

Universidad de Matanzas
Sede "Camilo Cienfuegos"
Facultad de Ciencias Técnicas
Departamento de Química



Trabajo de diploma presentado en opción al título de Ingeniero Químico

*TÍTULO: "Selección de una alternativa de almacenamiento de la cachaza
para obtener ácido húmico"*

Autor:

Anaeli Madero Calderín

Tutores:

MSc. Irina Pedroso Rodríguez

Ing. Daríel Medina Rodríguez

Matanzas, Cuba 2019

Declaración de autoridad

Yo, Anaeli Madero Calderín, me declaro como única autora de este trabajo realizado en la Universidad de Matanzas, como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Químico y autorizo que el mismo sea utilizado por la mencionada Institución como material de consulta. Para que así conste, debajo firma:

Anaeli Madero Calderín

Nota de aceptación

Presidente del tribunal:

Firma:

Miembro del tribunal:

Firma:

Miembro del tribunal:

Firma:

“La magnitud de lo que logremos no depende de lo que tengamos, sino de las intenciones de lo que sepamos hacer con lo que tenemos”

Ché



Dedicatoria

*Esta tesis se la dedico enteramente a mi mamá
por ser mi faro, mi guía, por siempre alentarme a
seguir en la vida y por darme ánimo cuando más lo necesité.*

*A la mejor madre que
toda hija quisiera tener, por estar siempre incondicionalmente
y nunca fallarme, a ti mamá muchas gracias.*

*A los dos mejores segundos padres del mundo
mima y tata, por guiarme en el camino correcto, por estar al pie del cañón en estos
cinco años, por quererme como una hija más y por siempre enseñarme
que todo en la vida es posible.*

A estas tres personitas en mi vida gracias por existir.

Agradecimientos

- ✓ *A mi mamá por ayudarme siempre, nunca defraudarme, estar conmigo en las buenas y en las malas y siempre agradecerle por la persona que me he convertido hoy.*
- ✓ *A mima y tata por ser los mejores abuelos que se pudieran pedir, por darme ánimo en la vida, protegerme y lograr mis sueños de convertirme en una profesional.*
- ✓ *A mi papá por estar siempre pendiente de mis estudios, por darme consejos y guiarme para convertirme en una profesional.*
- ✓ *A mi novio Brian Carlos, por estar a mi lado en todo momento, por darme fuerzas cuando casi me vencía el sueño en las madrugadas de experimentos y por siempre estar ahí para mí.*
- ✓ *A mi tutora Irina, por estar de forma incondicional, tener paciencia, preocuparse de que todo estuviera de la forma correcta y por nunca decirme que no.*
- ✓ *A mis compañeros de aula por pasar estos cinco años maravillosos juntos y por conocer a personas que jamás olvidaré.*
- ✓ *A mis profesores de la facultad por formar parte de mi formación profesional.*
- ✓ *A la Revolución por permitirme estudiar esta hermosa carrera.*
- ✓ *A la vida por esta gran oportunidad de convertirme en una profesional.*

MUCHAS GRACIAS.

Resumen

El uso indiscriminado de fertilizantes químicos ha provocado efectos negativos en el suelo, así como en la contaminación de alimentos destinados a la población. Los fertilizantes orgánicos juegan un rol importante, en la mitigación de este serio problema ambiental. Las sustancias húmicas son un ejemplo de estos tipos de fertilizantes, donde el ácido húmico es el componente activo y se ha demostrado que la materia prima es condicionante en el proceso de extracción del mismo. El objetivo de este trabajo es seleccionar la alternativa de almacenamiento de la cachaza que garantice el mayor porcentaje de extracción de materia orgánica en el ácido húmico. Para ello se planifica un diseño experimental multifactorial. La etapa experimental se realiza durante ocho semanas con la cachaza bajo dos condiciones: techada e intemperie, y a su vez se aplican dos combinaciones de operaciones de extracción: sedimentación-centrifugación y filtración-centrifugación. Se selecciona como alternativa de extracción más factible técnica y económicamente: almacenar la cachaza bajo techo, más de 14 días y aplicar la combinación de operaciones de separación sedimentación-centrifugación, logrando un 89,9 % de extracción de materia orgánica en el ácido húmico y un beneficio bruto de 376,94 \$/kg. Se obtiene que el tiempo de almacenamiento influye significativamente e los contenidos de fósforo, potasio y magnesio del ácido húmico obtenido, elementos de vital importante para el efecto de la aplicación de este producto.

Abstract

The indiscriminate use of chemical fertilizers has caused negative effects in the soil, as well as in the contamination of foods destined to the population. Organic fertilizers play an important role in mitigating this serious environmental problem. Humic substances are an example of these types of fertilizers, where humic acid is the active component and it has been shown that the raw material is a determining factor in the extraction process. The objective of this work is to select the storage alternative for the filter cake that guarantees the highest percentage of extraction of organic matter in humic acid. For this, a multifactorial experimental design is planned. The experimental stage is carried out for eight weeks with the filter cake under two conditions: roofing and weathering, and in turn two combinations of extraction operations are applied: sedimentation-centrifugation and filtration-centrifugation. It is selected as the most technically and economically feasible extraction alternative: store the filter cake under roof for more than 14 days and apply the combination of sedimentation-centrifugation separation operations, achieving an 89,9 % extraction of organic matter in humic acid and a gross profit of 376,94 \$/kg. It is determinate that the storage time significantly influences the phosphorus, potassium and magnesium contents of the humic acid obtained, elements of vital importance for the effect of the application of this product.

Tabla de Contenido

Introducción	1
Capítulo I. Fundamentación teórica.	3
1.1. Sustancias húmicas.	3
1.1.1. Ácidos húmicos (AH).	5
1.1.2. Ácidos fúlvicos (AF).	5
1.1.3. Huminas (H).	6
1.2. Fuentes de ácidos húmicos.	6
1.3. Métodos de extracción de ácido húmico.	7
1.4. Usos del ácido húmico.	13
1.5. Proceso de maduración de fuentes de materia orgánica.	16
1.6. Operaciones de separación para la extracción de ácidos húmicos.	21
1.6.1. Filtración.	21
1.6.2. Sedimentación.	22
1.6.3 Centrifugación.	22
1.7. Conclusiones parciales del capítulo.	23
Capítulo 2: Materiales y métodos.	25
2.1. Diseño experimental.	25
2.2. Técnicas analíticas para la caracterización de la cachaza y el producto final.	27
2.3. Metodología para la extracción de ácido húmico.	29
2.4. Técnicas analíticas.	31
2.5. Evaluación económica.	31
Capítulo 3: Resultados y discusión.	33
3.1. Comportamiento de la caracterización de la cachaza.	33
3.2. Resultados de la extracción de AH.	38
3.3. Valoración económica.	48
3.4. Conclusiones parciales del capítulo.	52
Conclusiones.	53
Recomendaciones.	54
Bibliografía.	55

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 observan en la actualidad, por lo que existe una tendencia a disminuir el consumo de los mismos e incrementar la utilización de productos naturales. Dentro de este contexto, 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.

Las sustancias húmicas son macromoléculas de origen orgánico, que influyen en diferentes procesos, donde juegan un rol importante en el medio ambiente. Su principal uso es en la agricultura, por sus significativos aportes en el suelo y en el crecimiento de los cultivos (Gomes de Melo *et al.*, 2016). El ácido húmico es el componente activo de las sustancias húmicas, y existen diversos métodos de extracción.

Estudios realizados por Santiago (2017), Medina (2018) y Vázquez (2018) demuestran que el rendimiento del proceso de extracción de ácido húmico depende de la relación sólido - líquido, la cual a su vez se afecta por las características de la materia prima (contenido de humedad y de materia orgánica). Por otra parte, Berbara y García (2014)

plantean que las características de estos productos varían de acuerdo a la materia prima utilizada y el tiempo de transformación química y biológica de los residuos orgánicos. Además, Bettoni *et al.* (2016) expone que, dicha transformación o maduración de la materia orgánica, está definida por variables como aireación del medio, pH, temperatura, composición, entre otras. Esto conlleva al siguiente problema de investigación:

Problema:

¿Cuál es la alternativa de almacenamiento de la cachaza que permite el mayor porcentaje de extracción de materia orgánica en el ácido húmico?

Hipótesis:

Si se estudian diferentes condiciones de almacenamiento de la cachaza, se podrá seleccionar la alternativa que permite el mayor porcentaje de extracción de materia orgánica en el ácido húmico.

Objetivo general:

Seleccionar la alternativa de almacenamiento de la cachaza que garantice el mayor porcentaje de extracción de materia orgánica en el ácido húmico.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar la cachaza, teniendo en cuenta las diferentes condiciones de almacenamiento.
2. Caracterizar el ácido húmico obtenido para las diferentes alternativas.
3. Determinar las condiciones de almacenamiento de la materia prima (cachaza) que garanticen el mayor porcentaje de extracción de materia orgánica en el ácido húmico.
4. Seleccionar desde el punto técnico-económico la alternativa de extracción de ácido húmico más factible.

Capítulo 1. Fundamentación teórica

En este capítulo se abordan los conceptos teóricos relacionados con las sustancias húmicas, su origen, clasificación, en especial del ácido húmico, métodos de extracción y principales aplicaciones. Además, se abordan las temáticas de las operaciones de separación: sedimentación, filtración y centrifugación.

1.1. Sustancias húmicas.

Stevenson en 1994 define las sustancias húmicas como una serie de sustancias de un peso molecular relativamente grande, coloreadas desde amarillo hasta negro, formadas por reacciones de síntesis secundarias. Son el resultado de la degradación, oxidación y transformación de los restos orgánicos de plantas y animales (Guo *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2016), así como de otros materiales que contengan materia orgánica, tales como residuos urbanos, lodos y lignina (Wang *et al.*, 2016; Gong *et al.*, 2017; Lukyanov *et al.*, 2016).

Una definición formal establece que las sustancias húmicas generalmente se caracterizan por tener un color oscuro, de alto peso molecular (Guo *et al.*, 2016), sin embargo, Romaris-Horta *et al.*, (2007), plantean que pueden ser desde amarillo a negro, mientras Susic (2016), asegura que toman un color marrón, pardo y amarillo.

Las investigaciones sistemáticas de la naturaleza química de las sustancias húmicas se inician en la primera mitad del siglo XIX, por diferentes autores:

- 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. Así, a los ácidos húmicos poco solubles en álcali lo llama “carbón húmico”, que años después se le llama humina.
- Berzelius 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.

Calvo *et al.*, (2014) considera que las SHs son los productos orgánicos de biosíntesis, de mayor distribución en el planeta. También se puede decir que son los compuestos de mayor actividad química en los suelos con una capacidad de intercambio de cationes y aniones superior a las arcillas. Sin embargo, a pesar de ser componentes de larga duración en sistemas de suelos naturales, persistiendo por cientos y hasta miles de años, pueden ser destruidos en menos de 15 años realizando prácticas agronómicas (Shen *et al.*, 2016).

Las sustancias húmicas se dividen en tres grupos de acuerdo a su solubilidad: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humina. Los mismo difieren en su peso molecular, número de grupos funcionales y grado de polimerización (Raposo *et al.*, 2016). La Figura 1.1. muestra un resumen de las características de estas tres facciones.

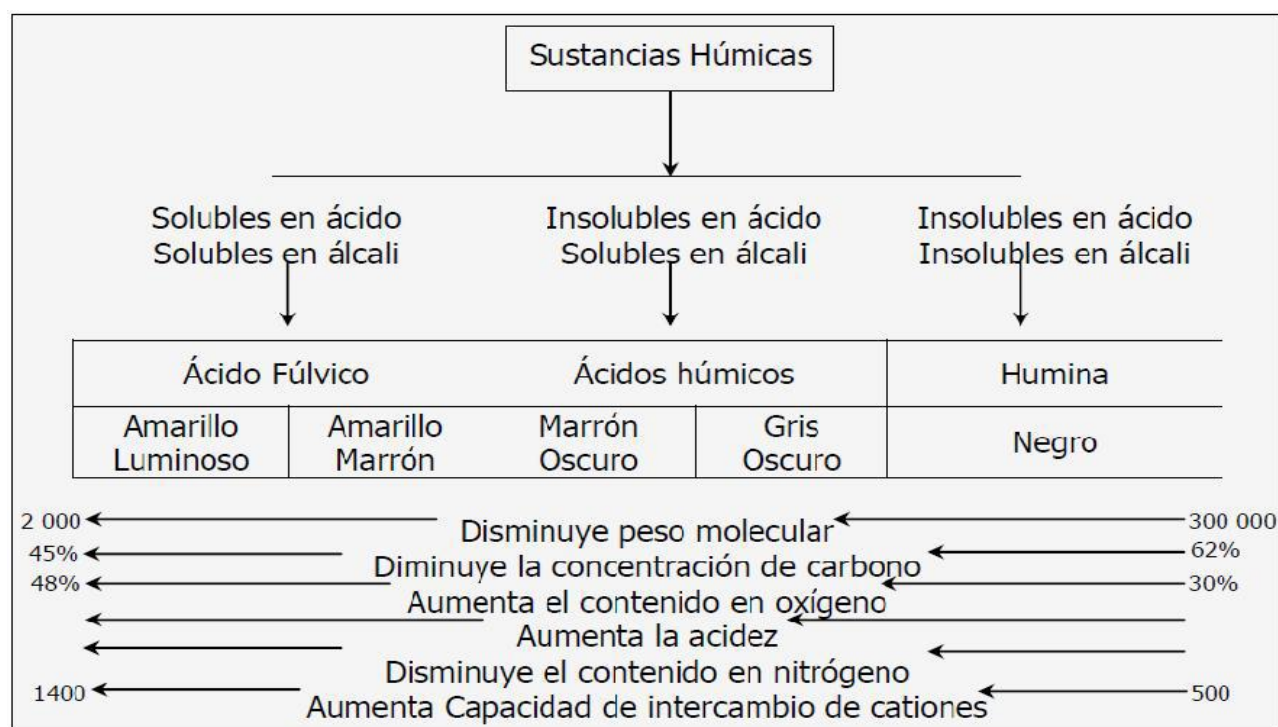


Figura 1.1. Fraccionamiento y propiedades de las sustancias húmicas (Ramos, 2004; Weber, 2004; Stevenson, 1994) citado por Santiago (2017).

1.1.1. Ácidos húmicos (AH).

Es la fracción no soluble en condiciones ácidas ($\text{pH} < 2$), pero solubles a valores superiores de pH. Raposo *et al.*, (2016) afirma que presentan pesos moleculares superiores, en los intervalos de 1500 – 5000 Da y 50,000 - 500,000 Da en corrientes y sedimentos respectivamente.

Kumar *et al.* (2016) plantea que los ácidos húmicos son el componente principal del humus y es omnipresente en los minerales, el suelo, los sedimentos y el agua.

Otra definición de estos compuestos es realizada por Santiago (2017), el cual plantea que son el grupo de sustancias que se extraen de materiales orgánicos por disolventes básicos (NaOH, KOH, NH_4OH , Na_2HCO_3 , $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, oxalato sódico, urea, y otros) y que, al acidificar con ácidos, se precipitan de las soluciones obtenidas en forma de un gel oscuro (Gomes de Melo *et al.*, 2016; Raposo *et al.*, 2016).

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 estos ácidos 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.

1.1.2. Ácidos fúlvicos (AF).

Es la fracción soluble bajo cualquier valor de pH. Contiene mayor cantidad de grupos funcionales, y su peso molecular varía en el rango desde 600 hasta 1000 Da para corrientes y un poco superior en suelos (1000 - 5000 Da) (Raposo *et al.*, 2016). Kumar *et al.*, (2016) plantea que los ácidos fúlvicos son solubles en ácidos y alcohol.

Estos compuestos se encuentran a menudo en las aguas coloridas de lagos, arroyos y acuíferos (Kulikowska *et al.*, 2015). Los ácidos fúlvicos del suelo contienen menos carbono y más oxígeno, lo que nos reporta un contenido similar de ambos (40-50%), además contienen más grupos funcionales que los ácidos húmicos, principalmente carboxílico (61,8-88,4%) y grupos hidroxilo (11,6-37,2%). 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 principalmente como portadores metálicos, debido a su menor peso molecular y mayor contenido de grupos funcionales (Rodríguez *et al.*, 2016; Zhrebker *et al.*, 2016; Kulikowska *et al.*, 2015).

1.1.3. Huminas (H).

Es la fracción insoluble en agua para cualquier valor de pH. Su peso molecular es considerablemente superior al del AH y el AF. Aunque existe escasa información sobre esta fracción en la literatura, con respecto a los AH y los AF, Tadini *et al.* (2015) demuestra que constituyen entre el 20 y el 50 % de las SHs del suelo.

Zhang *et al.* (2015) define la humina como la porción extraída que remueve los insolubles en una disolución bajo cualquier pH y en un proceso es tratado con el residuo de materia orgánica (MO).

Varios investigadores (Martins *et al.*, 2011; Ziegelgruber *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014, Tadini *et al.*, 2015) plantean que la humina presenta en su estructura enlaces fuertes de componentes orgánicos hidrofóbicos y biopolímeros como lignina y polisacáridos.

González (2017) clasifica las huminas en dos grupos, según su naturaleza:

- Huminas jóvenes: huminas microbianas, formadas por cuerpos microbianos y compuestos alifáticos (sacáridos, proteínas y aminoazúcares) derivados de ellos, y humina heredada, formada por constituyentes de membranas vegetales poco transformadas.
- Huminas evolucionadas: se llama así a la humina de insolubilización o neoformada, resulta de la evolución lenta de los ácidos húmicos que provoca la polimerización de los núcleos aromáticos y un descenso de la solubilidad frente a los reactivos de extracción.

1.2. Fuentes de ácidos húmicos.

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 (Domínguez, 2018; Medina, 2018; 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; Kumar *et al.*, 2016; Romera, 2004).
- Compost (Scaglia *et al.*, 2016 b; Ranganathan, 2006; Huang *et al.*, 2006; Plaza *et al.*, 2005; La Montagne, 2002; Santi, 2000).
- Turba (Saito, 2014; Sachs, 2004).
- Hoja de piña (Ahmed, 2002).
- Residuos de jardinería (Montoneri *et al.*, 2008)
- Residuos de la industria azucarera (Vázquez, 2018; Medina, 2018; Galba *et al.*, 2010).
- Sistemas acuáticos (De Olivera *et al.*, 2016; Tsuda *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2016).
- Leonardita (Fuentes *et al.*, 2016).
- Residuos de cocina (Scaglia *et al.*, 2016a).

En esta investigación se utiliza la cachaza como materia prima para la extracción de ácido húmico, pues estudios realizados por Galba *et al.* (2010) demuestran ser fuente rica y renovable de materia orgánica y esas características permiten que a partir de ella se obtengan sustancias promotoras del crecimiento vegetal, como son los ácidos húmicos y fúlvicos. Además, Vázquez (2018) extrajo una fracción de MO en las SHs igual a 0,91 a partir de este material.

1.3. Métodos de extracción de ácido húmico.

La extracción de ácido húmico se basa en la solubilidad de las sustancias húmicas y consta de dos etapas: primero, la separación de las sustancias húmicas del material orgánico al utilizar un extractante básico, y después el fraccionamiento de estas en AH y AF, a través de un extractante ácido. Existen una gran variedad de técnicas, que dependen del extractante (básico y ácido) y del material a utilizar.

Los extractantes básicos en dependencia de su agresividad se clasifican en tres grupos, según Susic (2016):

- Extractantes fuertes.

Es el procedimiento más utilizado para la extracción de sustancias húmicas de tipo comercial. Los más utilizados son el hidróxido de sodio (NaOH) (Medina, 2018; Domínguez, 2018; Vázquez, 2018; Santiago, 2017; Raposo *et al.*, 2016; Scaglia *et al.*, 2016a; IHSS, 2008) y el hidróxido de potasio (KOH) (Lukyanov *et al.*, 2016; Pérez, 2009; IHSS, 2008). La mayor ventaja de este método es el alto por ciento de extracción que se obtiene siendo de 80 %, debido a esto es el más utilizado en la industria (Ramos, 2000; Stenvenson, 1994 citado por Santiago (2017)).

Varios autores (Ramos, 2000; Stevenson, 1994) citados por Santana (2017) y Medina (2018) plantean que, aunque es la más efectiva de las extracciones, presenta algunas desventajas de consideración:

- Disuelven fracciones minerales (arcillas) que contaminan la materia orgánica.
- Disuelven componentes estructurales y protoplasmáticos de la biomasa y tejidos frescos que se mezclan con la materia humificada.
- Se producen autooxidaciones de algunos constituyentes orgánicos al contacto con el aire.
- Se producen condensaciones entre aminoácidos y grupos carbonilo de aldehídos aromáticos o quinonas para formar compuestos tipo húmico.

Melo (2006) citado por Medina (2018) considera que el empleo de extractantes fuertes presenta diversos inconvenientes como son la disolución de diversos materiales, tales como la sílica del material mineral y los componentes estructurales y protoplasmáticos de los tejidos orgánicos frescos, lo que contamina la fracción que se encuentra en solución acuosa. Además, pueden provocar cambios químicos entre aminoácidos y aldehídos. Por ello, diversos autores (Gong *et al.*, 2017; Aguilar *et al.*, 2015; Pedroso y Domínguez, 2006) proponen el empleo de atmósferas inertes o de dinitrógeno (N₂), con el objetivo de minimizar los cambios debidos a los procesos de autooxidación, que puede

producirse al contacto con el dióxígeno (O_2) del aire. Con el objetivo de minimizar las modificaciones de los materiales húmicos esta extracción debe ocurrir a pH mayor que 7.

- Extractantes medios.

Estos extractantes producen mínimas alteraciones en la materia orgánica, los más utilizados son el pirofosfato de sodio ($Na_4P_2O_7$), el oxalato amónico y algunas otras sales neutras. De todos ellos, sin duda, el más utilizado es el pirofosfato sódico, que, aunque muestra una efectividad extractiva de tan sólo un 30%, produce mínimas alteraciones en la materia orgánica. En algunos casos se emplean junto a productos alcalinos para aumentar su efectividad (Fuentes *et al.*, 2016 citado por Santana, 2017; Asing *et al.*, 2009), así Pérez (2009) cita a García *et al.* (1993b) que demuestra que la mezcla 0,1N NaOH/ $Na_4P_2O_7$ es la más efectiva en la extracción de sustancias húmicas de ciertos tipos de turbas.

En investigaciones publicadas por Journal Brazilian Societ citado por Pérez (2009), han concluido que las sustancias húmicas extraídas con pirofosfato de sodio tienen un mayor peso molecular que las sustancias húmicas obtenidas por extracción con hidróxido de sodio.

- Extractantes suaves.

Como alternativa a la agresividad de los extractantes alcalinos, se utilizan algunos procedimientos más suaves. Entre otros agentes complejantes como ácido etiléndeaminotetracético (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 (Santana, 2017).

Otra de las sustancias empleadas es el ácido fórmico (HCOOH), con la cual 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 aquellos materiales donde la mayoría de las sustancias orgánicas están parcialmente humificadas (Ramos, 2000 citado por Santana, 2017).

En la Tabla 1.1. se muestra un resumen de los tipos de extractantes más utilizados para la extracción de ácido húmico.

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 (Santiago, 2017; IHSS, 2008; Raposo *et al.*, 2016; Lukyanov *et al.*, 2016; Fuentes *et al.*, 2016) y H₂SO₄ (Domínguez, 2018; Medina, 2018; Vázquez, 2018; Tsuda *et al.*, 2016; Saito *et al.*, 2014; Pérez, 2009).

Tabla 1.1. Extractantes utilizados para la extracción de ácido húmico.

Extractante		Fundamentos	Referencias
Fuertes	NaOH	Es el procedimiento más utilizado para la extracción de sustancias húmicas de tipo comercial, por su alto porcentaje de extracción (80 %).	Domínguez, 2018; Medina, 2018, Vázquez, 2018; Santana, 2017; Raposo <i>et al.</i> , 2016; Scaglia <i>et al.</i> , 2016 a y b; 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, 2009
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; Pedroso, 2007
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.	Scaglia <i>et al.</i> , 2016 a y b

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.	Hemati <i>et al.</i> , 2012
-----------------------	---	-----------------------------

1.4. Usos del ácido húmico.

El principal uso del ácido húmico es en la agricultura, entre las que se destacan (Santiago, 2017):

- Permiten el desarrollo de las plantas.
- Reducen el estrés hídrico de las plantas.
- Su color oscuro contribuye a que el suelo retenga calor, con lo cual se beneficia la germinación de semillas.
- Ellas interactúan con el metabolismo celular de las plantas, lo cual facilita la absorción de nutrientes y la actividad enzimática.
- Modifican la estructura física del suelo, estimula la actividad microbiana y promueve la solubilidad de complejos.

Saito *et al.*, 2014 menciona algunos efectos de las SHs en diversos cultivos: cebada, uva, cereales, avena, maíz, tomate, frijol, entre otras.

Las diferencias entre ácidos húmicos y fúlvicos desde el punto de vista de su 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. También, se utiliza el ácido húmico como tratamiento contra la erosión de los suelos por sus propiedades de absorción y retención de agua (Calvo *et al.*, 2014; Romera, 2005).

Santiago (2017) cita algunos ejemplos mostrados por Pérez, (2009) de aplicación de los ácidos húmicos en diferentes industrias:

- 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: pueden 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 geológico 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.

Varios autores han aplicado los ácidos húmicos en la industria farmacéutica y de cosméticos, citando a continuación algunos ejemplos:

- Son utilizados para la protección solar, anti-envejecimiento y cuidado de la piel, sin embargo, (Klocking *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 µg/mL fueron capaces de proteger las células U 937 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 dimetilsulfoxido (DMSO).
- Dhanapal and Sekar, (2014) y Aeschbacher *et al.*, (2012) sugieren el uso de derivados de AHs 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.
- Khanna *et al.*, (2010) y Ghosal (2003) desarrollan 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 son adecuados para uso tópico u oral.

En relación con sus aplicaciones en la agricultura y el tratamiento de la contaminación, hay pocas discusiones sobre el uso de las sustancias húmicas (SHs) en beneficio de los seres humanos. A continuación, se citan algunos ejemplos:

- Tratamientos terapéuticos: algunos productos médicos con contenidos de ácidos húmicos son utilizados en atletas para mejorar su desempeño mental y físico (Pérez, 2009).

- Se aplican estos compuestos como ingredientes en medicamentos para erradicar deficiencias de macro y micro-elementos típica de una alimentación deficiente (Pérez, 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 (Gomes de Melo *et al.*, 2016; Endo *et al.*, 2014).
- 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 (Gomes de Melo *et al.*, 2016).
- Los ácidos húmicos se utilizan como componentes de productos antiinflamatorios (Gomes de Melo *et al.*, 2016).
- La actividad antiviral de ácidos húmicos 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) pueden inhibir la replicación del virus uniendo dominios catiónicos de este, que son necesarios para la fijación del virus a la superficie celular.

1.5. Proceso de maduración de fuentes de materia orgánica.

Estudios realizados por Santiago (2017), Domínguez (2018) y Vázquez (2018) demuestran que el rendimiento del proceso de obtención de ácido húmico depende de la relación sólido - líquido, la cual a su vez se afecta por las características de la materia prima (contenido de humedad y de materia orgánica). Por otra parte, Berbara y García (2014) plantean que las características de los ácidos húmicos y fúlvicos varían de acuerdo a la materia prima utilizada y el tiempo de transformación. Por ello, es de vital importancia estudiar las condiciones de la fuente orgánica que propicie un mejor rendimiento en el proceso de extracción.

González (2017) plantea que es necesario definir el sistema de preparación de la materia prima, el cual se clasifica en tres tipos:

- Sistema abierto: la forma de almacenamiento del material es muy variado (pilas, mesetas y zanjas), así como los sistemas de manipulación de este.
- Sistema semi-cerrado: en este sistema la materia prima se almacena dentro de una nave cubierta y cerrada.
- Sistema cerrado: la materia prima no se almacena en contacto con el exterior, sino en espacios totalmente cerrados, donde la acción de los microorganismos juega un rol fundamental.

En esta etapa de preparación de la materia prima, las variables: temperatura, humedad, pH y composición, se registran con un mínimo impacto medioambiental.

González (2017) y Pérez-Espinosa *et al.* (2016) clasifica los métodos para evaluar el grado de maduración del material orgánico en cinco tipos fundamentales:

1. Parámetros sensoriales de la madurez:

1.a) Temperatura: es el reflejo de la actividad metabólica de los microorganismos.

1.b) Color: durante el proceso de maduración, el material va oscureciendo llegando a un color pardo oscuro, debido a la formación de grupos cromóforos y a la síntesis de melanoidinas.

1.c) Olor: los materiales frescos desprenden compuestos como amónicos, aminas y en general ácidos orgánicos, que producen malos olores. El olor desagradable producido por estos compuestos desaparece con la maduración del producto.

2. Evolución de parámetros de la biomasa microbiana: determinan el grado de estabilidad biológica del material, a través de tres métodos:

2.a) Respiración: se emplea el estudio de la respiración del material (absorción de oxígeno o desprendimiento de anhídrido carbónico). Es la técnica más factible puede ser considerada como indicador de madurez para todo tipo de

residuo. Se considera un material maduro cuando no consume más de 40 kg de materia seca en una hora, tras tres días.

2.b) Parámetros bioquímicos de la actividad microbiana: están basados en la identificación de la microflora específica y en el estudio de enzimas indicadores de la actividad celular en cada fase.

2.c) Análisis de constituyentes fácilmente biodegradables: indican que el parámetro que caracteriza en mayor medida el estado de maduración es la relación entre el carbono orgánico total y el porcentaje de carbohidratos solubles en agua caliente.

3. Estudio de la materia orgánica humificada: estudios deducen que la naturaleza de los compuestos húmicos extraídos del material orgánico se corresponde, en parte, con el mismo tipo de compuestos sintetizados en las fases iniciales de humificación.

3.a) Carbono total extraíble asociado a las sustancias húmicas: numerosos autores han propuesto la riqueza total en C húmico como índice de madurez dado que en residuos agrícolas y estiércoles normalmente se observa un incremento en la riqueza de C húmico. Por lo tanto, el porcentaje de C húmico total no puede considerarse como un índice adecuado de humificación de materia orgánica.

3.b) Índices de evolución de la materia orgánica: Para conocer la calidad de las sustancias húmicas se estudió diversos índices de humificación:

- Relación de humificación: $(RH) = C_{ex} / C_{OT} * 100$

- Índice de humificación $(IH) = C_{ab} / C_{OT} * 100$

- Porcentaje de ácidos húmicos $(P_{ab}) = C_{ab} / C_{ex} * 100$

- Relación de polimerización $= C_{ab} / C_{af}$

En la tabla 1.2. se muestran los valores indicativos de evolución de la materia orgánica.

Tabla 1.2. Valores indicativos de evolución de la materia orgánica.

Índice	Valor
Relación de humificación	>7
Índice de humificación	>3,5
Porcentaje de ácidos húmicos	>50
Relación de polimerización	>1

4. Indicadores químicos de la madurez:

4.a) Ratio C/N fase sólida: es el criterio utilizado tradicionalmente para establecer el grado de madurez del material orgánico y definir su calidad agronómica, siendo necesario un valor cercano a 30 en el material inicial y menor de 20 como indicativa de un aceptable nivel de madurez.

4.b) Ratio C/N fase acuosa: mediante el estudio de los cambios bioquímicos a lo largo del proceso de almacenaje en extractos de agua es posible deducir el estado de maduración del material. Disminuye paulatinamente desde valores entre 30-40 hasta 5-6, y diversos autores proponen este parámetro como indicador absoluto de madurez.

4.c) Carbono orgánico soluble en agua (Cw): numerosos autores han propuesto, como alternativa a la reacción C/N tanto en fase sólida como acuosa, la determinación del Cw como simple índice de madurez, ya que siempre se observa un descenso paulatino durante el proceso de almacenaje, hasta una práctica esterilización. Sin embargo, los valores límites propuestos varían considerablemente, dependiendo del material inicial.

4.d) Ratio $N-NH_4^+/N-NO_3^-$: está relacionado con el concepto de madurez en términos de nitrificación y cuando en el proceso de almacenamiento aparecen cantidades apreciables de nitratos y/o nitritos se puede considerar que el material está suficientemente maduro, ya que durante la fase termófila la nitrificación está prácticamente inhibida.

4.e) Presencia de compuestos reductores: la presencia de compuestos tipo amoníaco o sulfhídrico, característicos de un potencial redox inadecuado, es indicativa, al igual que el pH ácido, de procesos anaerobios y muestran que los residuos se encuentran aún en período de intensa descomposición. Por lo que la presencia de estos compuestos indica inmadurez del material.

5. Métodos biológicos: son los ensayos más fiables, ya que ponen de manifiesto la presencia de productos fitosanitarios que no son detectados por los métodos anteriores. Los más utilizados son:

5.a) Métodos de germinación: utilizan semillas de *Lepidium sativum* y que calcula un índice de germinación que combina el porcentaje de germinación y la longitud media de las raíces.

5.b) Método de crecimiento: evalúa el efecto de los materiales sobre distintos vegetales, siendo los más utilizados el maíz y la cebada.

En función de estos métodos, se puede tener la idea del grado de dificultad que supone la determinación del índice de madurez universal y extrapolable a todos los materiales orgánicos. La elección de uno u otro será en función del tipo de residuo a evaluar y de las condiciones económicas en las que se vaya a realizar el estudio. Sin embargo, en cualquier metodología utilizada ha de seguir unas pautas que garanticen su adecuación para la evaluación del grado de madurez del material, como son:

- Estar basados en la evaluación de parámetros determinables por técnicas analíticas objetivas, sencillas, rápidas y reproducibles.

- No ha de verse afectada su reproducibilidad por manipulaciones y preparaciones previas.

En general la calidad del producto dependerá principalmente de los materiales de origen y de las condiciones de temperatura, humedad y aireación que existan durante el proceso de almacenamiento.

1.6. Operaciones de separación para la extracción de ácidos húmicos.

Las principales operaciones que se aplican en el proceso de extracción de ácido húmico son: filtración, sedimentación y centrifugación.

1.6.1. Filtración.

Diversos autores (Martín *et al.*, 2011; Perry y Green, 2008; Rosabal y Valle, 1998; McCabe *et al.*, 1991). Coinciden que la filtración es la separación de una mezcla de sólidos y fluidos que implica el paso de gran parte del fluido a través de un medio poroso, el cual retiene la mayor parte de las partículas sólidas de la mezcla. Los filtros se pueden clasificar de acuerdo con los criterios que se describen a continuación:

- Ciclo operacional: pueden ser intermitentes o continuos (Perry y Green, 2008; Rosabal y Valle, 1998).
- Por la función: el objetivo de la operación de filtración puede ser la obtención de sólidos secos, líquidos clarificados o ambos casos (Perry y Green, 2008).
- Fuerza impulsora: la separación de los sólidos contenidos en un fluido se lleva a cabo mediante una fuerza impulsora, de acuerdo con Brown (1969) se clasifican en: filtros por gravedad, filtros a presión (o vacío) y filtros centrífugos.
- Medio filtrante: el medio filtrante es la barrera que permite el paso del líquido mientras retiene la mayor parte de los sólidos.

Para la separación de SHs en sistemas acuáticos a escala de laboratorio se ha utilizado la filtración, donde las más utilizadas han sido la ultrafiltración (Weng *et al.*, 2012; Zavarzina *et al.*, 2002;) y la nanofiltración (Wang *et al.*, 2016).

Medina (2018) demuestra que, en la etapa de fraccionamiento de las sustancias húmicas, es decir, en la extracción ácida, no es posible aplicar la filtración para separar los ácidos húmicos y fúlvicos.

1.6.2. Sedimentación.

La operación de sedimentación consiste en separar de una suspensión el fluido claro sobrenadante de las partículas sólidas, las cuales forman un lodo con una elevada concentración de dichas partículas (Martín *et al.*, 2011; Kasatkin, 1981).

Medina (2018) expone que, aunque el grado de separación de las fases en el proceso de sedimentación es menor, comparado con otros procedimientos de separación de sistemas heterogéneos, la sedimentación resulta menos costosa, pues cuenta con la ventaja económica de que aprovecha los efectos de la gravedad, donde el gasto energético es menor.

1.6.3. Centrifugación.

La centrifugación es el procedimiento de separación de sistemas heterogéneos, en particular emulsiones y suspensiones, en el campo de fuerzas centrífugas empleando paredes divisoras herméticas o permeables para el líquido. Las centrifugas son los aparatos mecánicos empleados para producir esta fuerza centrífuga por medio de la rotación de una de sus partes. El rotor es precisamente la parte que gira a alta velocidad y que puede tener sus paredes laterales impermeables o perforadas, las cuales que se usan para la separación. (Rosabal, 2006).

Existe un criterio unificado para clasificar la operación de centrifugación (McCabe, 1998; Geankoplis, 1998 y Rosabal, 2006) clasifican la centrifugación en sedimentación centrífuga y filtración centrífuga. Los equipos en los que se lleva a cabo estas operaciones se denominan, por tanto, centrífugas de sedimentación y centrífugas de filtración respectivamente.

- ✓ La centrífuga de sedimentación o clarificadores se utilizan para la separación de suspensiones, cuando la velocidad de sedimentación es muy pequeña cuando las partículas sólidas son muy pequeñas y cuando la diferencia de densidades entre las fases es pequeña. Las mismas son consideradas continuas, pues continuamente descargan el líquido claro, aunque la descarga del sólido se efectúa intermitentemente.
- ✓ Las centrífugas filtrantes son aparatos con paredes permeables donde se efectúa la separación de las suspensiones según el principio de filtración, en este caso la diferencia de presiones se sustituye por la acción de la fuerza centrífuga. Las centrífugas y los filtros ordinarios son competitivos para la mayoría de los problemas de separación de sólidos y líquidos.

Los separadores centrífugos han sustituido en buena parte a los separadores por gravedad en las operaciones de producción debido a su mayor eficacia, así como su tamaño mucho menor para una determinada capacidad (McCabe, 1998).

Las operaciones en las centrífugas de sedimentación y filtración son más complicadas que las correspondientes a los sedimentadores y filtros. Esto se debe a que las centrífugas en lugar de la fuerza de gravedad y diferencia de presiones obra la fuerza centrífuga, que alcanza considerable magnitud, y en vez de capas planas de sedimento y líquido se forman capas con superficies de líquido cilíndricas, complicando la dependencia del procedimiento respecto a los factores geométricos. Resulta difícil elaborar una teoría de la diversidad de construcción de las centrífugas usadas en la práctica y de los métodos exactos para su cálculo (Brown, 1965; Kasatkin, 1987; Rosabal, 2006).

1.7. Conclusiones parciales del capítulo.

1. Los ácidos húmicos cuentan con aplicaciones en diversas industrias, con mayor aplicación en la agricultura como fertilizante orgánico.
2. Para determinar el período de estabilidad de la materia orgánica en la cachaza se establecen dos condiciones de almacenamiento de esta materia prima: a la intemperie y bajo techo.

3. Para la extracción de ácido húmico, a partir de la cachaza, se emplea la metodología propuesta por la Asociación Internacional de Sustancias Húmicas, utilizando NaOH y H₂SO₄ como extractantes.
4. Para la obtención de ácido húmico se estudian las combinaciones de operaciones extracción básica-extracción ácida: sedimentación-centrifugación y filtración-centrifugación.

Capítulo 2: Materiales y métodos.

En este capítulo se describen los métodos y técnicas utilizadas en la investigación, para la caracterización de la materia prima (cachaza) y de producto final (ácido húmico). Se describen: la metodología de extracción del ácido húmico, el diseño experimental y las técnicas estadísticas aplicadas para el análisis de los resultados, así como la metodología para el cálculo del beneficio bruto. La figura 2.1 muestra el procedimiento que sigue en la investigación.

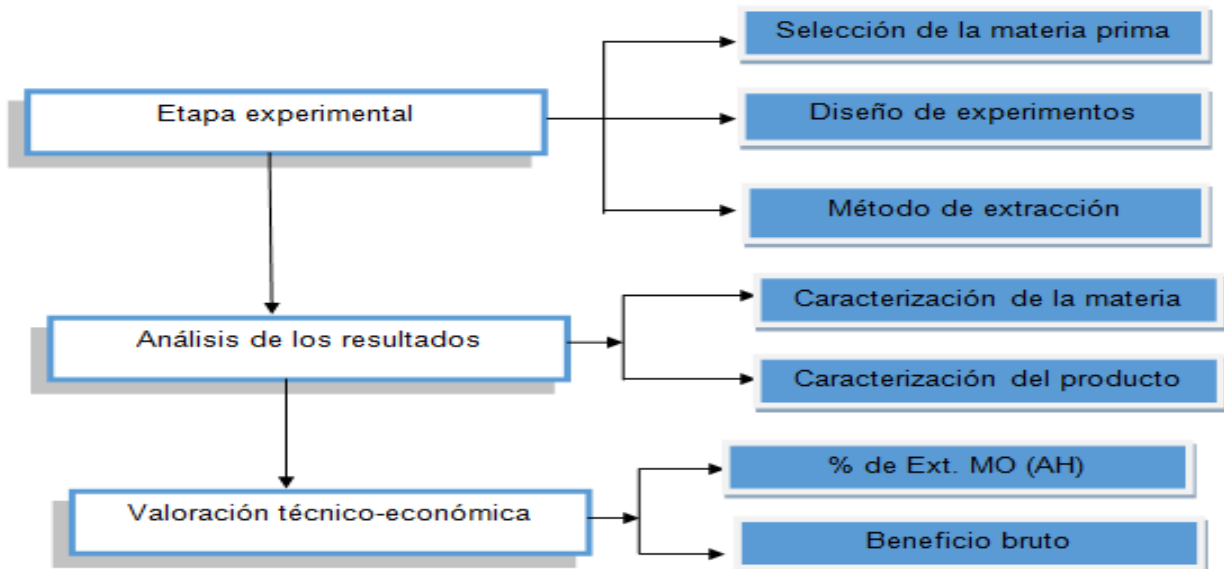


Figura 2.1. Metodología de la investigación.

2.1. Diseño experimental.

En la investigación se planifica un diseño experimental multifactorial categórico (anexos 2 y 3). Los factores a estudiar son:

- Tiempo de almacenamiento de la cachaza (semana): ocho semanas.
- Condiciones de almacenamiento de la cachaza: intemperie y bajo techo.
- Combinaciones de operaciones de separación: sedimentación-centrifugación (S-C) y filtración-centrifugación (F-C).

Se utiliza la centrifugación en la etapa de fraccionamiento de las sustancias húmicas (extracción ácida), teniendo en cuenta resultados obtenidos por Medina (2018).

Las variables respuestas analizadas son:

- Características de la cachaza.
- Características del ácido húmico (AH).
- Porcentaje de extracción de materia orgánica en el AH (se determina por la ecuación 2.1).

$$\% \text{ Ext. MO (AH)} = \frac{g \text{ de AH} * m_o(\text{AH})}{g \text{ MP} * m_o(\text{MP})} * 100 \quad \text{ecuación 2.1}$$

Donde:

g de AH: cantidad de AH obtenido (g) en base seca

m.o (AH): contenido de materia orgánica del AH

g de MP: cantidad de cachaza utilizada (g) en base seca

m.o (MP): contenido de materia orgánica de la cachaza

Los parámetros que se determinan para la caracterización de la materia prima son:

- Porcentaje de humedad
- Contenido de materia orgánica
- Contenido de cenizas
- Contenido de P, K, Na, Ca y Mg

Se debe aclarar que para analizar las características de la materia prima solo se tiene en cuenta el tiempo y las condiciones de almacenamiento de la cachaza, y para las características del ácido húmico y el porcentaje de extracción de materia orgánica en el producto se analizan los tres factores definidos en la investigación.

2.2. Técnicas analíticas para la caracterización de la cachaza y el producto final.

La caracterización de la cachaza y el ácido húmico se realiza en los laboratorios de "Suelo y Sanidad Vegetal" de la provincia de Matanzas. A continuación, se describen las técnicas analíticas utilizadas para la caracterización de la materia prima y el producto final.

➤ Humedad:

- Tomar el crisol y llevar a la estufa a 105 °C hasta alcanzar el peso constante.
- Transferir al crisol tarado, aproximadamente 5 g de material seco al aire libre y bajo techo y llevarlas a la estufa a 105 °C, durante toda una noche o por 18 horas.
- Pasar el crisol tapado a la desecadora y mantenerlo en ésta durante 30 minutos.
- Pesar en la balanza analítica el material seco.

La humedad se calcula por gravimetría, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{Peso del crisol+muestra}-\text{Peso del crisol+muestra seca})}{(\text{Peso del crisol+muestra}-\text{peso del crisol})} \quad \text{ecuación 2.2}$$

➤ Materia orgánica y ceniza:

- Pesar 2 g del material seco tanto al aire libre como bajo techo, en crisoles previamente tarados a 550 °C.
- Llevar a la mufla, elevando la temperatura paulatinamente (de 50 en 50 °C) para evitar pérdida en la combustión. Una vez alcanzada la temperatura a 550 °C, mantener el crisol en la mufla durante 3 horas.
- Pasar el crisol tapado a la desecadora y mantenerlo en la misma durante 30 minutos hasta enfriarse.
- Pesar en balanza analítica.

La ceniza se calcula por gravimetría (ecuación 2.3)

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso del crisol+muestra seca}-\text{Peso del crisol})}{(\text{Peso del crisol+muestra}-\text{Peso del crisol})} * 100 * fch \quad \text{ecuación 2.3}$$

La materia orgánica se calcula (ecuación 2.4)

$$\% \text{ materia orgánica} = 100 - \% \text{ cenizas} \quad \text{ecuación 2.4}$$

➤ Fósforo total:

- Tomar una alícuota de 10 mL de la solución B y colocarla en matraz aforado de 50 mL o erlenmeyer de 100 mL.
- Añadir 25 mL de solución colorante y enrasar con agua destilada.
- Agitar y dejar en reposo durante 15 minutos para lograr el máximo desarrollo del color.

El contenido de fósforo total se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$P = \frac{\frac{mg}{L} * 5000 * fch}{10000} \quad \text{ecuación 2.5}$$

➤ Potasio total:

- Tomar una porción de la muestra (solución B) y leer en el fotómetro de llama.
- Determinar la concentración de potasio en el gráfico de calibración.

El contenido de potasio total se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$K = \frac{\frac{mg}{L} * 500 * fch}{10000} \quad \text{ecuación 2.6}$$

➤ Sodio total:

- Tomar una porción de la muestra (solución B) y leer en el fotómetro de llama.
- Determinar la concentración de sodio en el gráfico de calibración.

El contenido de sodio total se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$Na = \frac{\frac{mg}{L} * 500 * fch}{10000} \quad \text{ecuación 2.7}$$

➤ Calcio total:

- Pipetear una alícuota de 20 mL de la muestra (solución B) y colocar en erlenmeyer de 200 mL.
- Añadir 3 mL de solución de citrato de sodio 1 N y 10 mL de una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10 %.
- Añadir una pizca de indicador Murexida con la punta de una espátula y valorar con solución 0,02 N de EDTA en presencia de un testigo hasta el cambio de color de rosado a lila.

El contenido de calcio total se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$Ca = mL\ EDTA * 0.5 * fch \quad \text{ecuación 2.8}$$

➤ Magnesio total:

- Añadir 10 mL de ácido clorhídrico (HCl) 3 N a la solución ya valorada de calcio que produce un cambio de la solución a incolora.
- Añadir 5 mL de hidróxido de amonio concentrado.
- Añadir una pizca de Eriocromo negro T.
- Valorar con EDTA 0,02 N hasta el cambio de color de rosa malva a azul.

El contenido de magnesio total se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$Mg = mL\ EDTA * 0.5 * fch \quad \text{ecuación 2.9}$$

2.3. Metodología para la extracción de ácido húmico.

Para la extracción del ácido húmico, se establecen las siguientes condiciones de operación, de acuerdo a resultados obtenidos por Santiago (2017), Vázquez (2018) y Medina (2018) (anexo 1):

- Relación sólido – líquido: 1/10
- Concentración de NaOH: 0,5 mol/L
- Tiempo de extracción básica: 10 h
- Tiempo de extracción ácida: 10 h

1. Se pesa la materia prima, en dependencia de la humedad que presente la cachaza, para garantizar 20 g en base seca (ecuación 2.10).

$$g_{cachaza} = \frac{20}{(1-humedad\ cachaza)} \quad \text{ecuación 2.10}$$

Donde:

g_{cachaza} : es la cantidad de cachaza que debe utilizarse que garantice 20 g en base seca

2. Se determina la cantidad de NaOH 1 mol/L que se debe añadir, para lograr una concentración de 0,5 mol/L (ecuación 2.11).

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \quad \text{ecuación 2.11}$$

C_1 : concentración 1 mol/L

V_1 : volumen que debe añadirse de NaOH 1mol/L

C_2 : concentración 0,5 mol/L

V_2 : volumen de extractante básico (NaOH) que garantice relación sólida – líquido 1/20 (es igual a 400 mL)

3. Se añade el agua adicional, que garantice la relación sólido-líquido 1/20 y la concentración de NaOH 0,5 mol/L (ecuación 2.12).

$$H_2O_{\text{adicional}} = \text{Volumen total} - V_{H_2O \text{ en extractante básico}} - V_{H_2O \text{ de la cachaza}} \quad \text{ecuación 2.12}$$

4. Se mantiene el tratamiento básico durante 10 h, con agitación continua.

5. Se filtra o sedimenta (sobrenadante es las sustancias húmicas, sustancia de interés, y el precipitado, la humina que es un residuo).

6. Se añade a las sustancias húmicas ácido sulfúrico al 98 %, hasta alcanzar un pH entre 1 y 2 y se mantiene la solución en reposo durante 10 h.

7. Se centrifuga durante 10 minutos a una velocidad de 3600 rpm, donde el precipitado es el ácido húmico-producto final, y el sobrenadante el ácido fúlvico-subproducto.

2.4. Técnicas estadísticas.

Las técnicas estadísticas que se utilizan para el procesamiento de los datos son:

- Análisis descriptivo: se determina la media, desviación estándar y coeficiente de variación de los parámetros obtenidos, para conocer el comportamiento de los mismos en el período de investigación.
- Análisis de varianza multifactorial: se aplica para determinar la influencia de los diferentes factores estudiados sobre las variables respuestas. El valor de probabilidad nos indica si es significativo o no el efecto.
- Correlaciones entre los factores: esto representa gráficamente el comportamiento de una variable en función de correlaciones de dos factores.

Todo este procesamiento estadístico se realiza con el paquete estadístico Statgraphics Versión 5.1

2.5. Evaluación económica.

Para la selección de la alternativa de extracción más factible se tendrá en cuenta el rendimiento de extracción de materia orgánica del AH 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 (cachaza) y de los materiales auxiliares (agua, hidróxido de sodio y ácido sulfúrico), para ello se utiliza la ecuación siguiente:

$$BB = VP - \Sigma CMP \quad \text{ecuación 2.13}$$

Siendo:

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

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

En la tabla 2.1. se muestran los costos unitarios de la materia prima y los materiales auxiliares.

Tabla 2.1. 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 2.2 se muestran los precios unitarios de los ácidos húmicos y fúlvicos.

Tabla 2.2. 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 exponen los resultados obtenidos durante la caracterización de la materia prima y del producto final (ácido húmico), así como la influencia que tuvieron los diferentes parámetros estudiados en las etapas de extracción básica y ácida. Además, se realiza una valoración técnica – económica a partir del porcentaje de extracción de materia orgánica y del beneficio bruto.

3.1. Comportamiento de las características de la cachaza.

Como se explica en el capítulo anterior durante las ocho semanas de estudio experimental, se caracteriza la cachaza proveniente del central azucarero René Fraga Moreno, tienen en cuenta las condiciones de almacenamiento (ver anexo 4). La tabla 3.1. muestra un resumen de los resultados obtenidos al estudiar la influencia del tiempo y las condiciones de almacenamiento de la cachaza sobre las características de la misma.

Tabla 3.1. Valores de probabilidad del resultado del análisis del efecto de los factores en la caracterización de la materia prima de la cachaza.

Parámetro	Tiempo		Condiciones de almacenamiento de la cachaza	
	Valor de probabilidad	Influencia	Valor de probabilidad	Influencia
Materia orgánica	0.6162	NS	0.0833	*
Humedad (%)	0.5598	NS	0.5530	NS
Cenizas (%)	0.5199	NS	0.0915	*
Fósforo	0.9424	NS	0.6582	NS
Potasio	0,1032	NS	0,0117	**
Sodio	0,1647	NS	0,1362	NS
Calcio	0,2495	NS	0,7359	NS
Magnesio	0,5566	NS	0,3777	NS
Leyenda: **: Muy significativo ($P < 0,05$) *: Significativo ($0,05 < P < 0,10$) NS: No significativo ($P > 0,10$)				

El contenido de materia orgánica (M.O) de la cachaza se mantiene estable durante las ocho semanas de experimentación, pues presenta un coeficiente de variación igual a 7,73 %,

esto indica que este residuo de la industria azucarera no sufre proceso de oxidación de M.O, lo cual es favorable para su uso como materia prima en la obtención de ácido húmico, según Ayala (2015). Sin embargo, se observan diferencias significativas en el contenido de M.O en las condiciones en que se almacena la cachaza, pues el valor de probabilidad es menor que 0,10 (el cual se favorece cuando esta materia prima se expone a la intemperie (figura 3.1.), lo que indica que no es necesario almacenar la cachaza en áreas techadas, para su uso en la extracción de ácidos húmicos, reduciendo así los costos.

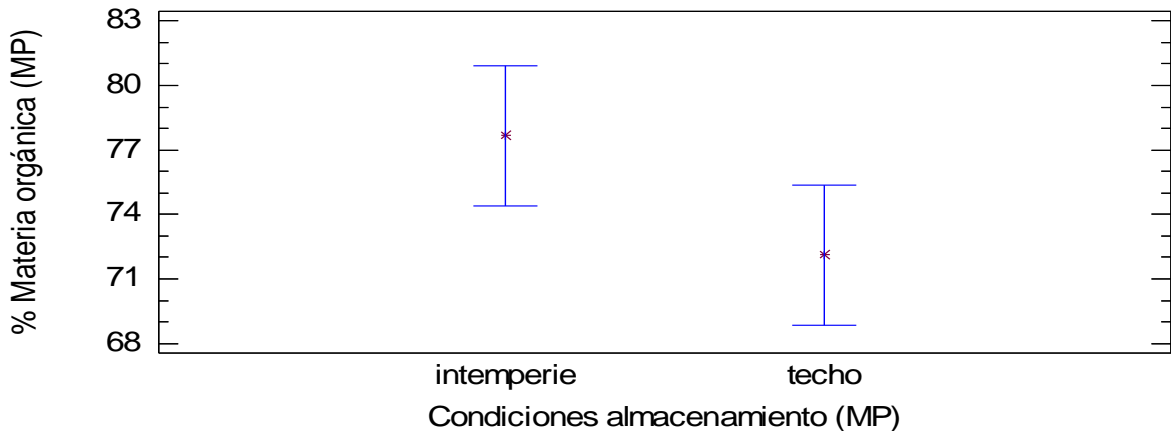


Figura 3.1. Comportamiento del porcentaje de la materia orgánica con respecto a las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

La humedad muestra inestabilidad en el período estudiado, pues presenta un coeficiente de variación igual al 70 %, esto se debe a los cambios en las condiciones ambientales, además la cachaza es un coloide amorfo que absorbe grandes cantidades de agua. Este parámetro tiene estrecha relación con la cantidad de agua a añadir en el proceso de extracción, para mantener la relación sólido – líquido deseada (en este caso 1/20). La figura 3.2. muestra que cuando la cachaza se deja a la intemperie, el proceso reduce los costos de consumo de agua.

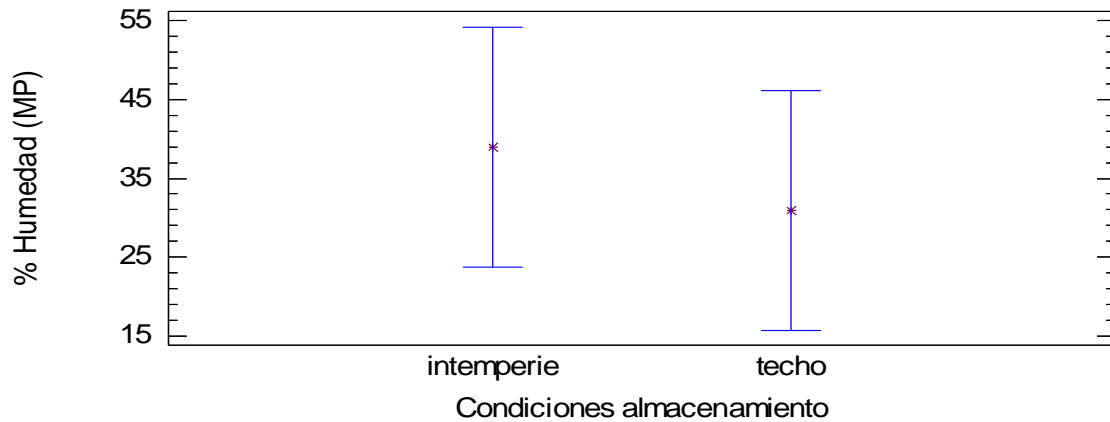


Figura 3.2. Comportamiento del porcentaje de humedad con respecto a las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

En cuanto a la composición de nutrientes (P, Na, Ca, K y Mg), todos muestran variabilidad, es decir, estas propiedades mantienen un comportamiento inestable. Según Ayala (2015), la concentración de estos componentes depende del lugar y las condiciones en que se obtiene, ya sea techado o a la intemperie.

Las condiciones de almacenamiento de la cachaza ejercen un efecto significativo sobre el contenido de cenizas, pues el valor de la probabilidad es menor que 0,10 (0,0833), parámetro estrechamente relacionado de forma inversa con el contenido de materia orgánica. En este caso se obtiene menor contenido de cenizas cuando la cachaza se almacena a la intemperie (figura 3.3.). El bajo contenido de este parámetro permite una mayor degradación de la materia orgánica, lo cual indica un alto grado de maduración de la fuente orgánica.

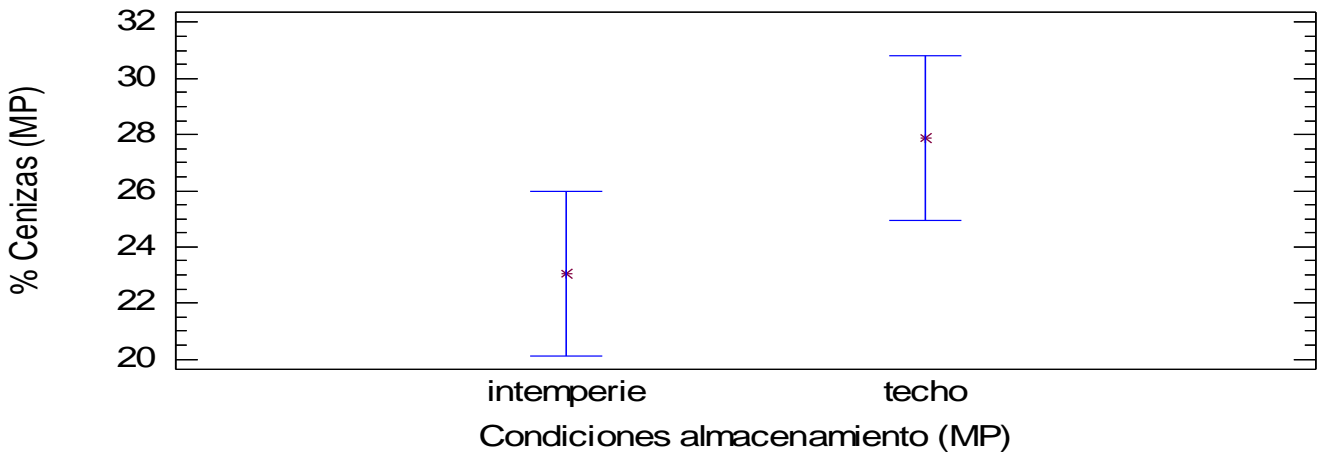


Figura 3.3. Comportamiento del porcentaje de cenizas con respecto a las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

En el contenido de fósforo se aprecia alta inestabilidad en el período experimental, arroja un coeficiente de variación igual a 78,88 %. Esta variación depende de la variedad de la caña y de la cantidad de materia cerosa. El contenido de este electo se debe a que en el central se trata el jugo con fosfato para clarificarlo más rápido.

La figura 3.4. muestra que cuando la cachaza permanece a la intemperie aumenta el contenido de fósforo, elemento que favorece el desarrollo y crecimiento de las plantas. Sin embargo, en condiciones de techado, ocurre una disminución.

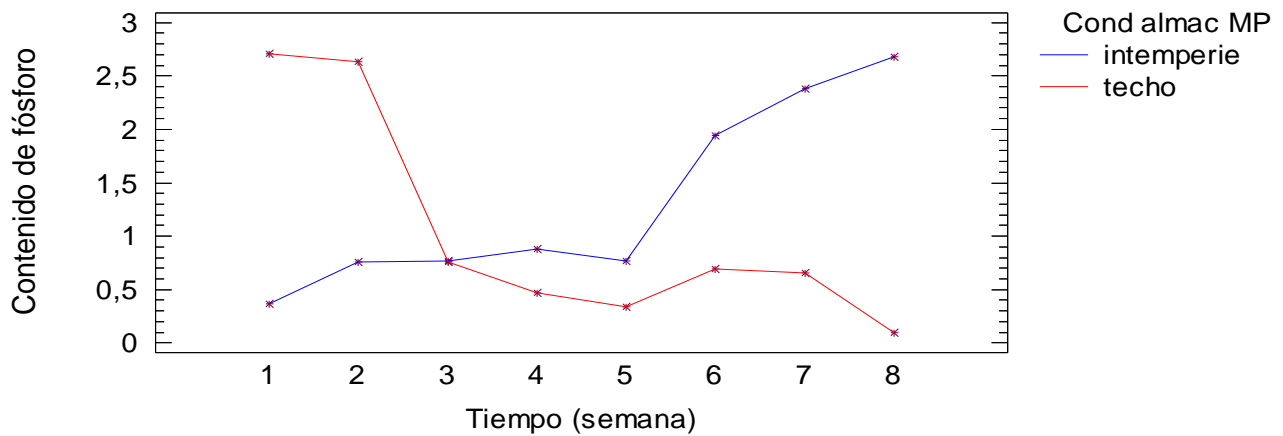


Figura 3.4. Comportamiento de la interrelación del contenido de fósforo en las condiciones de almacenamiento de la materia prima con respecto al tiempo.

En el contenido de potasio existe una influencia muy significativa de las condiciones de almacenamiento, el valor de probabilidad es inferior a 0,05 (0,0117). La figura 3.5. muestra que la cachaza presenta menor contenido de potasio cuando se almacena a la intemperie, esto se debe a que este elemento es soluble y fácilmente lixiviable. Los bajos contenidos de potasio en esta materia prima se deben a la gran solubilidad de este elemento, lo cual hace que permanezca en grandes cantidades en los jugos, hasta que es separado por la melaza y la vinaza.

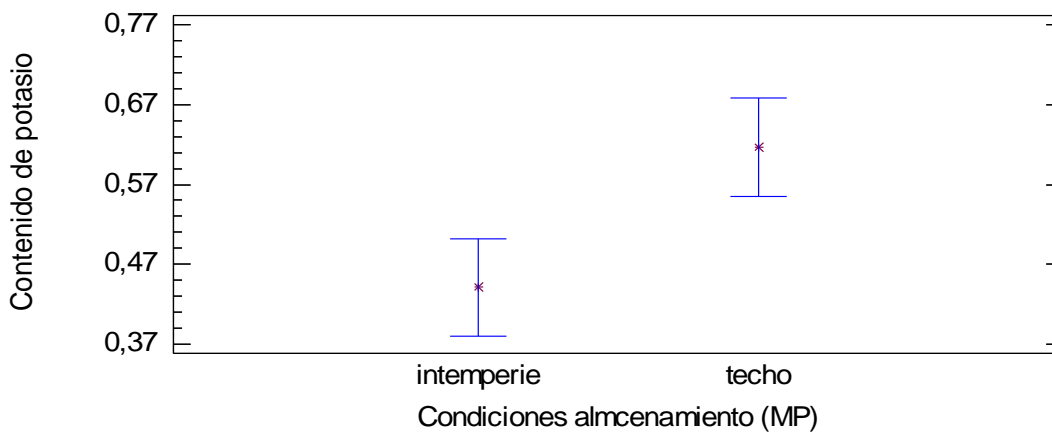


Figura 3.5. Comportamiento del contenido de potasio con respecto a las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

Las condiciones de almacenamiento de la cachaza no influyen significativamente sobre los contenidos de Na, Ca, Mg; sin embargo, en las ocho semanas de experimentación se observa dispersión en estos elementos, con elevados coeficientes de variación.

El contenido de calcio varía con la cantidad de cal empleada durante la clarificación del jugo, que es usualmente aplicada en dosis altas. El magnesio es un micronutriente que se deriva parcialmente de las partículas que van adheridas a la caña.

3.2. Resultados de la extracción del ácido húmico.

En este epígrafe se analiza cómo influyen las condiciones de almacenamiento de la cachaza (tiempo y forma de almacenar) y la combinación de las etapas de separación para la extracción del ácido húmico (AH), en las características del ácido húmico y en el porcentaje de extracción de materia orgánica del ácido húmico. El anexo 5 muestra los resultados de la caracterización del ácido húmico.

En la tabla 3.2. se muestra un resumen del efecto de los factores en las características del ácido húmico.

Tabla 3.2. Efecto de los factores en las características del ácido húmico

Parámetro/Factor	A	B	C	AB	AC	BC
% Materia orgánica	0.37	0.1083	0.4904	0.6119	0.3438	0.8615
Humedad (%)	0.0017**	0.1041	0.0046**	0.1209	0.0056**	0.0771*
Cenizas (%)	0.2031	0.1611	0.8695	0.4918	0.2467	0.7061
Fósforo	0.0876*	0.4067	0.5233	0.3474	0.0551*	0.4847
Potasio	0.0038**	0.4968	0.3918	0.9362	0.5829	0.4200
Sodio	0.4498	0.4227	0.0430**	0.9187	0.3188	0.3284
Calcio	0.4864	0.7597	0.5947	0.7379	0.5059	0.7408
Magnesio	0.0577 *	0.4098	0.2817	0.8349	0.6520	0.1312
Leyenda: A: Tiempo B: Condiciones MP C: Combinación en las operaciones de extracción *: Significativo **: Muy significativo MP: Materia prima %: Por ciento						

Como se muestra en la tabla 3.2. en el porcentaje de humedad del ácido húmico influyen significativamente el tiempo y la combinación de operaciones de separación para la extracción del ácido húmico, así como la interrelación entre ambos factores. La figura 3.6. muestra la variabilidad de este parámetro en las ocho semanas lo cual se debe a los cambios en las condiciones ambientales. En la combinación sedimentación-centrifugación existe estabilidad en el porcentaje de humedad del producto, no así para cuando se aplica filtración – centrifugación, esto se debe a que en la filtración se alcanza un producto más seco, ya que la filtración es la separación de una mezcla de sólidos y fluidos que implica el paso de gran parte del fluido a través de un medio poroso, el cual retiene la mayor parte de las partículas sólidas de la mezcla.

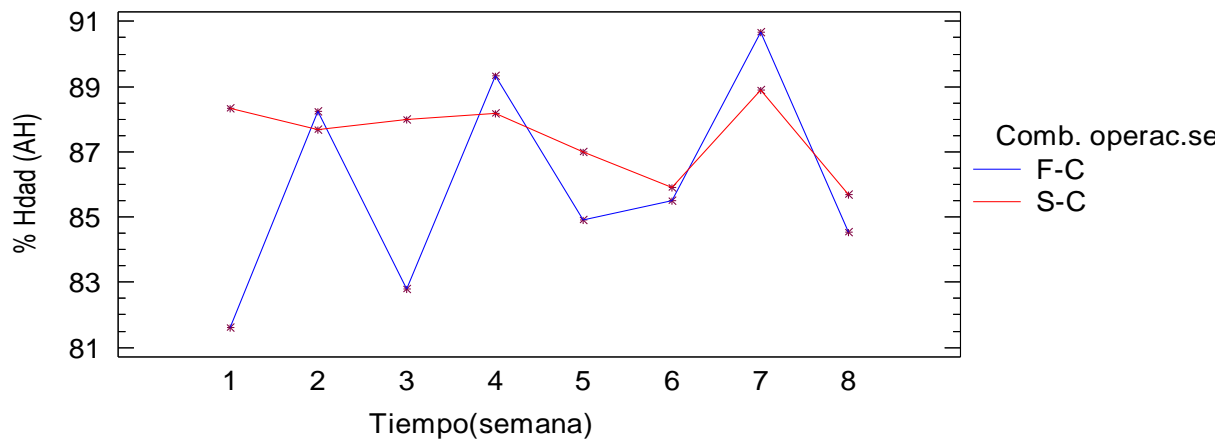


Figura 3.6. Comportamiento de la interrelación del porcentaje de humedad del ácido húmico en las combinaciones de las operaciones de extracción con respecto al tiempo.

En la materia orgánica no influye significativamente ninguno de los factores obteniéndose los mayores porcentajes en las semanas 1, 3, 5 y 8 (figura 3.7.). Según Forero *et al.*, (2008) la materia orgánica ejerce un papel importante en la formación y estabilización de agregados del suelo debido a puentes entre polímeros orgánicos y una superficie orgánica mediada por cationes polivalentes. Además, actúa como agregante físico del suelo, se encarga de proteger las partículas minerales de la acción del agua para evitar su disgregación y permitir así agregados más estables. Por otra parte, Mederos *et al.*, (2014) plantea que la materia orgánica es un factor clave ya que actúa sobre las propiedades físicas (porosidad, capacidad de retención hídrica, estabilidad de agregados, etc.), aportando nutrientes mediante los procesos de mineralización, puesto que mantiene la actividad microbiana del suelo, de tal manera que el mantenimiento de un nivel adecuado de materia orgánica en el mismo tiene una incidencia directa sobre el desarrollo y el crecimiento vegetal microbiano.

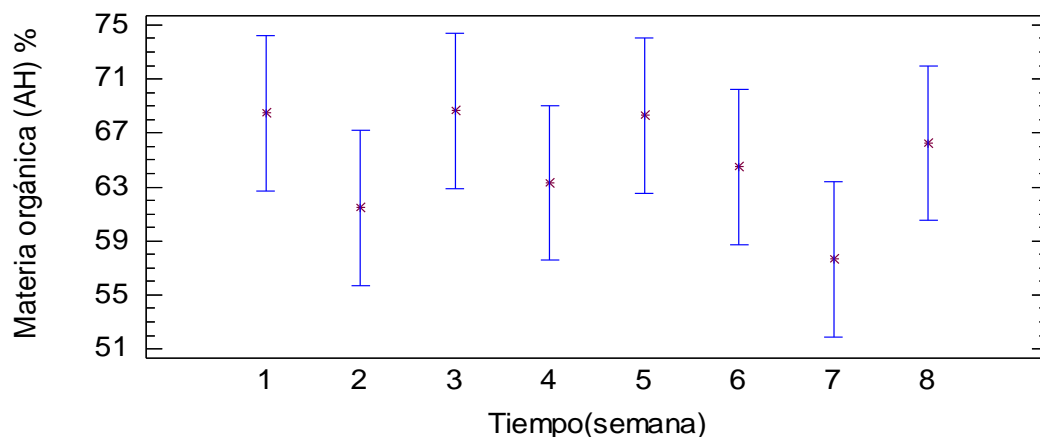


Figura 3.7. Comportamiento del porcentaje de materia orgánica del ácido húmico con respecto al tiempo.

En el período experimental se obtiene que para las condiciones de materia prima intemperie se alcanza mayores contenidos de materia orgánica, como se muestra en la figura 3.8. Esto se debe a que estas condiciones favorecen a la descomposición de la materia orgánica, además como esta última depende del clima, del suelo y las condiciones ambientales, puede haber ocurrido fenómenos atmosféricos en esta etapa de estudio. La importancia de la materia orgánica para el suelo radica en los beneficios que aporta como almacén de energía para la vida microbiana del suelo y como abastecedor de nutrientes para las plantas.

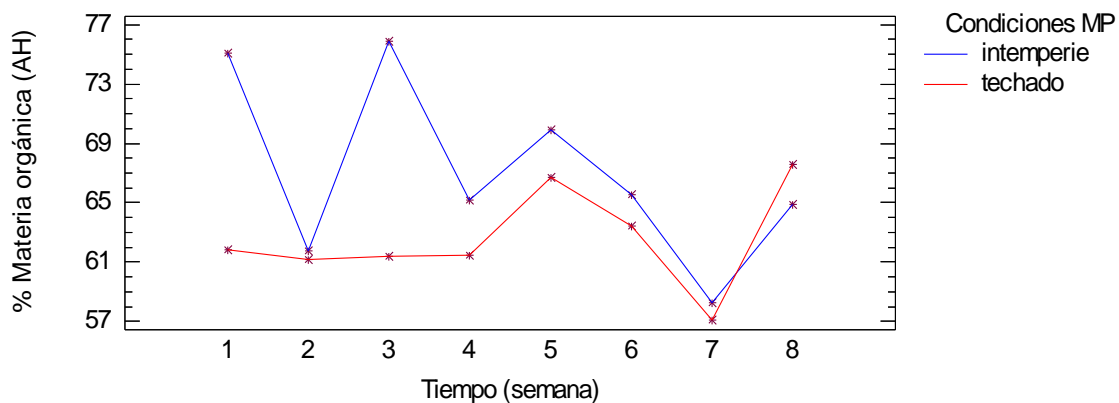


Figura 3.8. Comportamiento de la interrelación del porcentaje de extracción de materia orgánica del ácido húmico en las condiciones de almacenamiento de la materia prima con respecto al tiempo.

En el contenido del porcentaje de cenizas no influye ningún factor (figura 3.9.), sin embargo, se logra eliminar menor cantidad cuando la materia orgánica se encuentra a la intemperie, elemento que no favorece la extracción del ácido húmico.

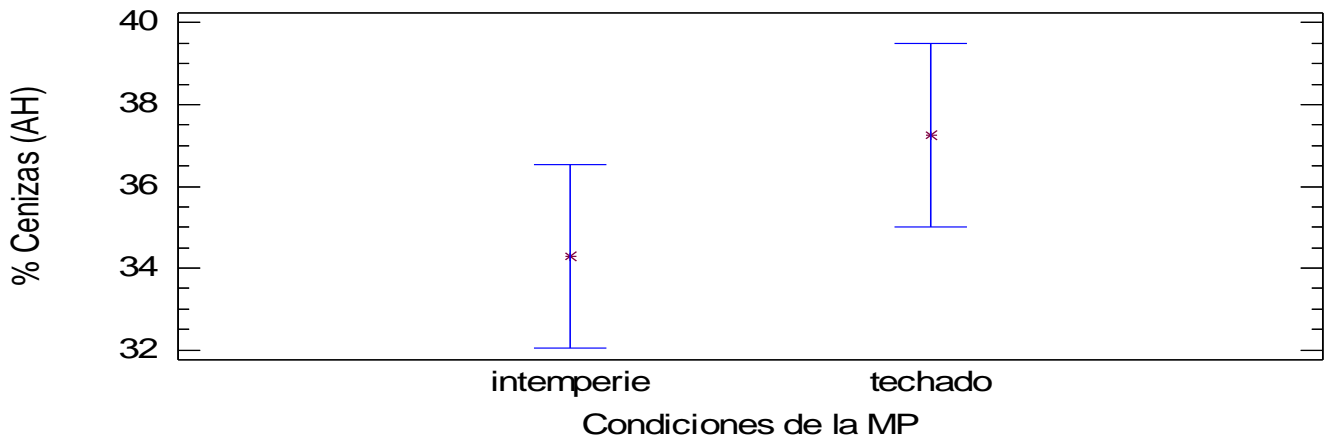


Figura 3.9. Comportamiento del porcentaje de cenizas del ácido húmico con respecto a las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

En el contenido de fósforo en el ácido húmico influye significativamente el tiempo para un 90% de confianza, pues el valor de probabilidad (0.0876) es menor que 0,10. Además, influye la interrelación tiempo - combinaciones de operación de separación (figura 3.10.). La combinación filtración-centrifugación favorece a mayor cantidad de fósforo en el ácido húmico. Por otra parte, cuando la materia prima se encuentra a la intemperie el ácido húmico presenta mayor contenido de fósforo. Según Ayala (2015) el fósforo es particularmente importante para el desarrollo radicular, crecimiento temprano de brotes, incremento de la productividad temprana y la extensión de los entrenudos en las plantas.

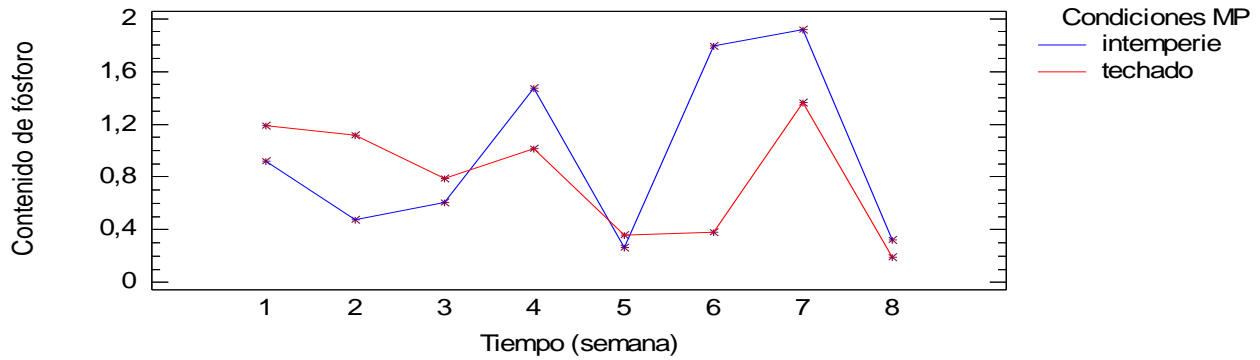


Figura 3.10. Comportamiento de la interrelación del contenido de fósforo en el ácido húmico en las combinaciones de las operaciones de extracción con respecto al tiempo.

El tiempo de almacenamiento de la cachaza influye significativamente en el contenido de potasio del ácido húmico, alcanzando un 64% en la semana número 7, como se muestra en la figura 3.11. El potasio (K) es un nutriente vital para que las plantas realicen el proceso de fotosíntesis presentando gran interés en procesos metabólicos. El mismo no puede ser reemplazado por ningún otro nutriente debido a que cuando hay deficiencia de éste, las funciones vitales en las plantas son afectadas. (Andrade, 2016). Según Pellegrini (2016) el potasio interviene en la regulación del potencial osmótico de las células vegetales, en enzimas implicadas en la respiración y fotosíntesis. Este nutriente es absorbido por la planta como ion K^+ . Es un activador de enzimas en las raíces de las plantas, produce una gradiente de presión osmótica que lleva el agua dentro de la misma y es una fuente de incremento de proteínas en los cultivos.

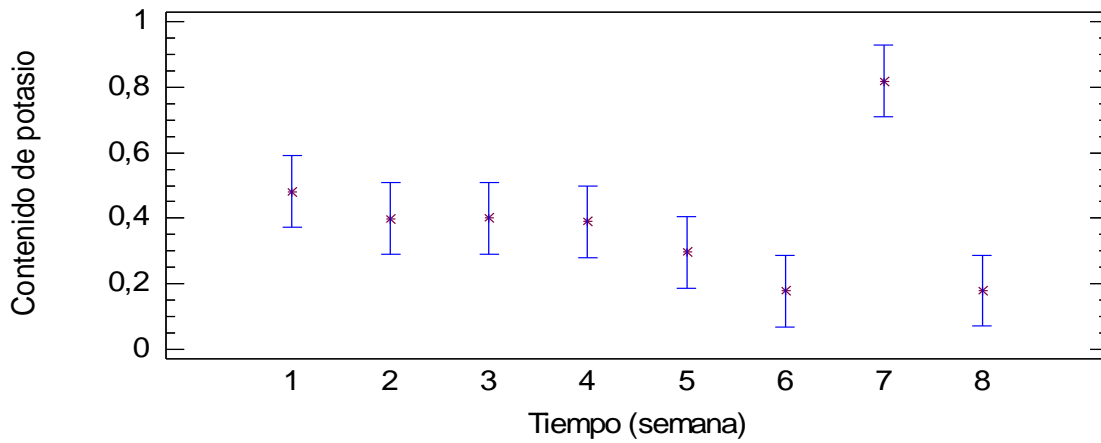


Figura 3.11. Comportamiento del contenido de potasio con respecto al tiempo.

La combinación de operación de extracción del ácido húmico afecta el contenido de sodio de ácido húmico (figura 3.12), lo cual se debe a la sedimentación en la etapa de separación de las sustancias húmicas (extracción básica). La adición de las sales de sodio afecta a las propiedades microbiológicas del suelo, debido a que la presencia de Na^+ puede afectar negativamente a las propiedades físicas de este, por la dispersión de los coloides.

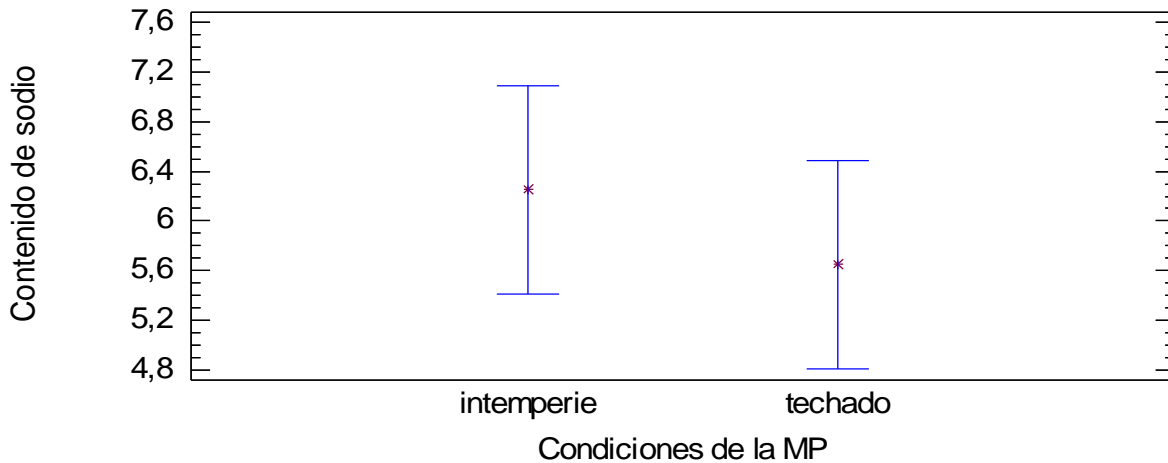


Figura 3.12. Comportamiento del contenido de sodio con respecto a las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

En la figura 3.13. se puede observar que durante las ocho semanas el contenido de magnesio del ácido húmico muestra una gran variabilidad, alcanzando en la semana número 3 un valor de 5(mg/L). Según Vega (2011) este nutriente es un mineral constituyente de la clorofila de las plantas, partícipe en el proceso de fotosíntesis, además de formar parte del metabolismo de los fosfatos, en la respiración de la planta y en numerosos procesos enzimáticos. Este nutriente incrementa la actividad fotosintética manteniendo buen desarrollo para dar altos rendimientos, y puede haber ocurrido que algunas de estas funciones se hayan afectado durante el estudio del mismo y es por ello que se observa inestabilidad durante estas semanas.

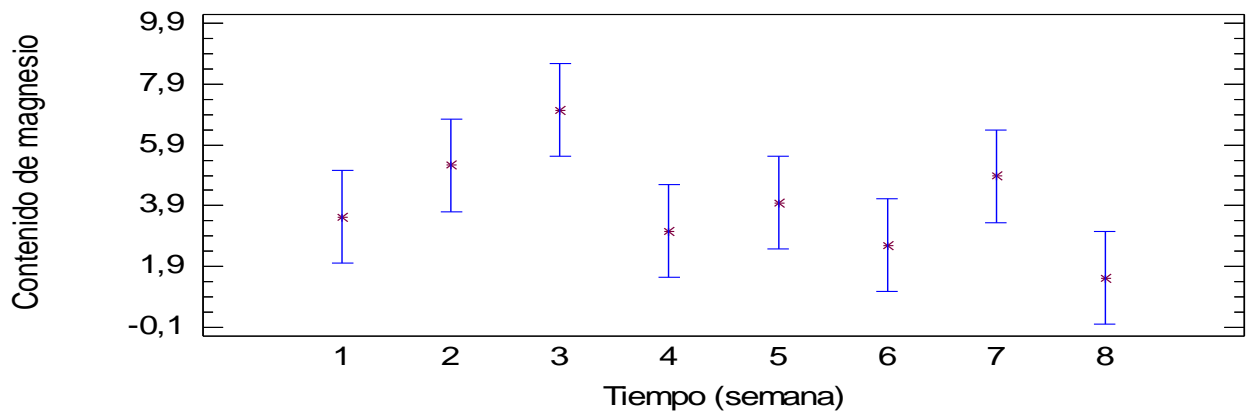


Figura 3.13. Comportamiento del contenido de magnesio con respecto al tiempo

El contenido de calcio no se afecta por ninguno de los factores estudiados, este elemento desempeña roles importantes en la nutrición de las plantas y en la adsorción del suelo, lo que quiere decir que no ocurre deficiencia en la planta y no ocurren fenómenos adversos. Según Vega (2011) asegura que el calcio protege la producción de raíces, tallos y hojas y esto hace que las plantas sean más resistentes. Por otra parte, Pellegrini (2016) plantea que el calcio es un nutriente esencial para las plantas, porque interviene en el alargamiento celular y forma parte de la estructura de la pared de las células de las mismas. El calcio juega un papel muy importante en la estructuración del suelo, un alto contenido de este nutriente favorece la formación de complejos con fracciones húmicas, las que inciden en la capacidad estructurante y por ende en la dinámica del aire y el agua.

Gallart (2017) expone que el Ca^{+2} contribuye a la fertilidad del suelo ya que desplaza al hidrógeno (H^+) presente en la superficie de las partículas de arcilla, disminuyendo de esta

manera la acidez e interviene en la absorción de otros nutrientes por las raíces como por ejemplo en la traslocación de la planta.

El porcentaje de extracción permite la valoración técnica del proceso de extracción del ácido húmico, pues la materia orgánica es de vital importancia para el suelo y las plantas. El anexo 6 muestra los resultados para cada alternativa.

El porcentaje de extracción de la materia orgánica del ácido húmico muestra una inestabilidad apreciable, pues presenta un elevado coeficiente de variación (89,54 %). Aunque la tabla ANOVA 3.4. muestra que ninguno de los factores estudiados influye significativamente sobre esta variable (tabla 3.4.), en la figura 3.14. se observa que, para las condiciones de almacenamiento de la materia prima techado, se alcanzan mayores porcentos de extracción de materia orgánica del ácido húmico, con los valores más altos en la semana 2.

Tabla 3.4. Efecto de los factores en las características del porcentaje de extracción de materia orgánica del ácido húmico.

Fuente	SC	GL	CM	Fisher	P-value
A: Tiempo	2843.98	7	406.282	1.26	0.3853
B: Cond MP	464.515	1	464.515	1.44	0.2696
C: Comb OP	57.2985	1	57.2985	0.18	0.6864
AB	159.137	7	22.7339	0.07	0.9988
AC	2070.6	7	295.799	0.92	0.5450
BC	329.474	1	329.474	1.02	0.3463
Residual	2262.53	7	323.219	-	-
Total	8187.53	31	-	-	-

Leyenda: SC: Suma de cuadrados.
 GL: Grados de libertad.
 CM: Cuadrado medio.

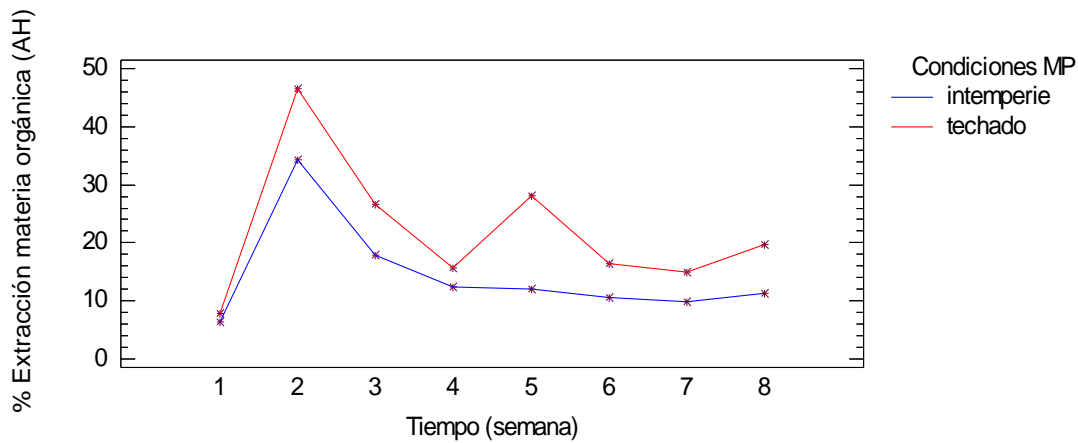


Figura 3.14. Comportamiento de la interrelación del porcentaje de extracción de materia orgánica del ácido húmico en las condiciones de almacenamiento de la materia prima con respecto al tiempo.

En la figura 3.15. se aprecia que, para la combinación de operación de separación, la que alcanzó mayor influencia fue sedimentación – centrifugación, tomando valores de alrededor de 60 % en la semana número dos. Esto se debe a que en la sedimentación se logró obtener mayores cantidades de sustancias húmicas (SH), lo cual coincide con estudios realizados por Medina (2018). Por otra parte, en la etapa de centrifugación se logró obtener gran cantidad de ácido húmico, que es el producto final en esta etapa de extracción. Además, por el alto contenido de cera que presenta la cachaza, se limita mucho el proceso de filtración.

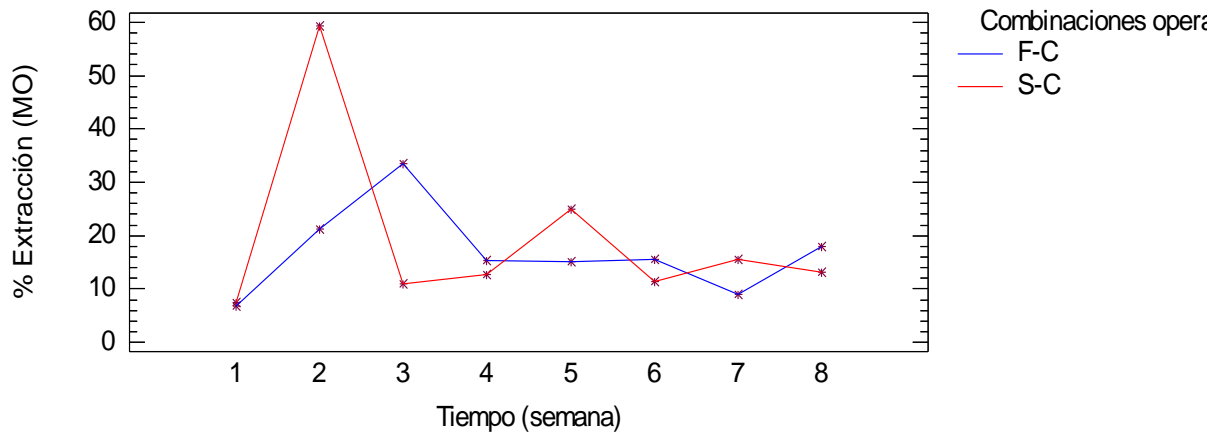


Figura 3.15. Comportamiento de la interrelación del porcentaje de extracción de materia orgánica del ácido húmico en las combinaciones de operaciones de extracción con respecto al tiempo.

Desde el punto de vista técnico la alternativa más adecuada es la cachaza almacenada bajo techo, durante 2 semanas y aplicando la combinación sedimentación-centrifugación, pues se alcanza un 89,9 % de extracción de materia orgánica del ácido húmico.

3.3. Valoración económica.

Para realizar la valoración económica de las diferentes alternativas se tiene en cuenta el beneficio bruto, debido a que esta investigación se realiza a escala de laboratorio, por lo que no se cuenta con los productos de producción (mantenimiento, impuestos, mano de obra, etc.), el mismo se calcula por la siguiente ecuación:

$$BB = V_p - \sum CMP \quad \text{ecuación 3.1}$$

Donde:

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.

Si se considera una demanda de 1 tonelada mensual de ácido húmico (Santiago, 2017), los kg de AH por hora a producirse determinan a partir de la ecuación 3.2

$$\text{kg} \frac{\text{AH}}{\text{h}} = \frac{1 \text{ ton}}{\text{mes}} * \frac{1000 \text{ kg}}{1 \text{ ton}} * \frac{1 \text{ mes}}{30 \text{ días}} * \frac{1 \text{ día}}{24 \text{ h}} * t_{\text{prod}} \quad \text{ecuación 3.2}$$

El tiempo de producción (t_{prod}) se determina por la siguiente expresión:

$$t_{\text{prod}} = t_{\text{EB}} + t_{\text{EA}} + t_{\text{sep}} \quad \text{ecuación 3.3}$$

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).

En la investigación los tiempos que se establecen son:

- Tiempo de extracción básica: 10 horas
- Tiempo de extracción ácida: 10horas
- Tiempo de separación: 4 horas

Por lo que el tiempo de extracción es 24 horas.

Como no se pudo determinar los pesos moleculares de cada uno de los componentes que forman parte en las etapas de extracción, para el cálculo de los flujos de consumos de materia prima, NaOH, H₂SO₄ y H₂O, se tendrá en cuenta la relación reactivo-producto, con los resultados a nivel de laboratorio (Ver Anexo 7). Con las ecuaciones 3.4, 3.5, 3.6 y 3.7, 3.8, 3.9 y 3.10, se puede conocer la cantidad de reactivos y materia prima necesarios para producir el ácido húmico en cada alternativa (Ver Anexo 8)

$$m(\text{MP}) = \frac{\text{kgAH}}{\text{h}} \times \left(\frac{\text{gMP}}{\text{gAHobtenido}} \right)_{\text{lab}} \quad \text{ecuación 3.4}$$

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).

$$m(\text{NaOH}) = \frac{\text{kgAh}}{\text{prod}} * \left(\frac{\text{EBconsumido}}{\text{AHobtenido}} \right)_{\text{lab}} * \frac{40 \text{ kgNaOH}}{1000 \text{ LEB}} \quad \text{ecuación 3.5}$$

$$m(\text{H}_2\text{SO}_4) = \frac{\text{kgAh}}{\text{prod}} * \left(\frac{\text{EAconsumido}}{\text{AHobtenido}} \right)_{\text{lab}} * 1,83 \text{ kg} \quad \text{ecuación 3.6}$$

- Para calcular el agua de extractante básico, se realiza a través de la siguiente ecuación

$$m(\text{H}_2\text{O})_{\text{EB}} = \frac{\text{kgAh}}{h} * \left(\frac{\text{H}_2\text{OEB}}{g\text{AH}} \right)_{\text{lab}} * 0,995 \quad \text{ecuación 3.7}$$

Donde:

m (H₂O)_{EB}: Agua de extractante básico

- Para calcular el agua a añadir se realiza a través de la siguiente ecuación:

$$M(\text{H}_2\text{O})_{\text{adicionada}} = \frac{\text{kgAh}}{h} * \left(\frac{m\text{LH}_2\text{Oanadir}}{g\text{AH}} \right)_{\text{lab}} * 0,995 \quad \text{ecuación 3.8}$$

Donde:

m (H₂O)_{adicionada}: Agua adicionada

- Para calcular el agua total se realiza a través de la siguiente ecuación:

$$m(\text{H}_2\text{O})_{\text{total}} = \text{H}_2\text{O}_{\text{EB}} + \text{H}_2\text{O}_{\text{adicionada}} \quad \text{ecuación 3.9}$$

Donde:

m (H₂O)_{total}: Agua total

- Para calcular el flujo de ácido fúlvico se realiza por la siguiente ecuación:

$$m(AF) = \frac{kgAH}{h} \times \left(\frac{gAFobtenido}{gAHobtenido} \right) lab$$

ecuación 3.10

Donde:

m (AF): Masa de ácido fúlvico

kg AH: Kilogramos de ácido fúlvico

g AF: Gramos de ácido fúlvico

g AH: Gramos de ácido húmico

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) (ver Anexo9).

La figura 3.16. representa el beneficio bruto para cada alternativa realizada, donde se obtiene el mayor valor (2250,13 \$/kg) para las condiciones de techado de materia prima en la semana 2 con la combinación filtración-centrifugación, lo cual no coincide con el mejor rendimiento (% de extracción de materia orgánica en el AH), al contrario, en esta se obtiene el menor valor (2,93 %), muy bajo contenido de M.O, lo que impide el uso del AH como fertilizante.

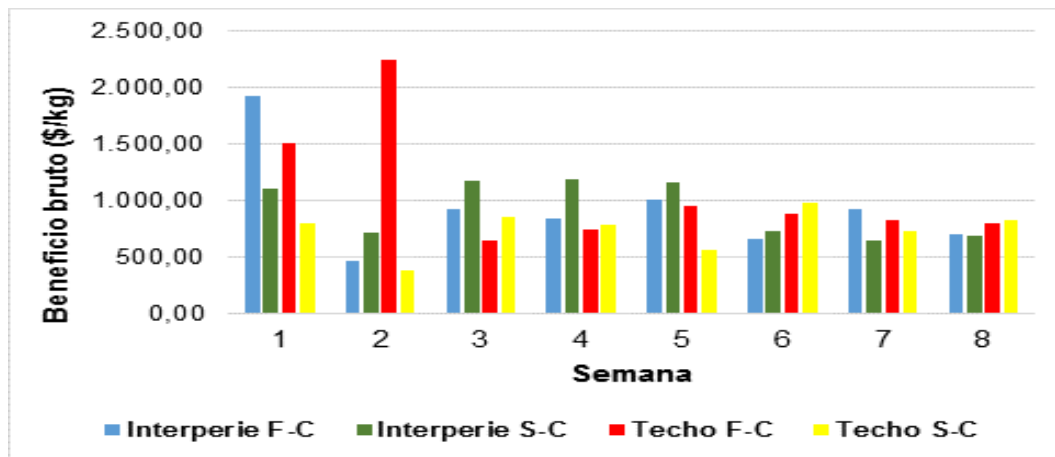


Figura 3.16. Resultados del beneficio bruto

Desde el punto de vista técnico y económico, la alternativa más adecuada será:

Tiempo de almacenamiento: 2 semanas.

Condiciones de almacenamiento: Techado

Combinaciones en las operaciones de separación: sedimentación-centrifugación

Esta alternativa permite un elevado % de extracción de M.O del AH, que permitirá un efecto más prolongado del mismo en suelos y plantas, además, arroja un beneficio bruto igual a 376,94 \$/kg.

3.4. Conclusiones parciales del capítulo.

Los resultados obtenidos permiten llegar a las siguientes conclusiones parciales:

- ✓ La materia prima almacenada a la intemperie presenta mayor contenido de materia orgánica.
- ✓ El porcentaje de humedad de la materia prima muestra una variabilidad durante las ocho semanas, debido a las condiciones ambientales.
- ✓ El tiempo de almacenamiento influye significativamente en los contenidos de fósforo, potasio y magnesio del ácido húmico obtenido, elementos de vital importancia para el efecto de la aplicación de este producto.
- ✓ La alternativa más adecuada para la extracción de ácido húmico es cuando se almacena la cachaza bajo techo, en un tiempo mayor de dos semanas, y aplicando la combinación de operaciones de separación sedimentación-centrifugación, con un beneficio bruto de 376,94 \$/kg.

Conclusiones.

- ✓ La alternativa más adecuada de almacenamiento de la cachaza para la extracción es mantener la materia prima bajo techo, durante un tiempo mayor de dos semanas.
- ✓ La alternativa de extracción más factible técnica y económicamente es: almacenar la cachaza bajo techo, más de 14 días y aplicar la combinación de operaciones de separación sedimentación-centrifugación, logrando un 89,9 % de extracción de materia orgánica en el ácido húmico y un beneficio bruto de 376,94 \$/kg.
- ✓ La cachaza almacenada a la intemperie presenta mayor contenido de materia orgánica, y el porcentaje de humedad varía considerablemente durante las ocho semanas, debido a las condiciones ambientales.
- ✓ El tiempo de almacenamiento influye significativamente en los contenidos de fósforo, potasio y magnesio del ácido húmico obtenido, elementos de vital importancia para el efecto de la aplicación de este producto.

Recomendaciones.

Se recomienda para estudios posteriores:

- Estudiar el efecto del tiempo de almacenamiento, durante un período más prolongado.
- Estudiar otras combinaciones de operaciones de separación para la extracción.

Bibliografía.

1. Aeschbacher, M.; Graf, C.; Schwarzenbach, R.P.; Sander, M., (2012). Antioxidant properties of humic substances, *Environ. Sci. Technol.* Vol. 46, pp 4916–4925.
2. Aguilar, N.O.; Medici, L.O., Olivares, F.L., Dobbss, L.B.; Torres-Netto, A.; Silva, S.F.; Novotny, E.H.; Canellas, L.P., (2015). Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophyticdiazotrophic bacteria. *Ann ApplBiol*168, pp 203–213.
3. 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.
4. Asing, J.; Wong, N.C.; Lau, S., (2009). Optimization of extraction method and characterization of humic acid derived from coals and composts. *Journal Tropical Agriculture and Fd. Sc.* Vol 37 no.2. ISSN: 211–223.
5. Ayala, A.E. (2015). Calificación del desempeño de un filtro banda para maximizar la recuperación de sacarosa en la cachaza proveniente de la clarificación del jugo de caña. Tesis en opción al título de ingeniero químico. Facultad de Ingeniería. Universidad de San Carlos de Guatemala.
6. Berbara R.LL.; García A.C., (2014). Humic substances and plant defense metabolism. In: Ahmad P, Wani MR (eds) *Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing enviornoment: volume 1.* Springer Science+Business Media, New York, pp 297–319.
7. Brown, G., (1969). Operaciones básicas de la Ingeniería Química. Tomo I. *Edición Revolucionaria.* p. 291.
8. Brown, G., (1969). Operaciones básicas de la Ingeniería Química. Tomo I. *Edición Revolucionaria.* p. 291.
9. Calvo, P.; Nelson, L.; Kloepper, J.W., (2014) Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant soil*, Vol. 383, pp 3–41.
10. Canellas, L.P.; Olivares, F.L.; Aguiar, N.O.; Davey, L.; Jones, D.L.; Nebbioso, A.; Mazzei, P.; Piccolo, A., (2015) Humic and fulvic acids as biostimulants horticulture. *SciHortic*, Vol. 196, pp 15–27.
11. Dhanapal, S. and Sekar, D.S., (2014) 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, pp 13649–13657.
12. Domínguez, E., (2018). Optimización del proceso de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de estiércol de ganado vacuno. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad de Matanzas, Sede Camilo Cienfuegos.
 13. 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., (2014) . Protective roles of aldo-ketoreductase 1B10 and autophagy against toxicity induced by p-quinone metabolites of tert-butylhydroquinone in lung cancer A549 cells, *Chem. Biol. Interact*, Vol. 234, pp 282–289.
 14. Ferrara, G.; Loffredo, E.; Senesi, N.; Marcos, R., (2006). Humic acids reduce the genotoxicity of mitomycin C in the human lymphoblastoid cell line TK6, *Mutat. Res*, Vol. 603, No. 1, pp 27–32.
 15. Forero, F.; Torres, J.; Balaguera, H. (2008). Efecto de la aplicación de cachaza fresca y de dos sistemas de producción: maíz y maíz con asocio frijol sobre las propiedades físicas de un Inceptisol., *U. Revista colombiana de ciencias hortícolas*. Vol. 2, No.2 p. 205-216.
 16. Fuentes, M.; Baigorri, R.; GonzalezGai, G.; Garcia-Mina, J M., (2016). New methodology to assess the quantity and quality of humic substances in organic materials and commercial products for agricultura. *J soils sediments*.
 17. Galba J., Basílio, D. Barros, L., Rocha, A., Pasqualoto, L., (2010). Humic substances isolated from residues of sugar cane industry as root growth promoter. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.67, n.2, p.206-212.
 18. Gallart, F. (2017). La conductividad eléctrica del suelo como indicador de la capacidad de uso de los suelos de la zona norte del Parque Natural de la Albufera de Valencia. Trabajo fin de grado Ingeniería Agroalimentaria y del medio rural. Universidad Politécnica de Valencia. España.
 19. García, A., Berbara, R., Farías, L., Izquierdo, F., Hernández, O., Campos, R., Castro, R., (2014). Humic acids of vermicompost as an ecological pathway to increase resistance of rice seedlings to water stress. *Afr. J. Biotechnol.* 11 (13) p. 3125–3134.
 20. Ghosal, S., (2003). Patentes delivery system for pharmaceutical, nutritional and cosmetic ingredients, US Patent number 6558712.

21. Gomes de Melo.; Bruna A.; Lopes M.; Fernanda M.; Andrade Santana, H., (2016). Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials science and engineering C*, Vol. 62, pp 967–974.
22. Gómez, P.; Jaramillo, L.A. (2006). Estudio de la factibilidad para el uso de la cachaza generada a partir del proceso de la caña de azúcar como abono. Tesis en opción al título de Ing. Industrial. Facultad de Ingeniería. Universidad de La Sabana, Colombia.
23. Gong, M.; Nanda, S.; Romero, Martin J.; Zhu, W.; Kozinski, J., (2017) Subcritical and supercritical water gasification of humic acid as a model compound of humic substances in sewage sludge. *The Journal of Supercritical Fluids*, pp 130–138.
24. González, R. (2017). Análisis del contenido y valor equivalente de productos orgánicos de aplicación de agricultura a nivel de sustancias húmicas. Trabajo final de curso en opción al grado de Ingeniería Agroalimentaria y Agroambiental. Escuela Superior Politécnica de Orihuela, España.
25. Guo, X.; Junhao, H.; Yanyu, L.; Guangchun, S.; Qunliang, L., (2016). 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, pp 169–174.
26. Hemati, A.; Aliknani, H.; Bagheri, G.; Maohammadi, L., (2012). Assessment of the Possibility of Humic Acid Extraction from Vermicompost with Urea. Ed. Springer, Vol.1, pp 225-228.
27. Hernández, J.; Barbazán, M.; Perdomo, C. (2014). Potasio.
28. 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.
29. IHSS (INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY), (2008). From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances. In: 14th International Meeting. September 14-19, Russia, Vol. 1, pp 43-47.
30. Kasatkin, A.G. (1981). Operaciones básicas y aparatos en la tecnología química. Tomo I. Ediciones Cubanas para la Editorial Pueblo y Educación, p. 729.
31. 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).

32. Khil'ko, S.L.; Efimova, I.V.; Smirnova, O.V., (2011). Antioxidant properties of humic acids from brown coal, *Solid Fuel Chem*, Vol. 45, No. 6, pp 367–371.
33. Klocking, R.; Felber, Y.; Guhr, M.; Meyer, G.; Schubert, R.; Schoenherr, J.I., (2013). Development of an innovative peat lipstick based on the UV-B protective effect of humic substances, *Mires Peat*, Vol. 11, pp 1–9.
34. Kulikowska D.; Mariusz G.; Zygmunt; B.; Katarzyna.;Kierklo K.,(2015). Humic substances from sewage sludge compost as washing agent effectively remove Cu and Cd from soil. *Chemosphere*, Vol. 136, pp 42–49.
35. Kumar, Chandan J.; Das, N.; Nath, Gunindra Ch. Improved extraction of humic acids from vermicomposted organic waste by a column-based continuous elution method. *Separation Science and Technology 2016*, VOL. 51, NO. 17, pp 2780–2789.
36. 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).
37. Lukyanov, N. V.; Syroezhko, A. M.; Slavoshevskaya, N. V.; Strakhov, V. M.; Potekhin, V. M.; Itskovich, V. A., (2016). Extraction of humic acids from kansko_achinsk lignite. *Coke and chemistry*, Vol. 59, No. 2, pp 48-53.
38. Martín, I., Salcedo, R. y Font. R. (2011). *Mecánica de Fluidos. Tema 5: Operaciones de separación sólido-fluido*. Universidad de Alicante
39. Martins, T.; Saab, S.C.; Milori, D.M.B.P.; Brinatti, A.M.; Rosa, J.A.; Cassaro, F.A.M.;Pires, L.F., (2011). Soil organic matter humification under different tillage managements evaluated by Laser Induced Fluorescence (LIF) and C/N ratio. *Soil Tillage Res.* 111, pp 231–235.
40. McCabe, W.L., Smith J.C. y Harriott, P. (1991). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química*. Cuarta edición. *McGraw-Hill*
41. Mederos, A.; Orellana, R.; Bastida, F.; Hernández, M.T.; García, C. (2017). Efectos de la aplicación de materia orgánica en la actividad.
42. Medina, Dariel., (2018). *Diseño de las etapas de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas obtenidas a partir de cachaza y estiércol de ganado vacuno*. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad de Matanzas, Sede Camilo Cienfuegos.

43. Melo, L. (2006). Análisis y caracterización de ácidos fúlvicos y su interacción con algunos metales pesados. Trabajo de investigación en opción al título de Licenciada en Química. Instituto de Ciencias Básicas y Economía UAEH.
44. Montoneri, E.; Savarino, P.; Bottigliengo, S.; Musso, G.; Vittorio, B. (2008). *Humic acid-like matter isolated from green urban wastes. Part II: performance in chemical and environmental technologies*. Bioresources, Vol. 3, No. 1, p. 217-233.
45. Pedroso, I. (2007). Propuesta de una tecnología de extracción de ácidos húmicos, para su uso como biofertilizante. Tesis presentada en opción al título de máster en Contaminación Ambiental. Universidad de Matanzas.
46. Pedroso, I. y Domínguez, F. J. (2006). Ácidos Húmicos. Formas de extracción y usos. Universidad de Matanzas.
47. Pellegrini, A. (2017). Potasio, calcio y magnesio del suelo.
48. Pérez, C., (2009). Propuesta preliminar de una metodología de extracción de ácido húmico. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad de Matanzas
- Melo, L. (2006). Análisis y caracterización de ácidos fúlvicos y su interacción con algunos metales pesados. Trabajo de investigación en opción al título de Licenciada en Química. Instituto de Ciencias Básicas y Economía UAEH.
49. Pérez-Espinosa, A.; Camiletti, J.; Pérez-Murcia, M.D.; Aguiló, E.; Andreu, J. M. A.; Bustamente, M.A.; Paredes, C.; Fernández, M.; Moral, R., (2016). Biotransformación de residuos orgánicos de distinta naturaleza combinando compostaje y vermicompostaje. V Jornadas de la Red Española de Compostaje. Sevilla 16-18 de noviembre de 2016.
50. Perry, R. H. and Green, D. W. (2008). Perry's Chemical Engineers Handbook. 8th Ed. New York. *McGraw-Hill*.
51. 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.
52. Ramos, R., (2000). 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.
53. Ranganathan, L.S. Vermibiotechnology: From soil health to human health; Agrobios: Jodhpur, India, (2006).

54. Raposo, Juan C.; Villanueva, U.; Olivares, M.; Madariaga, J M., (2016). Determination of humic substances in sediments by focused ultrasound extraction and ultraviolet visible spectroscopy. *Microchemicaljournal*, Vol. 128, pp 26–33.
55. Rodríguez, F.J.; Schlenger, P.; García-Valverde, M., (2014). A comprehensive structural evaluation of humic substances using several fluorescence techniques before and after ozonation. Part I: Structural characterization of humic substances. *Sci. Total Environ.* 476/477, pp 718–773.
56. Rodríguez, Francisco J.; Schlenger, P.;García-Valverde, M., (2016) Monitoring changes in the structure and properties of humic substances following ozonation using UV–Vis, FTIR and ¹H NMR techniques.. *Science of the Total Environment* 541 pp 623–637.
57. Romaris-H. Vanessa.; MoredaPineiro, A.; Bermejo Barrera, P., (2007). Application of microwave energy to speed up the alkaline extraction of humic and fulvic acids from marine sediments. *Analyticachimical*, Vol. 602, pp 202-210.
58. Romera Pérez, M., (2005). Importancia de la materia orgánica en la agricultura ecológica. In *agricultura ecológica*.
59. Romera, M., (2005). Importancia de la materia orgánica en la agricultura ecológica. In *agricultura ecológica*.
60. Rosabal, J. y Valle, M. (1998). *Hidrodinámica y Separaciones Mecánicas. Tomo II. La Habana. Ediciones ENPES.*
61. Rosabal, J. y Valle, M. (1998). *Hidrodinámica y Separaciones Mecánicas. Tomo II. La Habana. Ediciones ENPES.*
62. Saito, B and Seckler, M. M., (2014). Alkaline extraction of humic substances from peat applied to organic-mineral fertilizer production. *BrazilianJournal of ChemicalEngineering*. Vol. 31, No. 03, pp 675 – 682.
63. Santana, E., (2017). Optimización del proceso de extracción de sustancias húmicas a partir de estiércol de ganado vacuno. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad de Matanzas, Sede Camilo Cienfuegos.
64. Santi, L. P. Extraction and characterization of humic acid from plantation's solid organic waste composts', *Menara Perkebunan*, Vol. 68, (2000), p29- 36.

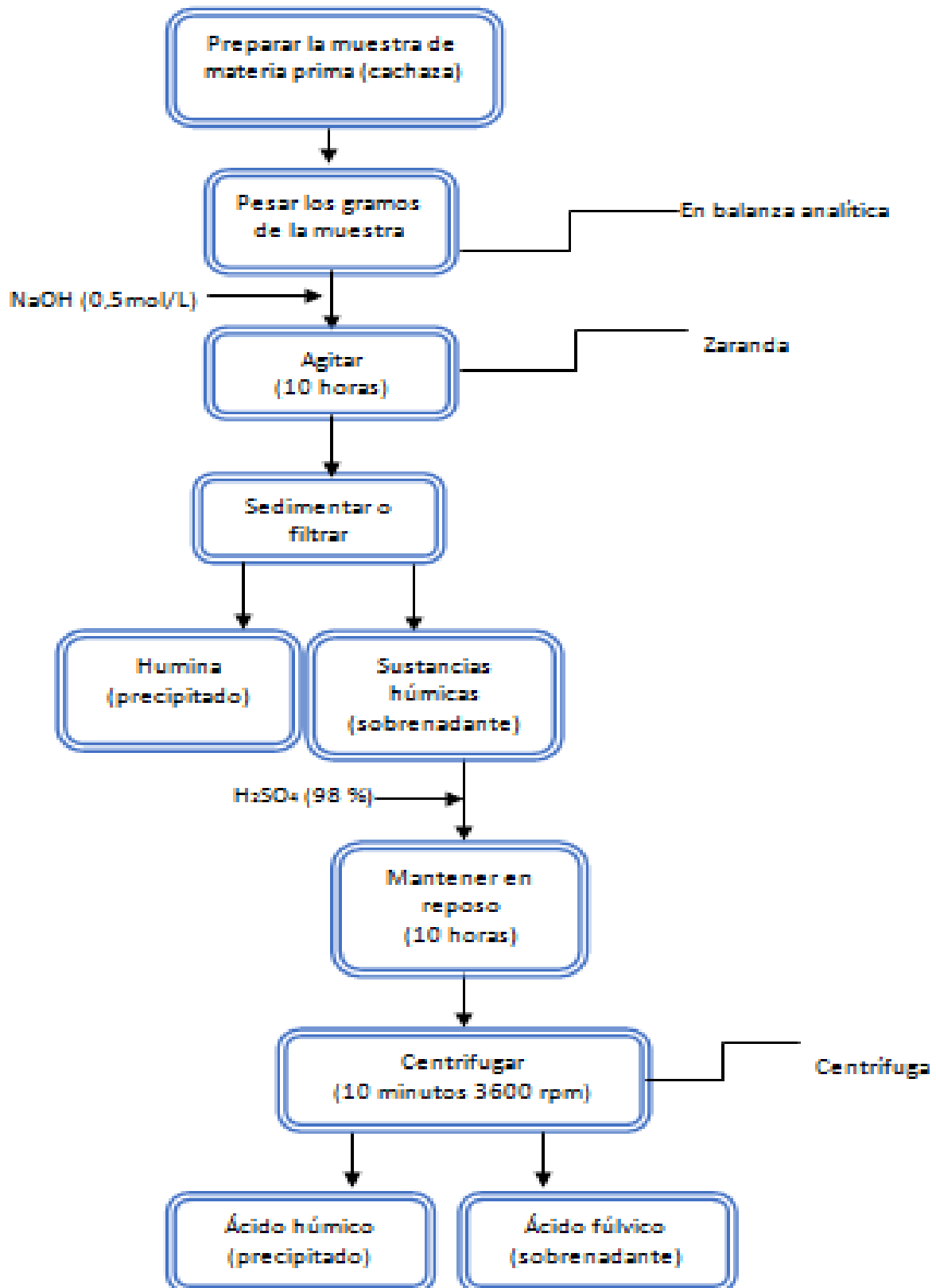
65. Santiago, E., (2017). Optimización del proceso de extracción de sustancias húmicas a partir de estiércol de ganado vacuno. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad de Matanzas, Sede Camilo Cienfuegos.
66. Scaglia, B.; Baglieri, A.; Tambone, F.; Gennari, M.; Adani, F., (2016a). Chlorpyrifos-methyl solubilisation by humic acids used as bio-surfactants extracted from lignocelluloses and kitchen wastes. *Chemosphere* 159, pp 208-213.
67. Scaglia, B.; Baglieri, A.; Tambone, F.; Gennari, M.; Adani, F., (2016b). Investigating organic molecules responsible of auxin-like activity of humic acid fraction extracted from vermicompost. *Science of the Total Environment* 562, pp 289–295.
68. Shen, J.; Gagliardi, S.; McCoustra, Martin R.S.; Arrighi, Valeria., (2016). Effect of humic substances aggregation on the determination of fluoride in water using an ion selective electrode. *Chemosphere*, Vol. 159, pp 66-71.
69. Stevenson, F.J., (1994). Genesis, composition, reactions humus chemistry. New York, Estados Unidos, Vol. 2.
70. Susic, M., (2016). Replenishing humic acids in agricultural soils. *Agronomy*, Vol. 6, p. 45.
71. Tadini, A.M.; Nicolodelli, G.; Mounier, S.; Montes, C.R.; Milori, D., (2015). The importance of humin in soil characterisation: a study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. *Sci. Total Environ.* 537, pp 152–158
72. Tsuda, K.; Kida, M.; Suzuka Aso, S.; Kato, T.; Fujitake, N.; Maruo, M.; Hayakawa, K.; Hirota, M., (2016). Determination of aquatic humic substances in Japanese lakes and wetlands by the carbon concentration-based resin isolation technique. *Limnology* 17, pp 1–6.
73. Ueda, M. Extraction of groundwater humic substances and characterization by synthetic resin, Vol. 12, (2006), p31-39.
74. Vázquez, N., (2018). Optimización del proceso de separación y fraccionamiento de sustancias húmicas a partir de la cachaza. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad de Matanzas, Sede Camilo Cienfuegos.
75. Vega, C.F. (2011). Evaluación de la producción de tres variedades de *stative* (*Limonium sinuatum*) con tres tipos de fertilizantes orgánicos, en invernadero en la zona agroecológica de Checa, provincia Pichincha. Tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

76. Wang, H., Wang, Y., Li, X., Sun, S., Wu, H., Chen, D., (2016). Removal of humic substances from reverse osmosis (RO) and nanofiltration (NF) concentrated leachate using continuously ozone generation-reaction treatment equipment. *Waste Management* 56, p. 271–279.
77. Wang, H.; Wang, Y.; Li, X.; Sun, Y.; Wu, H.; Chen, D., (2016). Removal of humic substances from reverse osmosis (RO) and nanofiltration (NF) concentrated leachate using continuously ozone generation-reaction treatment equipment. *Waste Management* 56, pp 271–279.
78. Weng, Y.H., Wang, Y.C., Tsai, Y.T., Chuang, C.J., Huang, C.P., Li, K.C., (2012). Effect of hydrophobicity of humic substances on electro-ultrafiltration. *Desalination* 284, p. 128–134.
79. Wollina, U., (2009). Peat: a natural source for dermatocosmetics and dermatotherapeutics, *J. Cutan. Aesthet. Surg.* Vol. 2, No. 1, pp17–20.
80. Yang, Zhen; Mengchan, Du; Jie, Jiang. Reducing capacities and redox potentials of humic substances extracted from sewage sludge. *Chemosphere*, Vol. 144, (2016), p902-908.
81. Zavarzina, A.G., Demin, V.V., Nifant'eva, T.I., Shkinev, V.M., Danilova, T.V., Spivakov, B.Y., (2002). Extraction of humic acids and their fractions in poly (ethylene glycol)-based aqueous biphasic systems. *Analytica Chimica Acta* 452, p. 95–103.
82. Zhang, D.; Zhang, C.; Xiao, Z.; Suzuki, D.; Katayama, A., (2015). Humic as an electron donor for enhancement of multiple microbial reduction reactions with different redox potentials in a consortium. *J. Biosci. Bioeng.* 119 (2), pp 188–194.
83. Zherebker, A.; Ya, Perminova, I.V.; Konstantinov, A. I.; Volikov, A. B.; Kostyukevich, Yu. I.; Kononikhin, A. S.; and Nikolaev, E. N., (2016). 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, pp. 372–378. © Pleiades Publishing, Ltd., 2016. ISSN 1061-9348
84. Zhu, B.; Pennell, S.A.; Ryan, D.K., (2014). Characterizing the interaction between uranyl ion and soil fulvic acid using parallel factor analysis and a two-site fluorescence quenching model. *Microchem. J.* 115, pp 51–57.

85. Ziegelgruber, K.L.; Teng, Z.; Arnold, W.A.; Yu-Ping, C., (2013). Sources and composition of sediment pore-water dissolved organic matter in Prairie Pothole Lakes. *Limnol. Oceanogr.* 58, pp 1136–1146.

Anexos.

Anexo 1. Metodología de extracción de ácido húmico



Anexo 2. Diseño experimental para el estudio de la materia prima (cachaza)

Experimento	Tiempo (Semana)	Condiciones de almacenamiento de la cachaza
1	1	Techo
2	1	Intemperie
3	2	Techo
4	2	Intemperie
5	3	Techo
6	3	Intemperie
7	4	Techo
8	4	Intemperie
9	5	Techo
10	5	Intemperie
11	6	Techo
12	6	Intemperie
13	7	Techo
14	7	Intemperie
15	8	Techo
16	8	Intemperie

Anexo 3. Diseño experimental para el estudio del producto final (ácido húmico)

Experimento	Tiempo (Semana)	Condiciones de almacenamiento de la cachaza	Combinación de las operaciones de extracción
1	1	Techo	S-C
2	1	Techo	F-C
3	1	Intemperie	S-C
4	1	Intemperie	F-C
5	2	Techo	S-C
6	2	Techo	F-C
7	2	Intemperie	S-C
8	2	Intemperie	F-C
9	3	Techo	S-C
10	3	Techo	F-C
11	3	Intemperie	S-C
12	3	Intemperie	F-C
13	4	Techo	S-C
14	4	Techo	F-C
15	4	Intemperie	S-C
16	4	Intemperie	F-C
17	5	Techo	S-C
18	5	Techo	F-C
19	5	Intemperie	S-C
20	5	Intemperie	F-C
21	6	Techo	S-C
22	6	Techo	F-C
23	6	Intemperie	S-C
24	6	Intemperie	F-C
25	7	Techo	S-C
26	7	Techo	F-C
27	7	Intemperie	S-C
28	7	Intemperie	F-C
29	8	Techo	S-C
30	8	Techo	F-C
31	8	Intemperie	S-C
32	8	Intemperie	F-C

Leyenda: S-C(Sedimentación-Centrifugación)
F-C(Filtración-Centrifugación)

Anexo 4. Caracterización de la cachaza

Semana	Condiciones de almacenamiento	MO (%)	Humedad (%)	Cenizas (%)	Fósforo (mg/L)	Potasio (mg/L)	Sodio (mg/L)	Calcio	Magnesio
1	Techo	80,27	57,56	19,72	2,70	0,85	0,44	4,96	4,25
	Intemperie	81,51	27,01	18,48	0,36	0,60	0,18	3,00	1,49
2	Techo	69,53	69,57	30,46	2,62	0,69	0,33	4,92	4,10
	Intemperie	80,17	22,72	19,82	0,76	0,50	0,11	2,97	1,48
3	Techo	77,63	16,76	22,36	0,75	0,31	0,00	3,60	1,20
	Intemperie	75,12	15,64	24,87	0,76	0,43	0,09	3,20	0,88
4	Techo	76,18	14,88	23,81	0,46	0,60	0,17	4,11	1,23
	Intemperie	70,63	15,16	29,36	0,88	0,55	0,16	3,53	1,29
5	Techo	72,20	10,54	27,79	0,33	0,51	0,15	3,01	1,84
	Intemperie	80,04	15,65	19,95	0,77	0,29	0,09	1,54	1,60
6	Techo	68,78	32,50	31,21	0,68	0,59	0,24	1,77	0,88
	Intemperie	83,79	64,41	21,78	1,93	0,38	0,22	2,80	1,40
7	Techo	68,00	13,36	31,99	0,66	0,56	0,13	4,38	1,15
	Intemperie	70,79	72,82	29,20	2,38	0,31	0,15	10,66	2,75
8	Techo	64,29	32,30	35,70	0,10	0,80	0,12	5,13	2,06
	Intemperie	79,23	78,33	20,76	2,67	0,43	0,02	6,92	1,84
Media		74,89	34,95	25,45	1,18	0,52	0,16	4,16	1,845
Desviación estándar		5,789	24,56	5,369	0,93	0,16	0,10	2,19	1,022
Coeficiente de variación (%)		7,73	70,28	21,09	78,89	31,18	65,37	52,74	55,40

Anexo5. Caracterización de los parámetros estudiados en el ácido húmico (producto final)

Semanas	Condiciones almacenamiento	Comb. operac. extracción	H (%)	C (%)	MO (%)	P (mg/L)	K (mg/L)	Na (mg/L)	Ca	Mg
1	Techo	S-C	87,98	39,62	61,05	0,99	0,71	7,71	9,15	2,91
		F-C	81,57	37,23	62,55	1,38	0,33	5,30	7,60	1,62
	Intemperie	S-C	88,71	36,48	63,80	0,51	0,34	7,10	10,78	7,40
		F-C	81,63	34,89	86,41	1,33	0,51	5,40	2,72	2,17
2	Techo	S-C	88,94	39,02	60,99	1,40	0,48	7,88	8,99	3,40
		F-C	87,50	38,59	61,41	0,84	0,37	3,30	12,00	6,80
	Intemperie	S-C	86,42	37,45	63,04	0,49	0,37	7,65	11,43	7,56
		F-C	89,00	39,06	60,93	0,45	0,35	7,99	9,09	3,18
3	Techo	S-C	88,30	39,70	60,30	1,49	0,53	7,93	6,84	8,12
		F-C	82,91	37,48	62,52	0,08	0,36	1,52	5,26	6,14
	Intemperie	S-C	87,68	36,19	63,81	0,60	0,38	7,27	12,99	7,30
		F-C	82,70	12,01	87,99	0,60	0,31	2,66	3,46	6,64
4	Techo	S-C	89,21	37,07	62,93	0,88	0,43	8,44	15,75	3,70
		F-C	87,85	40,03	59,97	1,15	0,38	7,76	13,16	2,46
	Intemperie	S-C	87,14	25,29	74,71	1,08	0,30	3,58	10,89	3,89
		F-C	90,83	44,38	55,62	1,85	0,42	10,83	12,00	2,18
5	Techo	S-C	88,02	35,58	65,42	0,41	0,26	7,88	7,51	2,50
		F-C	84,87	32,04	67,96	0,29	0,26	5,91	6,61	2,97
	Intemperie	S-C	85,99	31,70	68,30	0,42	0,44	6,62	11,42	7,14
		F-C	84,98	28,52	71,48	0,09	0,21	6,28	9,99	3,33
6	Techo	S-C	83,94	38,77	61,23	0,49	0,19	5,09	11,21	2,08
		F-C	83,14	34,38	65,62	0,26	0,24	4,93	6,52	2,96
	Intemperie	S-C	87,90	34,81	65,19	2,97	0,26	8,20	6,60	1,23
		F-C	87,84	34,04	65,96	0,61	0,00	3,78	5,75	4,11
7	Techo	S-C	88,78	41,83	58,17	0,57	0,69	4,74	10,69	3,56
		F-C	90,00	44,03	55,97	2,15	0,86	3,99	13,00	7,00
	Intemperie	S-C	89,00	38,19	61,81	0,5454	0,71	7,42	3,63	5,45
		F-C	91,35	45,37	54,63	3,2946	0,99	3,22	11,56	3,46
8	Techo	S-C	84,81	30,74	65,26	0,1974	0,25	5,47	9,87	1,97
		F-C	83,97	30,02	69,98	0,1872	0,10	2,43	6,24	0,93
	Intemperie	S-C	86,54	32,54	67,46	0,0372	0,18	6,18	5,20	1,48
		F-C	85,09	37,75	62,25	0,6039	0,16	5,79	16,10	1,67

Anexo 6. Caracterización del % de extracción de materia orgánica del ácido húmico

Tiempo (semana)	Condiciones Almacenamiento	Combinaciones	% Extracción (MO)
1	Techo	S-C	9,05
		F-C	6,75
	Intemperie	S-C	6,01
		F-C	6,82
2	Techo	S-C	89,90
		F-C	2,93
	Intemperie	S-C	28,71
		F-C	39,71
3	Techo	S-C	12,91
		F-C	40,33
	Intemperie	S-c	9,21
		F-C	26,54
4	Techo	S-C	12,97
		F-C	18,36
	Intemperie	S-C	12,58
		F-C	12,31
5	Techo	S-C	38,86
		F-C	17,16
	Intemperie	S-C	10,94
		F-C	13,14
6	Techo	S-C	14,30
		F-C	18,50
	Intemperie	S-C	8,71
		F-C	12,49
7	Techo	S-C	16,41
		F-C	13,46
	Intemperie	S-C	14,94
		F-C	4,67
8	Techo	S-C	17,65
		F-C	21,81
	Intemperie	S-C	8,65
		F-C	14,00

Anexo 7. Resultados experimentales

Tiempo	Cond.	Comb.	NaOH (mL)	H ₂ SO ₄ (mL)	H ₂ O EB (mL)	H ₂ O (MP)	H ₂ O (adicional)
1	Techo	S-C	200	4,3	200	27,12	172,87
		F-C	200	4,5	200	27,12	172,87
	Intemperie	S-C	200	5	200	7,40	192,59
		F-C	200	4,8	200	7,40	192,59
2	Techo	S-C	200	0	200	45,72	154,27
		F-C	200	4,1	200	45,72	154,27
	Intemperie	S-C	200	2,5	200	5,87	194,12
		F-C	200	4	200	5,87	194,12
3	Techo	S-C	200	4,4	200	4,02	195,97
		F-C	200	5	200	4,02	195,97
	Intemperie	S-C	200	5	200	3,70	196,29
		F-C	200	5,3	200	3,70	196,29
4	Techo	S-C	200	4,8	200	3,49	196,50
		F-C	200	5	200	3,49	196,50
	Intemperie	S-C	200	5,2	200	3,57	196,42
		F-C	200	5,1	200	3,57	196,42
5	Techo	S-C	200	4,3	200	2,35	197,64
		F-C	200	4,5	200	2,35	197,64
	Intemperie	S-C	200	4	200	3,71	196,28
		F-C	200	4,2	200	3,71	196,28
6	Techo	S-C	200	3,5	200	9,62	190,37
		F-C	200	4,3	200	9,62	190,37
	Intemperie	S-C	200	4,1	200	36,19	163,80
		F-C	200	2,5	200	36,19	163,80
7	Techo	S-C	200	4	200	3,08	196,91
		F-C	200	5,5	200	3,08	196,91
	Intemperie	S-C	200	3	200	53,58	146,41
		F-C	200	2,5	200	53,58	146,41
8	Techo	S-C	200	4	200	9,54	190,45
		F-C	200	4,5	200	9,54	190,45
	Intemperie	S-C	200	2	200	72,29	127,70
		F-C	200	3	200	72,29	127,70

Anexo 8. Resultados de la cantidad de reactivos y materia prima necesarios para producir el ácido húmico

Tiempo (semana)	Condiciones almacenamiento	Combinaciones	kg (AH)	kg (AF)	kg (MP)	kg (NaOH)	kg (H ₂ SO ₄)	kg (H ₂ O _{EB})	kg (H ₂ O _{adic})	kg (H ₂ O _{total})
1	Techo	S-C	33,33	239,84	79,32	13,46	13,24	2.786,88	2.408,91	5.195,79
		F-C	33,33	654,99	167,09	28,36	29,19	3.828,56	3.309,30	7.137,86
	Intemperie	S-C	33,33	416,38	67,15	19,60	22,42	4.319,72	4.159,87	8.479,59
		F-C	33,33	896,04	130,46	38,09	41,82	5.158,00	4.967,13	10.125,12
2	Techo	S-C	33,33	0,00	106,85	13,00	0,00	323,54	249,58	573,12
		F-C	33,33	1086,68	413,32	50,30	47,18	10.011,58	7.722,70	17.734,28
	Intemperie	S-C	33,33	193,59	26,13	8,08	4,62	200,99	195,08	396,07
		F-C	33,33	45,51	9,07	2,80	2,56	634,71	616,05	1.250,75
3	Techo	S-C	33,33	270,92	28,19	9,38	9,44	1.996,11	1.955,92	3.952,03
		F-C	33,33	149,51	13,66	4,55	5,20	662,29	648,96	1.311,25
	Intemperie	S-C	33,33	459,27	44,89	15,15	17,32	3.058,90	3.002,19	6.061,09
		F-C	33,33	309,71	30,15	10,17	12,33	1.463,33	1.436,20	2.899,52
4	Techo	S-C	33,33	232,27	26,911	9,16	10,06	2.112,39	2.075,46	4.187,85
		F-C	33,33	206,81	20,39	6,94	7,94	1.421,61	1.396,76	2.818,37
	Intemperie	S-C	33,33	464,81	42,47	14,41	17,14	2.787,89	2.738,07	5.525,96
		F-C	33,33	265,81	23,04	7,81	9,12	2.121,12	2.083,22	4.204,33
5	Techo	S-C	33,33	105,89	10,40	3,72	3,66	773,25	764,14	1.537,38
		F-C	33,33	328,90	30,918	11,06	11,38	1.819,00	1.797,57	3.616,57
	Intemperie	S-C	33,33	449,35	43,18	14,57	13,33	2.587,02	2.539,02	5.126,03
		F-C	33,33	360,45	40,32	13,60	13,07	2.253,01	2.211,20	4.464,21
6	Techo	S-C	33,33	346,63	49,37	13,33	10,67	2.064,97	1.965,54	4.030,51
		F-C	33,33	285,24	42,93	11,59	11,40	1.710,42	1.628,07	3.338,49
	Intemperie	S-C	33,33	205,70	101,24	14,41	13,51	2.963,00	2.426,76	5.389,76
		F-C	33,33	158,75	71,76	10,21	5,84	2.089,85	1.711,63	3.801,48
7	Techo	S-C	33,33	200,36	22,49	7,796	7,13	1.728,50	1.701,85	3.430,35
		F-C	33,33	257,21	23,52	8,15	10,25	2.028,34	1.997,06	4.025,40
	Intemperie	S-C	33,33	154,83	78,85	8,57	5,88	1.938,81	1.419,37	3.358,18
		F-C	33,33	318,77	175,18	19,04	10,89	5.477,02	4.009,63	9.486,65
8	Techo	S-C	33,33	255,84	42,99	11,64	10,65	1.906,76	1.815,78	3.722,54
		F-C	33,33	244,17	39,38	10,66	10,97	1.655,06	1.576,10	3.231,16
	Intemperie	S-C	33,33	183,29	203,71	17,65	8,07	3.263,37	2.083,77	5.347,14
		F-C	33,33	188,26	128,70	11,15	7,65	1.861,28	1.188,49	3.049,78

Anexo 9. Resultados del beneficio bruto

Tiempo	Cond.	Comb.	Costo H ₂ O(\$/kg)	Costo H ₂ SO ₄ (\$/kg)	Costo NaOH(\$/kg)	Costo.Transp. MP(\$/kg)	CP	Costo AH(\$/kg)	Costo AF(\$/kg)	VP	BB
1	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	9,87	11,55	1,75	804,68	794,82
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	20,34	11,55	1,75	1531,20	1510,87
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	13,94	11,55	1,75	1113,64	1099,70
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	26,24	11,55	1,75	1953,03	1926,79
2	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	8,02	11,55	1,75	384,96	376,94
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	36,52	11,55	1,75	2286,65	2250,13
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	5,39	11,55	1,75	723,74	718,35
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	2,42	11,55	1,75	464,60	462,19
3	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	6,75	11,55	1,75	859,07	852,32
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	3,68	11,55	1,75	646,61	642,93
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	10,82	11,55	1,75	1188,68	1177,87
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	7,57	11,55	1,75	926,96	919,38
4	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	6,72	11,55	1,75	791,45	784,73
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	5,29	11,55	1,75	746,89	741,60
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	10,42	11,55	1,75	1198,39	1187,97
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	5,90	11,55	1,75	850,14	844,23
5	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	3,03	11,55	1,75	570,27	567,24
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	7,85	11,55	1,75	960,54	952,68
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	9,93	11,55	1,75	1171,33	1161,40
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	9,40	11,55	1,75	1015,76	1006,36
6	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	9,03	11,55	1,75	991,56	982,53
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	8,25	11,55	1,75	884,14	875,89
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	10,63	11,55	1,75	744,95	734,32
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	7,14	11,55	1,75	662,78	655,64
7	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	5,59	11,55	1,75	735,60	730,01
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	6,24	11,55	1,75	835,08	828,84
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	6,46	11,55	1,75	655,93	649,47
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	13,37	11,55	1,75	942,82	929,45
8	Techo	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	8,16	11,55	1,75	832,68	824,51
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	7,71	11,55	1,75	812,26	804,55
	Intemperie	S-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	12,67	11,55	1,75	705,72	693,05
		F-C	0,00155	0,15	0,461	0,0138	8,57	11,55	1,75	714,42	705,85

