced solid state NMR study. *Science of the total environment*, Vol. 576, (2017), p. 444–452.
34. Junek, R.; Morrow, R.; Schoenherr, J.I.; Schubert, R.; Kallmeyer, R.; Phull, S.; Klöcking, R. Bimodal effect of humic acids on the LPS-induced TNF- α release from differentiated U937 cells, *Phytomedicine*, Vol.16, No. 5, (2009) p470–476.
35. Khanna, R.; Agarwal, S.P.; Khar, R.K. Fulvic acids and humic acids as novel complexing agents and a process Indian, Patent number 239574, (2010).
36. Khil'ko, S.L.; Efimova, I.V.; Smirnova, O.V. Antioxidant properties of humic acids from brown coal, *Solid Fuel Chem*, Vol. 45, No. 6, (2011), p367–371.

37. Klöcking, R. and Helbig, B. Medical aspects and applications of humic substances, *Biopolym. Lignin Humic Subst. Coal*, (2005), p3–16.
38. Klöcking, R.; Felber, Y.; Guhr, M.; Meyer, G.; Schubert, R.; Schoenherr, J.I. Development of an innovative peat lipstick based on the UV-B protective effect of humic substances, *Mires Peat*, Vol. 11, (2013), p1–9.
39. Kononova, M.M. *Soil Organic Matter, Its Nature, Its role in soil formation and in soil fertility*, 2nd ed., Pergamon, Oxford, (1966).
40. Kolonovav. *Ácidos húmicos. Origen y sus beneficios*, (2003).
41. Kulikowska Dorota; Mariusz Gusiatin, Zygmunt; Bułkowska, Katarzyna; Kierklo Katarzyna. Humic substances from sewage sludge compost as washing agent effectively remove Cu and Cd from soil. *Chemosphere*, Vol. 136, (2015), p42–49.
42. La Montagne, M. Evaluation of extraction and purification methods for obtaining PCR-amplifiable DNA from compost for microbial community analysis', *J. Microbiol Methods*, vol. 49, (2002).
43. Lee, W.J.; Lu, F.J.; Wang, S.F.; Chen, Y.R.; Tseng, T.H. In vitro enhancement effect of humic acid on the progression of lung cancer cells, *Chem. Biol. Interact*, Vol. 181, No. 3, (2009), p463–471.
44. Logan, E.M. "Complexation of Cu and Pb By Peat and Humic Acid." *The European Journal of Soil Science*, Vol. 48, No. 4, (2003).
45. Lu, F.J.; Tseng, T.H.; Lee, W.J.; Yen, C.C.; Yin, Y.F.; Liao, C.W.; Liu, K.M. Promoting neoplastic transformation of humic acid in mouse epidermal JB6 Cl41 cells, *Chem. Biol. Interact*, Vol. 162, No. 3, (2006), p249–258.
46. Lukyanov, N. V.; Syroezhko, A. M.; Slavoshevskaya, N. V.; Strakhov, V. M.; Potekhin, V. M.; Itskovich, V. A. Extraction of Humic Acids from Kansko_Achinsk Lignite. *Coke and Chemistry*, Vol. 59, No. 2, (2016), p48-53.
47. Martínez, F., Valdés, M., Bahamonde, A., Mena, M., Peña, E. *Manual de Técnicas de análisis químico para humus de lombriz*. Departamento de Suelos. MINAG (2004).

48. Matsuda, M.; Kaminaga, A.; Hayakawa, K.; Takisawa, N.; Miyajima, T. Surfactant binding by humic acids in the presence of divalent metal salts, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* Vol. 347, (2009), p49.
49. Mylotte, R.; Verheyen, V.; Reynolds, A.; Dalton, C.; Patti, A.F.; Chang, R.R. Isolation and characterisation of recalcitrant organic components from an estuarine sediment core. *J. Soils Sediments*, Vol. 15, (2015), p211–224.
50. Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Muscolo, A.; Vianello, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil BiolBiochem*, Vol. 34: (2002), p1527–1536.
51. Nardi, S.; Muscolo, A.; Vaccaro, S.; Baiano, S.; Spaccini, R.; Piccolo, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biol. Biochem*, Vol. 39, (2007), p3138–3146.
52. Nelson, D.W. and Sommers, L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Page AL, Miller RH, Keeney DR (eds) *Methods of soil analysis part 2, chemical and microbiological properties*, Soil Science Society of America Book Series. Soil Science Society of America, Madison, (1982), p539–579.
53. Pedroso, I. Propuesta de una metodología de extracción de ácidos húmicos para su uso como biofertilizante. Tesis en opción al grado científico de Máster en Contaminación Ambiental, Universidad de Matanzas, (2007).
54. Pérez, C. Propuesta preliminar de una metodología de extracción de ácido húmico, Tesis en opción al título de Ingeniería Química, Universidad de Matanzas, (2009).
55. Perminova, I.V. and Hatfield, K. Use of humic substances to remediate polluted environments: from Theory to Practice, Perminova, I.V.; Hatfield, K. and Hertkorn, N. Netherlands, (2005), p3.
56. Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, Vol. 75, (2002), p57–134.

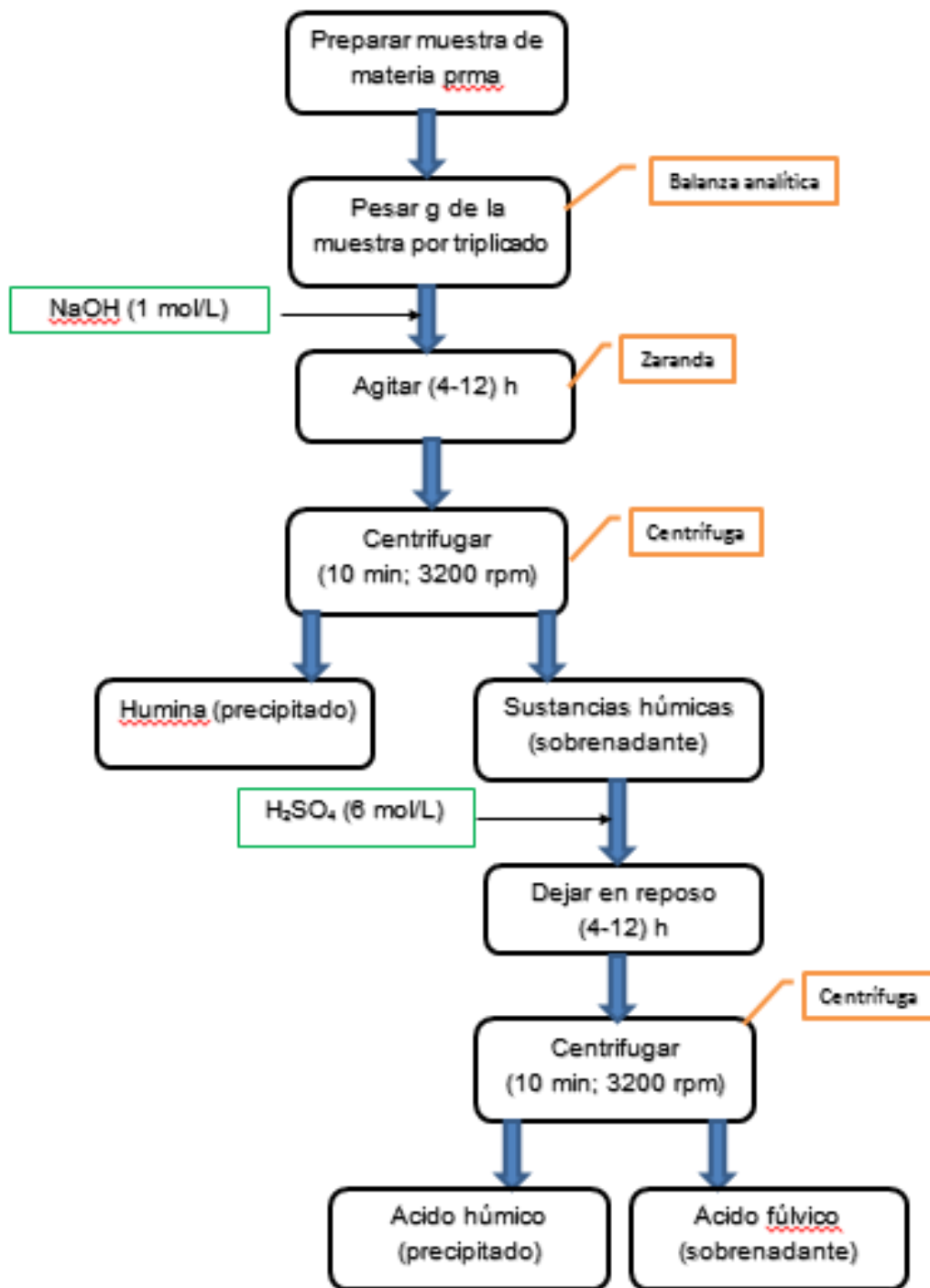
57. Plaza, C.; Senesi, N.; Polo, A.; Brunetti, G. Acid base properties of humic and fulvic acids formed during composting. *Environmental Science & Technology*, Vol. 39, (2005), p7141–7146.
58. Prado, A.G.S.; Pertusatti, J.; Nunes, A.R. Aspects of protonation and deprotonation of humic acid surface on molecular conformation, *J. Braz. Chem. Soc*, Vol. 22, No. 8, (2011), p1478–1483.
59. Quaggiotti, S.; Ruperti, B.; Pizzeghello, D.; Francioso, O.; Tugnoli, V.; Nardi, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot*, Vol. 55, (2004), p803–813.
60. Ramos, R. Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulantes. Efectos frente al estrés salino, Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias, Universidad de Alicante, (2000).
61. Ranganathan, L.S. Vermibiotechnology: From soil health to human health; Agrobios: Jodhpur, India, (2006).
62. Raposo, Juan C.; Villanueva, Unai; Olivares, Maitane; Madariaga, Juan M. Determination of humic substances in sediments by focused ultrasound extraction and ultraviolet visible spectroscopy. *Microchemical Journal*, Vol. 128, (2016), p 26–33.
63. Roba, Carmen A.; Jimenez, Cristina; Baciú, Calin; Beldean-Galea, Simion; Levei, Erika; Cordos, Emil. Assessment of different sorbents efficiency for solid phase extraction of aquatic humic acids. *Central European Journal of Chemistry*, Vol. 4, (2011), p598-604.
64. Rocha, J. C.; Rosa, A. E.; Furlan, M. An Alternative methodology for the extraction of humic substances from organic soils, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 9, (1998).
65. Rodda, M.R.C.; Canellas, L.P.; Façanha, A.R.; Zandonadi, D.B.; Guerra, J.G.M.; Almeida, D.L.; Santos, G.A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto: Il-efeito da fonte de vermicomposto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Vol. 30, (2006), p649–656.

66. Romarís-Hortas, Vanessa; Moreda Piñeiro, Antonio; Bermejo Barrera, Pilar. Application of microwave energy to speed up the alkaline extraction of humic and fulvic acids from marine sediments. *Analytica chimica*, Vol. 602, (2007), p 202-210.
67. Romera Pérez, María del Pilar. Importancia de la Materia Orgánica en La Agricultura Ecológica. In *Agricultura ecológica*, (2005).
68. Sachs, P. *Humus: Still a Mystery*, (2004).
69. Santi, L. P. Extraction and characterization of humic acid from plantation's solid organic waste composts', *Menara Perkebunan*, Vol. 68, (2000), p29-36.
70. Santiago, E. Optimización de la etapa de extracción de sustancias húmicas a partir del estiércol de ganado vacuno. *Universidad de Matanzas*, (2017)
71. Scaglia, Barbara; Baglieri, Andrea; Tambone, Fulvia; Mara, Gennari; Adani, Fabrizio. Chlorpyrifos-methyl solubilisation by humic acids used as bio-surfactants extracted from lignocelluloses and kitchen wastes. *Chemosphere*, Vol. 159, (2016), a.
72. Scaglia, Barbara; Rachide, Ramom ; Oliveira, Maria Olímpia; Tambone, Fulvia; Adani, Fabrizio. Investigating organic molecules responsible of auxin-like activity of humic acid fraction extracted from vermicompost. *Science of the Total Environment*. Vol. 562, (2016), p289–295 b.
73. Shen, Junjie; Gagliardi, Simona; McCoustra, Martin R.S.; Arrighi, Valeria. Effect of humic substances aggregation on the determination of fluoride in water using an ion selective electrode. *Chemosphere*, Vol. 159, (2016), p66-71.
74. Schnitzer, M. and Monreal, C.M. Quo vadis soil organic matter research a biological link to the chemistry of humification. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy* Vol. 113. Elsevier Academic Press Inc, San Diego, (2011), p139–213.
75. Siong, Sim; Seng, Lau; Chong, Wong Nan; Asing, Janice; Faizal, Muhammad; Satirawaty, Amira. Characterization of the coal derived humic

- acids from Mukah, Sarawak as soil conditioner. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol 17, no. 3. (2006). ISSN 1678-4790. São Paulo
76. Song, G.; Novotny, E.H.; Simpson, A.J.; Clapp, C.E.; Hayes, M.H.B. Sequential exhaustive extraction of a mollisol soil, and characterizations of humic components, including humin, by solid and solution state NMR. *Eur. J. Soil Sci*, Vol. 59, (2008), p505–516.
77. Song, G.X.; Hayes, M.H.B.; Novotny, E.H.; Simpson, A.J. Isolation and fractionation of soil humin using alkaline urea and dimethylsulphoxide plus sulphuric acid. *Naturwissenschaften*, Vol. 98, (2011), p7–13.
78. Stevenson, F.J. *Genesis, composition, reactions humus chemistry*. New York, Estados Unidos, Vol. 2, (1997).
79. Susic, Michael. Replenishing humic acids in agricultural soils. *Agronomy*, Vol. 6, (2016), p. 45.
80. Tadini, Amanda Maria; Nicolodelli, Gustavo; Mounier, Stephane; Montes, Célia Regina; Marcondes Bastos Pereira Milori, Débora. The importance of humin in soil characterisation: A study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. *Science of the Total Environment*, Vol. 537, (2015), p152–158.
81. Tan, K.H. *Humic Matter in Soil and the Environment: Principles and Controversies*. CRC Press, Boca Raton, (2014).
82. Tsuda, Kumiko; Kida, Morimaru; Aso, Suzuka; Kato, Taku; Fujitake, Nobuhide; Maruo, Masahiro; Hayakawa, Kazuhide; Hirota, Mitsuru. Determination of aquatic humic substances in Japanese lakes and wetlands by the carbon concentration-based resin isolation technique. *Limnology*, Vol. 17, (2016), p1–6.
83. Ueda, M. Extraction of groundwater humic substances and characterization by synthetic resin, Vol. 12, (2006), p31-39.
84. Weber, Jersy. *Definición de Materia Orgánica del Suelo*, (2004).
85. Wollina, U. Peat: a natural source for dermatocosmetics and dermatotherapeutics, *J. Cutan. Aesthet. Surg.* Vol. 2, No. 1, (2009), p17–20.

86. Yang, Zhen; Mengchan, Du; Jie, Jiang. Reducing capacities and redox potentials of humic substances extracted from sewage sludge. *Chemosphere*, Vol. 144, (2016), p902-908.
87. Zandonadi, D.B.; Canellas, L.P.; Façanha, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H⁺ pumps activation. *Planta* 225, (2007), p1583–1595.
88. Zanetti, M. Tratamiento de una Infección VIH con ácido húmico, Estados Unidos, (1994).
89. Zherebker, Ya.; Perminova, I. V.; Konstantinov, A. I.; Volikov, A. B., Kostyukevich Yu. I.; Kononikhin, A. S.; Nikolaev, E. N. Extraction of humic substances from fresh waters on solid-phase cartridges and their study by fourier transform Ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 71, No. 4, (2016), p372–378.
90. Zularisam, A.W.; Ismail, A.F.; Salim, M.R.; Sakinah, M.; Ozaki, H. The effects of natural organic matter fractions on fouling characteristics and flux recovery of ultrafiltration membranes. *Desalination*, Vol. 212, (2007), p191-208.

Anexo 1. Metodología de extracción de ácido húmico



ANEXO 2. Planificación del diseño experimental

# experimentos	S/L	Tiempo EB (h)	Tiempo EA (h)
1	1/10	2	8
2	1/10	8	8
3	1/15	12	12
4	1/10	14	8
5	1/5	4	12
6	1/15	4	4
7	1/5	12	12
8	1/10	8	14
9	1/4	8	8
10	1/5	4	4
11	1/15	12	4
12	1/20	8	8
13	1/5	12	4
14	1/10	8	8
15	1/15	4	12
16	1/10	8	2

Anexo 3. Resultados estadísticos para la fracción de SHs

Tabla ANOVA

EFFECTO	SC	GL	CM	FISHER	PROBABILIDAD
A: S/L	0,1411	1	0,1411	744,20	0,0000
B: Tiempo EB	0,0016	1	0,0016	8,70	0,0145
AA	0,0137	1	0,0137	72,56	0,0000
AB	0,0091	1	0,0009	4,83	0,0526
BB	0,0016	1	0,0016	8,89	0,0138
Total	0,0018	10	0,0001		

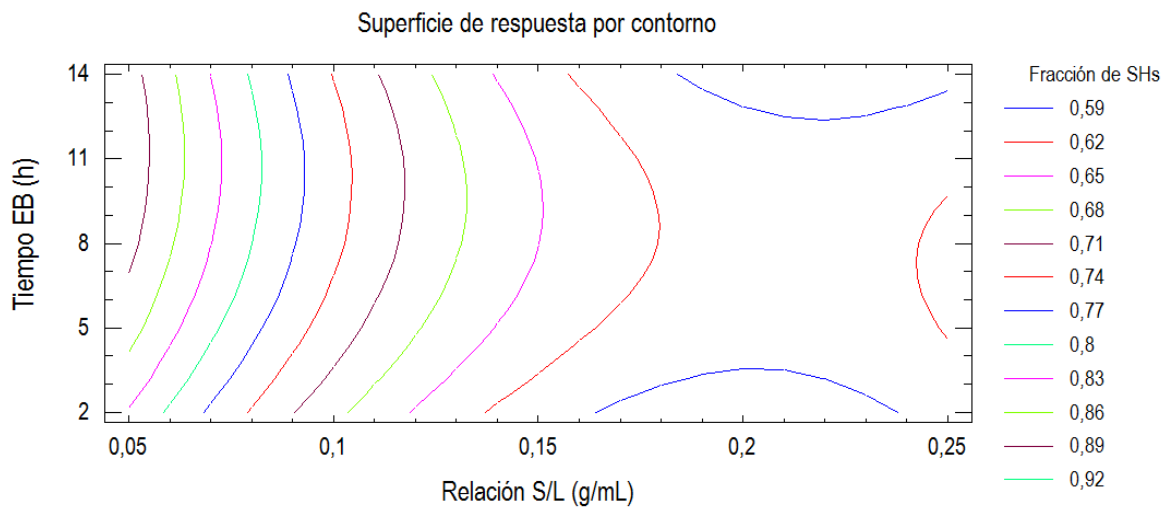
SC: SUMA DE CUADRADOS

GL: GRADO DE LIBERTAD

CM: CUADRADO MEDIO

FISHER: ESTADÍGRAFO FISHER

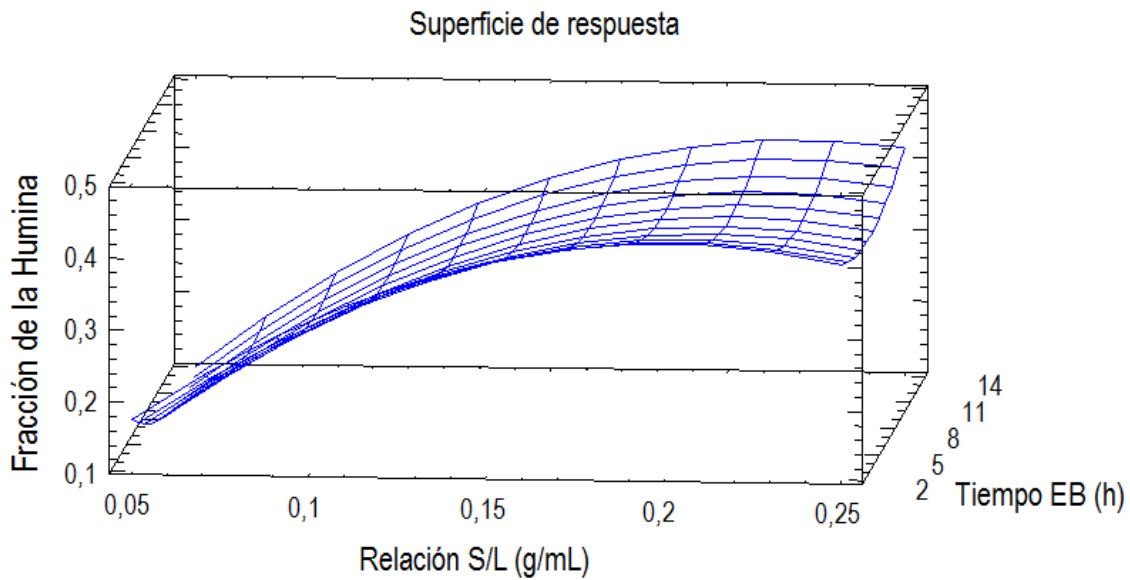
PROB: VALOR DE LA PROBABILIDAD



Anexo 4. Resultados estadísticos para la fracción de Humina

Tabla ANOVA

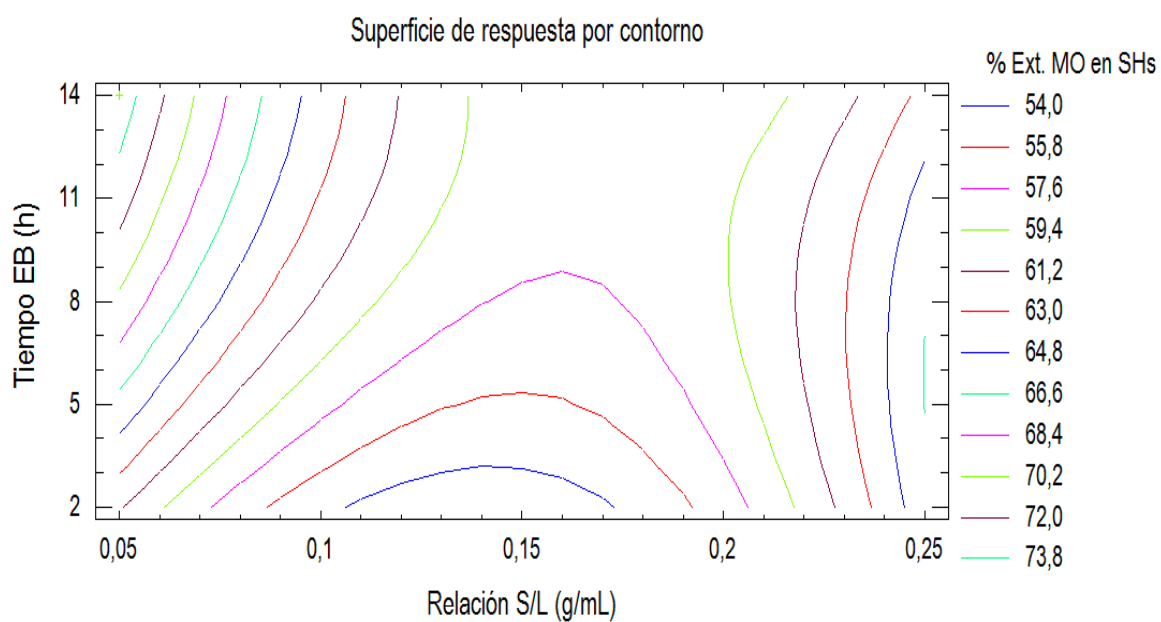
EFFECTO	SC	GL	CM	FISHER	PROBABILIDAD
A: S/L	0,1411	1	0,1411	744,20	0,0000
B: Tiempo EB	0,0016	1	0,0016	8,70	0,0145
AA	0,0137	1	0,0137	72,56	0,0000
AB	0,0091	1	0,0009	4,83	0,0526
BB	0,0016	1	0,0016	8,89	0,0138
Total	0,0018	10	0,0001		



Anexo 5. Resultados estadísticos para el % de extracción de MO en las SHs

Tabla ANOVA

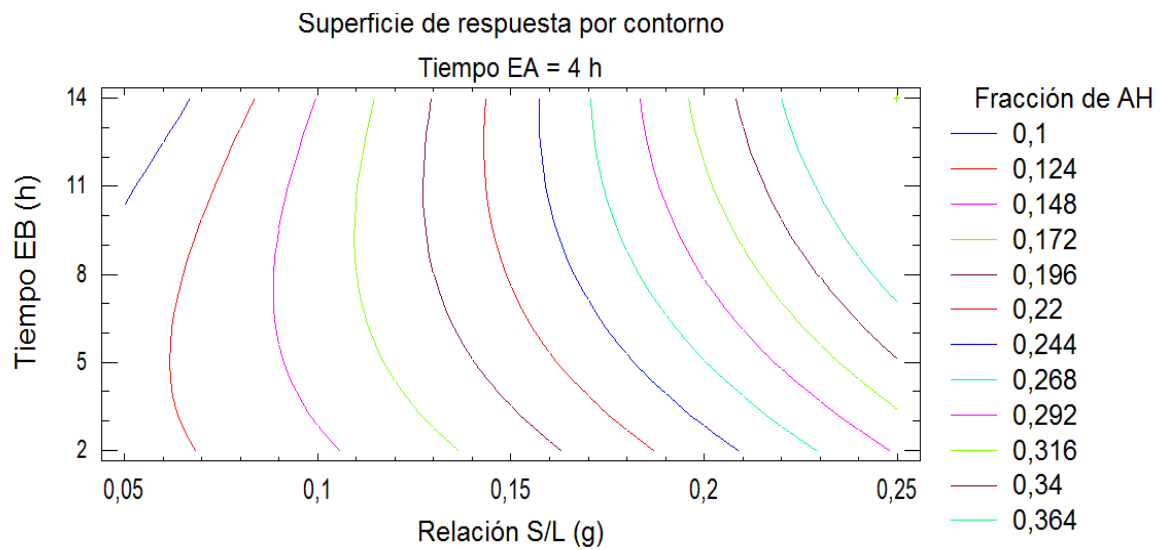
EFECTO	SC	GL	CM	FISHER	PROBABILIDAD
A: S/L	138,1610	1	138,1610	51,50	0,0000
B: Tiempo EB	62,0534	1	62,0534	23,13	0,0005
AA	151,4530	1	151,4530	56,46	0,0000
AB	27,3451	1	27,3451	10,19	0,0086
Total	29,5088	11	2,6826		



Anexo 6. Resultados estadísticos para la fracción de ácido húmico

Tabla ANOVA

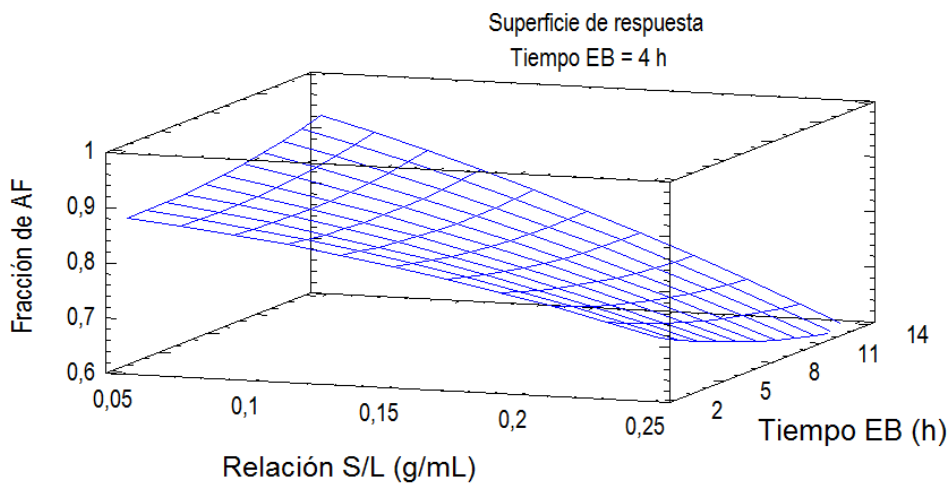
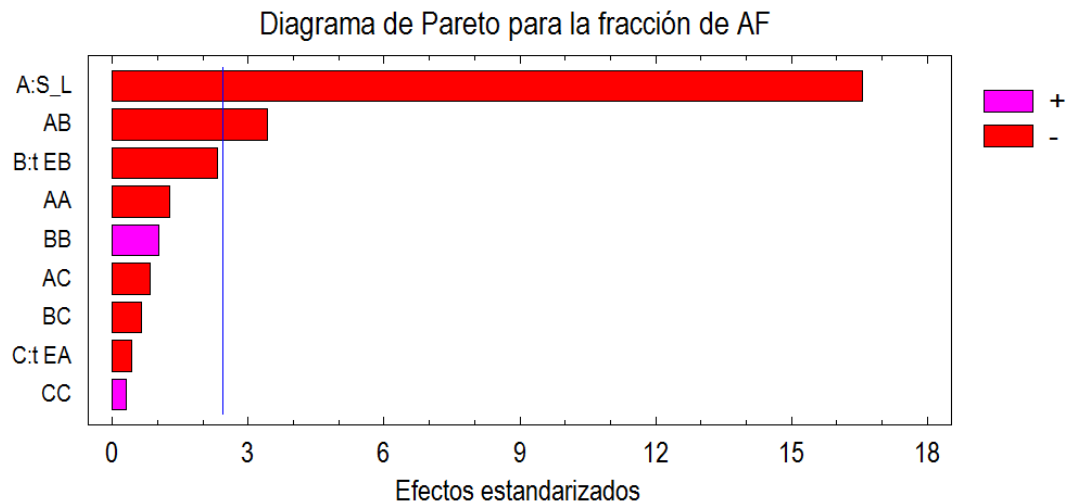
EFECTO	SC	GL	CM	FISHER	PROBABILIDAD
A: S/L	0,07308	1	0,07308	274,57	0,0000
B: Tiempo EB	0,00144	1	0,00144	5,43	0,0587
C: Tiempo EA	0,00004	1	0,00004	0,18	0,6822
AA	0,00042	1	0,00042	1,59	0,2548
AB	0,00310	1	0,00310	11,67	0,0142
AC	0,00018	1	0,00018	0,70	0,4360
BB	0,00028	1	0,00028	1,07	0,3419
BC	0,00011	1	0,00011	0,42	0,5397
CC	0,00002	1	0,00002	0,09	0,7707
Total	0,00159	6	0,00026		



Anexo 7. Resultados estadísticos para la fracción de ácido fúlvico

Tabla ANOVA

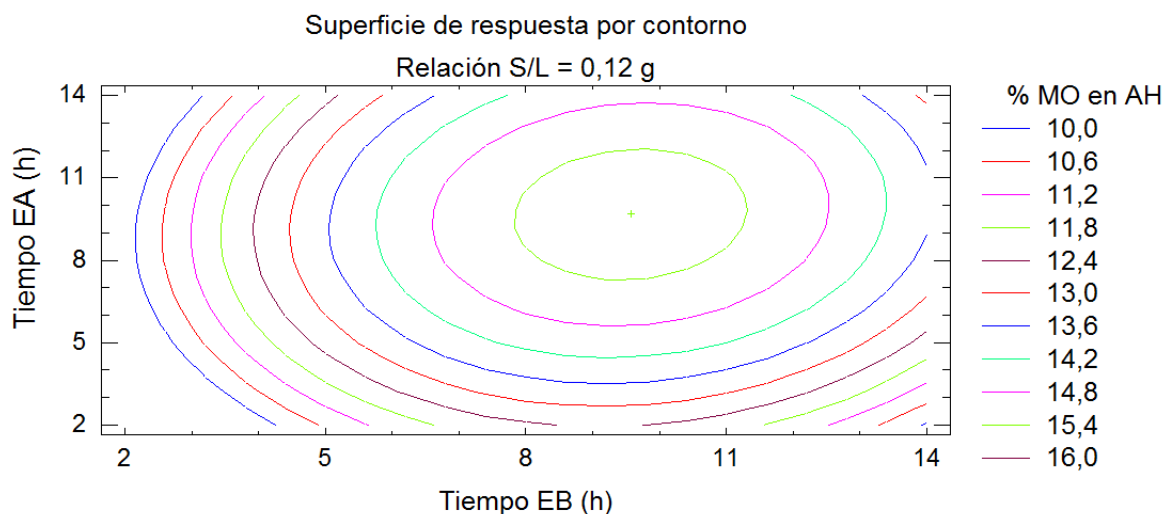
EFECTO	SC	GL	CM	FISHER	PROBABILIDAD
A: S/L	0,07308	1	0,07308	274,57	0,0000
B: Tiempo EB	0,00144	1	0,00144	5,48	0,0587
C: Tiempo EA	0,00004	1	0,00004	0,18	0,6822
AA	0,00042	1	0,00042	1,59	0,2548
AB	0,00310	1	0,00310	11,67	0,0142
BC	0,00018	1	0,00018	0,70	0,4360
BB	0,00028	1	0,00028	1,07	0,3419
BC	0,00011	1	0,00011	0,42	0,5397
CC	0,00002	1	0,00002	0,09	0,7707
Total	0,00159	6	0,00026		



Anexo 8. Resultados estadísticos para el % de extracción de MO en el ácido húmico

Tabla ANOVA

EFEECTO	SC	GL	CM	FISHER	PROBABILIDAD
A: S/L	2,34	1	2,34	2,07	0,200
B: Tiempo EB	19,33	1	19,33	17,00	0,006
C: Tiempo EA	6,62	1	6,62	5,83	0,052
AA	2,15	1	2,15	1,89	0,218
AB	0,41	1	0,41	0,37	0,567
AC	1,30	1	1,30	1,15	0,325
BB	19,96	1	19,96	17,55	0,005
BC	0,35	1	0,35	0,31	0,595
CC	5,72	1	5,72	5,03	0,661
Total	1,13	6	1,13		



Anexo 9. Resultados experimentales

Experimento	Cachaza Base seca, kg	NaOH, L	H2SO4, L	H2O en EB, L	H2O Adicional, L	H2O en EA, L	SHs, kg	H, g	AF, kg	AH, kg
1	0,0300	0,3000	0,0153	171,8735	0,0943	7,3438	0,2280	0,0950	0,0338	0,2096
2	0,0300	0,3000	0,0417	182,3146	0,0943	21,2313	0,2435	0,0819	0,0455	0,2398
3	0,0300	0,4500	0,0408	405,2246	0,1693	30,7811	0,4035	0,0752	0,0430	0,4014
4	0,0300	0,3000	0,0282	235,7648	0,0943	18,5672	0,2433	0,0796	0,0457	0,2258
5	0,0600	0,3000	0,0417	131,3427	0,0386	15,2954	0,2076	0,1491	0,0631	0,1861
6	0,0300	0,4500	0,0360	134,1211	0,1693	8,9893	0,3829	0,0998	0,0556	0,3632
7	0,0600	0,3000	0,0224	156,7211	0,0386	9,8038	0,2112	0,1456	0,0741	0,1595
8	0,0300	0,3000	0,0263	248,2535	0,0943	18,2335	0,2414	0,0804	0,0434	0,2242
9	0,0600	0,2400	0,0184	83,1975	0,0086	5,3439	0,1856	0,1024	0,0797	0,1242
10	0,0600	0,3000	0,0229	87,2960	0,0386	5,5828	0,2083	0,1474	0,0570	0,1742
11	0,0300	0,4500	0,0436	274,3768	0,1693	22,2517	0,4032	0,0742	0,0453	0,4014
12	0,0200	0,3000	0,0370	208,2287	0,1629	21,5160	0,3695	0,0384	0,0398	0,3667
13	0,0600	0,3000	0,0143	125,6123	0,0386	5,0163	0,2107	0,1465	0,0660	0,1591
14	0,0300	0,3000	0,0426	182,9179	0,0943	21,7613	0,2414	0,0814	0,0453	0,2387
15	0,0300	0,4500	0,0332	226,8375	0,1693	14,0211	0,3884	0,1037	0,0548	0,3667
16	0,0300	0,3000	0,0287	127,1171	0,0943	10,1884	0,2396	0,0801	0,0457	0,2227

Anexo 10. Resultados de los consumos de materias primas y materiales auxiliares y flujos de los productos, para 1 tonelada de AH mensual

Alternativa	MP (kg/h)	NaOH (kg/h)	H2SO4 (kg/h)	H2O (kg/h)	AF (kg/h)	AH (kg/h)
1	17,27	6,91	2,57	179,31	120,69	19,44
2	18,32	7,33	7,44	203,64	146,43	27,78
3	27,15	16,29	10,78	436,17	363,30	38,89
4	23,69	9,48	6,50	254,43	178,33	36,11
5	26,40	5,28	5,36	146,68	81,88	27,78
6	8,99	5,39	3,15	143,28	108,80	16,67
7	31,50	6,30	3,43	166,56	83,75	38,89
8	24,95	9,98	6,39	266,58	186,49	36,11
9	20,90	3,34	1,87	88,55	43,28	27,78
10	17,55	3,51	1,96	92,92	50,96	16,67
11	18,38	11,03	7,79	296,80	245,99	27,78
12	13,95	8,37	7,54	229,91	255,78	27,78
13	25,25	5,05	1,76	130,67	66,93	27,78
14	18,38	7,35	7,62	204,77	146,30	27,78
15	15,20	9,12	4,91	241,03	185,79	27,78
16	12,78	5,11	3,57	137,40	94,82	19,44