



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
COLEGIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**"EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS EN  
LOMBRICOMPOSTAS COMPARANDO DOS  
SOLUCIONES EXTRACTORAS"**

**TESIS PROFESIONAL**

Que para obtener el Título de:

**Ingeniero Ambiental**

Presenta:

**YURIRIA SOLANO RAMÍREZ**

Director de Tesis:

**M.C. José Antonio Ticante Roldán**



**Septiembre 2014**



**C. YURIRIA SOLANO RAMÍREZ  
PASANTE  
LICENCIATURA EN INGENIERÍA AMBIENTAL  
PRESENTE:**

**Oficio No. FIQ/AC/1259/2013  
Asunto: Registro de Tema de Tesis  
Fecha: 02 de Diciembre de 2013**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería Ambiental cuyo título es el siguiente:

**“EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS EN LOMBRICOMPOSTAS COMPARANDO DOS SOLUCIONES EXTRACTORAS”**

Con el siguiente contenido:

**INTRODUCCIÓN**

<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>ANTECEDENTES</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>METODOLOGÍA</b>
<b>CAPÍTULO 3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>

**CONCLUSIONES  
BIBLIOGRAFÍA**

Director de Tesis: M.C. José Antonio Ticante Roldán

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO.**

**ATENTAMENTE**  
**“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”**

  
**M.I.C. MA. GPE. TITA VÁZQUEZ E. DE LOS MONTEROS  
SECRETARIA ACADÉMICA**

**SECRETARIA  
ACADÉMICA**

C.c.p. Director de Tesis: M.C. José Antonio Ticante Roldán  
Archivo.



# Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA

LIC. Ma. Cristina Laura Gómez Aguirre.  
Directora de la Administración Escolar  
De la BUAP.  
Presente

ASUNTO:  
AUTORIZACIÓN  
IMPRESIÓN DE TESIS

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería Ambiental....:

**Yuriria Solano Ramírez**

Quién presenta como tema de tesis:

**“EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS EN LOMBRICOMPOSTAS  
COMPARANDO DOS SOLUCIONES EXTRACTORAS”**

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

**“Pensar Bien, para Vivir Mejor”**

H. Puebla de Z., a 10 de Septiembre de 2014

Director de Tesis  
M.C. José Antonio Ticante Roldán

## Agradecimientos

---

Con dedicación muy especial a:

Dios por darme el regalo de la vida y haberme permitido terminar este gran logro  
llevándome de su mano.

Mis padres: El Lic. Gaudencio Solano Solano y la Lic. Amparo Ramírez Leal a los que  
nunca terminare de agradecer su infinito amor, paciencia y apoyo incondicional para  
culminar este proyecto.

Mis hermanos: Tayu, Yalu y Nereida los cuales fueron parte importante de inspiración y  
esfuerzo.

Mi cuñada y Sobrino: Yolanda y José Tayu quienes son parte fundamental de mi vida y aun  
los que vienen en camino.

Toda mi familia, los que se fueron, los que están, y los que vienen en camino, ya que ellos  
son el pilar fundamental de mi existencia.

Tomas Gonzales Benítez por el amor, paciencia y apoyo incondiciona.

A mis Compañeros y Amigos: Ramiro, Vicky Delia Carolina, Yola Yanet, Paty, Pao,  
Dulce, Analilia, Chava, Lupis, Yoba, Cheli y demás que me faltaron a todos muchas  
gracias por su amistad y compartir grandes momentos a su lado en la universidad, aunque  
no siempre estábamos de acuerdo, fue parte de nuestro crecimiento.

MET: Lider: David, Ladye, Mariela, y los demás que forman parte gracias por sus  
consejos, amistad y apoyo.

Dra. Gladys Linares Fleites por su apoyo incondicional en la culminación de este proyecto  
así como el valioso aprendizaje adquirido.

Asesor de Tesis: MC. José Antonio Ticante Roldán por la paciencia en todo el proceso de  
la tesis, por su apoyo, conocimiento, material, así como el valioso aprendizaje adquirido en  
su forma de trabajo y convivencia.

# Índice

---

<b>Índice.....</b>	<b>i</b>
<b>Índice de esquemas.....</b>	<b>iii</b>
<b>Índice de imágenes.....</b>	<b>iii</b>
<b>Índice de tablas.....</b>	<b>iii</b>
<b>Índice de gráficos.....</b>	<b>iv</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>v</b>
<b>Capítulo 1 Antecedentes.....</b>	<b>1</b>
1.1 El suelo.....	1
1.1.2 Calidad del suelo.....	2
1.1.3 Propiedades de los suelos que inciden en su calidad. ....	3
1.1.4. La materia orgánica y su importancia.....	3
1.1.5. Importancia de la materia orgánica sobre las propiedades de los suelos.....	4
1.1.6. Proceso de transformación de la materia orgánica.....	5
1.1.7. Abonos orgánicos.....	5
1.1.7.1 Humus de lombriz .....	6
1.1.7.2 Composición.....	6
1.2 Proceso de compostaje y humificación.....	7
1.2.1 Sustancias húmicas.....	8
1.2.2 Definición, Fraccionamiento .....	8
1.3 Extracción de sustancias húmicas.....	10
1.4 Métodos de extracción .....	11
1.5 Extracción alcalina de las sustancias húmicas (SH) .....	13
1.6 Extractantes suaves de las SH .....	13
1.7 Factores que influyen en la extracción .....	15
1.8 Fraccionamiento de las SH.....	17
1.9 Estructura de las sustancias húmicas .....	18
1.10 Funciones de las sustancias húmicas .....	21

# Índice

---

<b>Capítulo 2. Metodología.....</b>	<b>25</b>
2.1 Preparación de la muestra y procedimiento de extracción.....	26
2.1.1 Preparación de la muestra .....	26
2.2 Preparación de las soluciones extractoras .....	26
2.2.1 Preparación de la solución Stock.....	28
2.2.2 Preparaciones de las soluciones estándar .....	29
2.2.3 Preparación de la curva estándar .....	29
2.2.4 Procedimiento de la extracción.....	29
<b>Capítulo 3. Resultados y discusión.....</b>	<b>30</b>
3.1 Especificaciones de Curva de calibración .....	30
3.2 Generación de la base de datos para análisis estadísticos .....	32
3.3 Generación de graficas para análisis estadísticos.....	34
3.4 Contenido en % de Carbono de los Ácidos Húmicos (%C de los AH) .....	42
3.5 Análisis estadístico .....	43
3.6 Análisis de varianza ANOVA .....	46
<b>Conclusiones.....</b>	<b>48</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>50</b>

# Índice

---

## Índice de esquemas

Esquema 1.- Distintas fracciones orgánicas en el suelo. Tomada de Drozd et al. (1996) .....	9
Esquema 2.-Etapas a seguir para evaluar la eficiencia de extracción a muestras de humus de lombriz .....	25

## Índice de imágenes

Figura 1.- Fraccionamiento de las sustancias Húmicas con base en sus características de solubilidad (Stevenson, 1994).....	17
Figura 2.-Estructura química para los ácido húmico propuesta por Schulten et al en 1993.....	20
Figura 3.-Estructura química tridimensional para un ácido húmico propuesta por Schulten en 1996.. ..	21
Figura 4.-Determinación de ácidos húmicos (Diagrama de flujo DTPA).....	27
Figura 5.-Determinación de ácidos húmicos (Diagrama de flujo Kononova).....	28

## Índice de Tablas

Tabla 1.-Porcentaje de elementos por 100 g de peso seco de humus de lombriz.....	7
Tabla 2.-Reactivos usados en la extracción de sustancias húmicas (Stevenson, 1994).....	12
Tabla 3.-Grupos funcionales presentes en las sustancias húmicas (Stevenson, 1994).....	19
Tabla 4.-Base de datos obtenida para la elaboración de la curva de calibración correspondiente a la solución extractora DTPA. Fuente propia.....	30
Tabla 5.-Base de datos obtenida para la elaboración de la curva de calibración correspondiente a la solución extractora KONONOVA. Fuente propia.....	31
Tabla 6.-Información de la Absorbancia según su hora de agitación.....	32
Tabla 7.-Promedio de las absorbancias de cada muestra según su hora de agitación .....	33
Tabla 8.-Absorbancia y ppm obtenidos con la curva de calibración de DTPA.....	35
Tabla 9.-Absorbancia y ppm obtenidos con la curva de calibración de Kononova.....	35
Tabla 10.-% de C de los AH y % ppm de C de AH utilizando la ecuación 1 y 2 con el extractante DTPA.....	43
Tabla 11.-% de C de los AH y % ppm de C de AH utilizando la ecuación 1 y 2 con el extractante KONONOVA .....	43

# Índice

---

Tabla 12.-% de M.O y % de CO de todas las muestras .....	44
Tabla 13.-%C de AH considerando que %CO ligado es el 100% .....	45

## Índice de Gráficos

Grafica 1.- Curvas de calibración de las soluciones extractoras DTPA y KONONOVA .....	31
Grafica 2.-Absorbancia Vs Extractante de cada muestra.....	34
Grafica 3.-Extracción de AH dependiendo de las horas de agitación y los extractantes correspondientes.....	36
Grafica 4.-Interpolación de puntos en la curva de calibración DTPA basado en la tabla 8.....	37
Grafica 5.-Interpolación de puntos en la curva de calibración KONONOVA basado en la tabla 9. ....	37
Grafica 6.-Extracción dependiendo de las horas de agitación y los extractantes correspondientes...38	
Grafica 7.-Interpolación de puntos en la curva de calibración DTPA basado en la tabla 8 .....	39
Grafica 8.-Interpolación de puntos en la curva de calibración KONONOVA basado en la tabla 9. ....	39
Grafica 9.-Extracción dependiendo de las horas de agitación y los extractantes correspondientes...40	
Grafica 10.-Interpolación de puntos en la curva de calibración DTPA basado en la tabla 8.....	41
Grafica 11.-Interpolación de puntos en la curva de calibración KONONOVA basado en la tabla 9.....	41
Grafica 12.-Análisis de varianza ANOVA del promedio de las muestras estudiadas con ambas soluciones extractoras. ....	46

## *Introducción*

---

Las sustancias húmicas en la actualidad tienen una gran importancia debido a las funciones que pueden ejercer en la disponibilidad de nutrientes actuando como un agente quelante y/o acarreador de cationes. La mayoría de la investigación hecha hasta el momento se ha enfocado a estudiar su estructura, función y las ventajas que ofrece en la aplicación de cultivos (Hernández 2011).

Los ácidos húmicos y fúlvicos, junto con otros materiales orgánicos de naturaleza coloidal, son sustancias fascinantes que tienen profundas consecuencias en el medio ambiente (Gaffney et al. (1996). Las propiedades específicas de los productos ácidos húmicos permiten su aplicación en la industria, la agricultura, el medio ambiente y la biomedicina. (Peña, Havel, and Patocka, 2005).

Las sustancias húmicas tienen profundos efectos físicos, químicos y biológicos sobre el suelo, especialmente para el crecimiento de las plantas; además, influyen en la movilidad de compuestos orgánicos no iónicos como pesticidas y contaminantes removiéndolos de las soluciones acuosas, retienen los nutrimentos por sus propiedades de intercambio catiónico y son fuente de N, P y S para las plantas (Stevenson, 1994; Popov, 2008).

Las sustancias húmicas (humus), son Materia Orgánica, transformada cuya composición depende en cierta forma del origen de la misma (residuos orgánicos, humus de lombriz, composta, lixiviados, etc.).

El estudio de las sustancias húmicas existe de tiempo atrás, para lo cual se han desarrollado diferentes soluciones extractoras de las mismas, tanto para suelos como para materiales orgánicos.

Las soluciones extractoras están en función de los reactivos utilizados y las condiciones del pH de las mismas, aunado a la eficiencia de extracción, el tiempo de tratamiento (agitación) para lograr un mejor rendimiento, sin que esto altere la composición química de las sustancias húmicas etc.



## Introducción

---

Para la obtención de sustancias húmicas, tiene que haber un proceso de mineralización (transformación de compuestos orgánicos en inorgánicos) y humificación (síntesis y/o unión química y/o biológica de compuestos de degradación de residuos de origen vegetal y animal), para transformarse en humus. (Hernández 2011).

Todos los elementos del suelo presentan semejanzas y diferencias en su comportamiento, estando fuertemente afectados por la reacción del medio (acidez o basicidad), por la adsorción a los coloides inorgánicos y orgánicos, o bien pueden estar sujetos a reacciones redox. Por ello, no es sorprendente que los diversos métodos existentes y sus variantes conduzcan a resultados distintos dificultando su interpretación. Sería razonable suponer que el éxito o fracaso del análisis estaría asociado con la adecuada elección de la solución o proceso de extracción (Raij *et al.*, 2001).

Resulta primordial conocer el contenido total de elementos de un suelo ya que permite hacer una apreciación sobre la abundancia y distribución de estos, auxiliando a la caracterización del suelo, así como evaluar la fracción disponible para las plantas para orientar o incluso, predecir deficiencias o excesos de elementos en un suelo dado. No obstante, el análisis de estos puede resultar muy complejo debido, entre otros aspectos, a las bajas concentraciones en las que pueden hallarse. Se han utilizado varios extractantes para evaluar los elementos en los suelos, comprobándose que la forma química del elemento y las características del suelo afectan a la facilidad para su extracción (Berrow & Mitchell, 1980).

# Introducción

---

## JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo se desarrollo con la finalidad de evaluar el rendimiento de la extracción de las Sustancias Húmicas en muestras de lombricompostas, utilizando dos soluciones extractantes, solución de Kononova ya que esta se utiliza primordialmente para fracciones de materia orgánica del suelo y solución de DTPA que se viene utilizando para el estudio de sustancias húmicas en humus de lombriz.

## OBJETIVO GENERAL

- Comparar dos soluciones extractoras, (ácido dietilentriaminopentaacético DTPA, Hidróxido de sodio NaOH y Etanol C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) y Kononova (Pirofosfato de sodio Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> e Hidróxido de sodio NaOH) en la obtención de ácidos húmicos en lombricompostas.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Emplear la solución extractora de Kononova en la obtención de los ácidos húmicos.
- Emplear la solución extractora de DTPA para la obtención de los ácidos húmicos.

## HIPÓTESIS

La extracción de ácidos húmicos con la solución de Kononova es la más eficiente para obtener los ácidos húmicos de lombricompostas en comparación con la solución DTPA, tomando en cuenta el rendimiento.

### 1.1 El suelo

El Suelo es un ente natural complejo polifásico y polidinámico. En consecuencia, puede ser conceptualizado desde múltiples perspectivas. No existe ninguna definición inequívoca del suelo, como tampoco la atesoramos de la vida. Conforme vamos descubriendo nuevas perspectivas, va expandiéndose nuestra conciencia de la riqueza inherente al mundo de los suelos.

Pese a todo ello, una posible definición sería “El suelo es un sistema natural, organizado e independiente, cuya formación se debe a la acción conjunta del clima, los organismos, la vegetación, el relieve y el tiempo sobre la roca madre, constituye una matriz de componentes orgánicos y minerales que engloba una red porosa por donde circulan líquidos y gases, albergando numerosas poblaciones de organismos vivos en una situación de equilibrio dinámico” (García, 2013).

Las funciones del suelo son muy diversas y pueden referirse a aspectos ecológicos, técnicos, industriales, socioeconómicos y culturales. Entre las principales destacan las siguientes:

-Función productiva: Ser suministro de nutrientes, aire y agua a las plantas y sostener la actividad, diversidad y productividad biológica de los ecosistemas.

-Función Hidrológica: Regula la infiltración, almacenamiento y flujo de agua superficial y subsuperficial, junto a su calidad.

-Función Medioambiental: Filtrar, amortiguar, degradar, inmovilizar y reducir la toxicidad de compuestas orgánicos e inorgánicos, incluyendo subproductos urbanos e industriales y deposiciones atmosféricas.

-Función Biológica: hábitat de diferentes organismos, conservación de biodiversidad y reserva de genes.

-Función Biogeoquímica: almacenar y posibilitar el ciclo biogeoquímico de nutrientes y otros elementos con efectos sobre el equilibrio energético global.

-Función Socioeconómica: servir de base espacial para las actividades agrícolas, asentamientos humanos e infraestructuras así como ser fuente de materias primas (Porta, 2005):

El suelo no sólo es la base de la agricultura y para los diferentes ecosistemas, sino que además, de él depende toda la vida del planeta. Las prácticas de manejo convencionales como el arado, los patrones de cultivo y el uso de plaguicidas y fertilizantes, han tenido influencia sobre la calidad del agua y de la atmósfera, ya que han generado cambios en la capacidad del suelo para producir y consumir gases como Dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), Óxido nítrico ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y metano ( $\text{CH}_4$ ) (Bastida, 2008)

### 1.1.2 Calidad del suelo

El suelo es un recurso natural no renovable, al menos en una escala de tiempo humano. Tenemos por lo tanto la obligación de mantenerlo y conservarlo para presentes y futuras generaciones. Esto implica la necesidad de adaptarlo a diversos usos (Agricultura, bosque, suelo urbano, industria, etc.), pero siempre tendiendo hacia un manejo sostenible de dicho recurso natural, de manera ordenada y controlada, manteniendo su calidad. Es importante destacar la relevancia de los microorganismos y de su actividad en la calidad de un suelo, y por tanto, en su conservación y mantenimiento, así como en su recuperación cuando se encuentre sometidos a procesos degradativos (Powlson et al., 1987; Ros et al., 2000).

Los microorganismos ejercen una gran influencia en numerosas reacciones de oxidación, hidrólisis y degradación de la materia orgánica, que a su vez tienen un claro reflejo en los ciclos de carbono, nitrógeno, fósforo y otros elementos, estableciendo con ello las condiciones idóneas para el desarrollo de una cubierta vegetal estable, imprescindible para que un suelo posea una calidad adecuada y por supuesto, para que mantenga una fertilidad natural conveniente. Indiscutiblemente, la acción que ejercen los microorganismos se va a ver influenciada por las propiedades físicas existentes (un buen micro hábitat conlleva un óptimo desarrollo microbiano), o las químicas, pero eso resalta aún más la importancia del

estudio y conocimiento de la actividad metabólica, dentro del contexto de la calidad, conservación, o recuperación de suelos, es decir, de su “Sostenibilidad” (Singer & Ewing, 2000).

### **1.1.3 Propiedades de los suelos que inciden en su calidad.**

Todo tipo de vida depende de la calidad del suelo para su supervivencia. Por ende, la protección de este recurso natural debe ser una política nacional e internacional. Para lograr lo anterior y, al mismo tiempo, un manejo adecuado del suelo, es necesario contar con indicadores que permitan evaluar su calidad

Ya que el suelo está formado por material inorgánico (arena, limo y partículas arcillosas), materia orgánica, agua, gases y organismos vivos (lombrices, insectos, algas, bacterias, hongos, etc.), entre los que se produce un intercambio continuo de moléculas mediante procesos físicos, químicos y biológicos, es lógico pensar que para poder establecer su calidad es imprescindible el estudio de todo tipo de propiedades (físicas, químicas, biológicas y microbiológicas)

Es por tanto de gran utilidad llegar a conocer aquellas propiedades que identifican la calidad de un suelo, capaces de determinar si dicha calidad es o no aceptable para que el suelo tenga una funcionalidad aceptable. Existe por ello una necesidad palpable de investigar los diversos criterios a tener en cuenta para valorar la calidad del suelo (García, 2013).

### **1.1.4. La materia orgánica y su importancia**

El término Materia Orgánica del suelo (MOS), se refiere a la suma total de las sustancias orgánicas que contienen carbono, consiste en una mezcla de residuos de plantas y animales en varios estados de descomposición, sustancias sintetizadas microbiológica y/o químicamente de los productos de descomposición y los cuerpos de microorganismos vivos y muertos así como sus remanentes en descomposición (Schnitzer y Khan, 1978).

De acuerdo a (Chafetz *et al* 2002), la principal porción de la materia orgánica consiste en sustancias húmicas (SH). Además de ser uno de los factores más importantes para

determinar la productividad del suelo o sustrato en forma sostenida, por lo cual constituye un factor principal que garantiza el manejo ecológico del suelo (Peña, 2008).

### **1.1.5. Importancia de la materia orgánica sobre las propiedades de los suelos**

La aplicación de materia orgánica de forma sistemática al suelo es de trascendental importancia para mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y buscar la sustentabilidad agrícola de nuestros sistemas productivos. La influencia favorable de la materia orgánica en los suelos ha sido reconocida desde la antigüedad y aun en nuestro siglo no ha perdido vigencia este concepto, baste decir que se considera su presencia un factor distintivo entre el suelo y la corteza mineral.

#### Influencia sobre las propiedades físicas

- Produce agregación en los suelos mejorando su estructura.
- Proporciona porosidad en los suelos arcillosos
- Aumenta la permeabilidad hídrica y gaseosa
- Mejora el balanceo hídrico
- Regula la temperatura del suelo
- Reduce la erosión
- Reduce la evaporación

#### Influencia sobre las propiedades químicas

- Aumenta la capacidad de intercambio catiónico
- Mantiene los micro y macroelementos potenciales alrededor del sistema radical de las plantas.
- Facilita la absorción de nutrientes por las plantas
- Tiene efecto quelante sobre el hierro, manganeso, zinc, cobre y otros microelementos.

### Influencia sobre las propiedades biológicas

- Estimula la microflora del suelo.
- Modifica la actividad enzimática.
- Favorece la respiración radical.
- Favorece la capacidad germinativa de las semillas.
- Mejora los procesos energéticos de las plantas.
- Favorece la síntesis de ácidos nucleídos.
- El Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) desprendido favorece la solubilización de compuestos minerales

#### **1.1.6. Proceso de transformación de la materia orgánica**

El proceso de transformación de la materia orgánica se clasifica en descomposición (degradación), humificación y mineralización. La biomasa que cae al suelo es sometida a un proceso de mineralización hasta CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y elementos minerales que son tomados por la planta y un proceso contrario que es la humificación donde ocurre una transformación en productos orgánicos complejos y estables que constituyen la reserva orgánica de los suelos y que se conoce como humus.

De los restos vegetales que caen al suelo, el 70 a 80% se mineralizan aportando de esta forma nutrientes para las plantas y de un 20 a 30% se convierte en humus. El humus es fuente directa de una serie de nutrientes que toman las plantas durante su crecimiento además, su composición química permite establecer enlaces con algunos elementos, evitando la pérdida de ellos por lavado o por formación de compuestos insolubles

#### **1.1.7. Abonos orgánicos**

El abono orgánico es un producto natural resultante de la descomposición de materiales de origen vegetal, animal o mixto, que tiene la capacidad de mejorar la fertilidad del suelo y por ende la producción y productividad de los cultivos. Se dice que la aplicación de este fertilizante puede llegar a sustituir los fertilizantes químicos, además de reducir los efectos

que han ocasionado estos (Xelhuantzi, Salazar, Domínguez, Arias, Chávez y Galindo, 2012).

### **1.1.7.1 Humus de lombriz**

El humus de lombriz es un apreciable producto, resultado de la ingestión y digestión de diferentes residuos orgánicos por parte de la lombriz, por lo cual, se le considera como el conjunto de excretas o heces fecales de las lombrices; con apariencia muy similar a la de tierra negra y fresca, es un sustrato estabilizado de gran uniformidad con altos contenidos nutrimentales y excelente estructura física, porosidad, aireación, drenaje y capacidad de retención de humedad (Mendoza, 2006).

Este material es conocido también como vermicomposta y lombricomposta. Es un fertilizante bioorgánico, de aspecto esponjoso, suave, ligero, granular, de color oscuro y con agradable olor a bosque. Es más biodinámico tiene un mayor contenido mineral, contiene un mayor número de componentes (enzimas, hormonas, vitaminas, población microbiana, etc.) (Pineda, 1994).

Su color oscurece y hace que el suelo absorba más calor, influye en la textura del suelo debido a la cantidad de complejos coloidales que aporta. El humus de lombriz como coloide, retienen por absorción el agua de las sales útiles a las plantas. Además, es fuente de nitrógeno (Reines, et al., 1998).

### **1.1.7.2 Composición**

La composición y calidad del humus de lombriz está en función del valor nutritivo de los desechos que consume la lombriz. Un manejo adecuado de los desechos, una mezcla bien balanceada, permite tener un material de excelente calidad. La cantidad de nutrimentos contenidos en el humus de lombriz es muy variable (López, 2006).

Tabla 1.- Porcentaje de elementos por 100 g de peso seco de humus de lombriz.

<b>N</b>	<b>0.8-2.0%</b>
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	<b>0.5-0.7%</b>
<b>K<sub>2</sub>O</b>	<b>0.3-0.6%</b>
<b>CaO</b>	<b>3.6-4.4%</b>
<b>MgO</b>	<b>0.4-0.5%</b>
<b>Cu</b>	<b>50-60ppm</b>
<b>Zn</b>	<b>150-170ppm</b>
<b>Mn</b>	<b>500-550 ppm</b>
<b>M.O</b>	<b>30-45%</b>
<b>Rel. C/N</b>	<b>10-12%</b>
<b>Humedad</b>	<b>45-55%</b>
<b>Ac. Fúlvicos</b>	<b>6%</b>
<b>Ac. Húmicos</b>	<b>20%</b>
<b>pH</b>	<b>6.8-7.5%</b>
<b>Colonias Bacterianas</b>	<b>2*10<sup>12</sup> col./g</b>

Fuente: Reines, et al., 1998.

### 1.2 Proceso de compostaje y humificación

El compostaje es un proceso de descomposición y humificación que determina la disponibilidad de nutrientes y efecto de la ecología microbiana (Rajae et al., 2008). Los composts tienen una cantidad sustancial de materia orgánica, con una cantidad significativa de SH (Chang Chien et al., 2006).

La humificación es considerada como un proceso importante durante el compostaje donde hay formación de SH y descomposición de sustancias no húmicas (Rodríguez, 2008).

Durante el proceso de compostaje la humificación de la MOS ocurre principalmente en la fracción de los AH y poco en la de los AF (Huang et al., 2006). La humificación que ocurre en el suelo depende tanto de la composición química de los residuos orgánicos y condiciones del suelo que son influenciadas por la actividad de los microorganismos

(Kononova, 1966), como de las condiciones climáticas y puede ser responsable del aumento de la proporción de los AH durante el compostaje (Huang et al., 2006).

### 1.2.1 Sustancias húmicas

Las sustancias húmicas son compuestos orgánicos coloidales de alto peso molecular, de color oscuro, que contienen núcleos aromáticos más o menos esféricos, resultantes de la participación y condensación de compuestos fenólicos ligados entre sí por cadenas alifáticas (péptidos y polisacáridos) más o menos largas. El tamaño global de la molécula, el largo relativo de las cadenas, el tamaño de los núcleos y el número de grupos funcionales (sobre todo carboxílicos y fenólicos) determinan su grado de solubilidad e influencia sobre las propiedades del suelo (Xelhuantzi y col, 2012).

El término sustancias húmicas (SH), se refiere a una categoría de materiales originados naturalmente encontrados en:

- Suelos, sedimentos y aguas naturales; son el producto de la descomposición de residuos de plantas y animales (Stevenson, 1994; MacCarthy, 2001);
- Constituyen la fracción de la MOS mas importante por su efecto en la ecología, estructura y fertilidad del suelo, así como en el crecimiento de las plantas (Huang et al., 2006);
- Son de primordial importancia en el control del destino de los contaminantes del ambiente y la Biogeoquímica del Carbono Orgánico (CO) en el ecosistema (Rodríguez, 2008).

### 1.2.2 Definición, Fraccionamiento

De Saussure (1804) fue el primero en utilizar la palabra “humus” (que en latín significa suelo) para describir el material orgánico de color oscuro presente en el suelo. Este autor observó que el humus era más rico en Carbono (C) y más pobre en Hidrogeno (H) y Oxigeno (O) que el material vegetal de origen.

En la actualidad, el término “humus” todavía no se emplea de manera específica y concreta. Mientras que para algunos autores este término significa lo mismo que materia orgánica del

## Capítulo 1: Antecedentes

suelo, incluyendo sustancias húmicas, materiales orgánicos identificables de elevado peso molecular, como polisacáridos y proteínas, y sustancias simples como azúcares, aminoácidos y otras moléculas, pero excluyendo los tejidos de plantas y animales no descompuestos, los productos de descomposición parcial y la biomasa del suelo (Stevenson, 1994, MacCarthy et al., 1990).

La materia orgánica del suelo o humus incluye un amplio espectro de constituyentes orgánicos, muchos de los cuales proceden de tejidos biológicos. Podemos distinguir dos grandes grupos, las sustancias no húmicas y las sustancias húmicas (Gaffney et al. 1996).



Esquema 1.-Distintas fracciones orgánicas en el suelo. Tomada de Drozd et al. (1996).

Las sustancias no húmicas comprenden aquellos compuestos orgánicos que pertenecen a especies químicamente reconocibles y no son exclusivas del suelo:

## Capítulo 1: Antecedentes

Polisacáridos.	-Carbohidratos simples.	
Amino azúcares.	-Proteínas.	
Aminoácidos.	-Ácidos grasos.	
Ceras.	-Lignina.	
Resinas	-Pigmentos.	
Ácidos nucleicos.	-Hormonas.	-Ácidos orgánicos

La mayoría de estas sustancias son fácilmente degradables, pueden ser utilizadas como sustrato por los microorganismos del suelo y tienen una existencia transitoria en el mismo (Gaffney et al. 1996).

Las sustancias húmicas las define Aiken et al. (1985) como una categoría de sustancias de color amarillo a negro, de elevado peso molecular y propiedades refractarias.

### 1.3 Extracción de sustancias húmicas

Vaughan y Ord (1985); Hayes (1985) y Stevenson (1994) señalan que la primera extracción de las sustancias húmicas se atribuye a Achard quien intentó hacer la extracción del humus del suelo por medio de una solución de hidróxido de sodio (NaOH), extrajo turba y después de acidificarla obtuvo un precipitado amorfo oscuro al que subsecuentemente se le denominó ácido húmico.

Las sustancias húmicas son omnipresentes, y se encuentran en todos los suelos, sedimentos y aguas. Dentro de estas sustancias heterogéneas, de naturaleza coloidal que hemos llamado sustancias húmicas, encontramos dos grupos de compuestos conocidos como ácidos húmicos y ácidos fúlvicos que se pueden definir como:

- Ácidos húmicos: Material orgánico de color oscuro que puede ser extraído del suelo por álcalis y otros reactivos y que es insoluble en ácido diluido.
- Ácidos fúlvicos: Fracción de la materia orgánica del suelo que es soluble en álcali y ácido (Stevenson, 1994).

A pesar de que los ácidos húmicos y fúlvicos comparten en gran medida los efectos en el suelo y en el vegetal, su diferente estructura y propiedades físico-químicas hacen que sean unos u otros más eficaces para determinadas funciones. Desde entonces se han hecho diversos intentos por conocer su composición y estructura química empleando diversas técnicas y obteniendo resultados químicamente similares; sin embargo, no ha habido un acuerdo en común en cuanto a su estructura, ya que los modelos propuestos hasta la fecha no reúnen los requisitos que expliquen sus propiedades y comportamiento en la naturaleza (Orlov, 1995).

El principal objetivo de la extracción es aislar los materiales húmicos en altas cantidades con la mínima alteración de las sustancias de composición en forma natural en su ambiente. La sugerencia más reciente es que se use fluido supecrítico como extractante (Schnitzer, 1990).

### 1.4 Métodos de extracción

Los procedimientos de extracción constituyen la fase más crítica en el estudio de las sustancias húmicas, habiéndose esto estudiado intensamente desde hace más de dos siglos. El extractante ideal debería solubilizar estas sustancias sin producir cambios en su estructura molecular y propiedades (Schnitzer, 1978).

Según Stevenson (1994), el método de extracción idóneo debe cumplir los siguientes objetivos:

- El método utilizado no debe alterar la materia orgánica aislada.
- Las sustancias húmicas obtenidas deben estar libres de impurezas inorgánicas como pueden ser arcillas y cationes polivalentes.
- La extracción se puede considerar completa si el peso molecular medio de la fracción obtenida es representativo de la muestra.
- El método debe ser universal para cualquier tipo de sustrato.

## Capítulo 1: Antecedentes

Existen numerosos métodos de extracción de las sustancias húmicas del suelo, que podemos agrupar en tres grupos generales: Bases fuertes, sales neutras y quelatos orgánicos.

Tabla 2.-Reactivos usados en la extracción de sustancias húmicas (Stevenson, 1994).

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	% MATERIA ORGÁNICA EXTRAÍDA
<b>BASES FUERTES</b>	
NaOH	HASTA 80 %
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	HASTA 30 %
<b>SALES NEUTRAS</b>	
Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	HASTA 30 %
NaF	HASTA 30 %
Sales de ácidos orgánicos	HASTA 30%
<b>QUELATOS ORGÁNICOS</b>	
Acetilacetona	HASTA 30 %
Cupferrón	
8-hidroxiquinolina	
Ácido fórmico	HASTA 55 %
Acetona	HASTA 20 %

La extracción es el primer paso para aislar y caracterizar las sustancias húmicas, debiéndose extraer en la forma menos inalterada posible y evitando la co-extracción de otro tipo de sustancias con características no húmicas tales como carbohidratos, grasas y aminoácidos, que interfieren su correcta caracterización (Ciavatta y col., 1988).

### 1.5 Extracción alcalina de las sustancias húmicas (SH)

Las soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) y carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) han sido las más usadas las soluciones acuosas de NaOH y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  de 0.1 a 0.5 N a una proporción suelo–extractante de 1.2 a 1.5 (g/mL) han sido las más usadas para recobrar la Materia Orgánica del Suelo (MOS) (Kononova, 1966; Stevenson, 1994).

También, normalmente se usa NaOH 0,1-0,5 N para extraer la materia orgánica del suelo; a pesar de que este reactivo puede extraer hasta el 80% de las sustancias húmicas presentes en un suelo, pero tiene el inconveniente de que puede alterar la materia orgánica a través de hidrólisis y autoxidaciones. Tras la extracción de las sustancias húmicas, es necesario hacer una subdivisión en distintas fracciones, de acuerdo a las propiedades y composición molecular como un paso previo a los análisis y medidas físico-químicas de las fracciones obtenidas (Sánchez, 2002).

### 1.6 Extractantes suaves de las SH

Varios extractantes suaves y más selectivos han sido usados en años recientes para la extracción clásica. Incluye sales de agentes complejantes, como pirofosfato de sodio, agentes complejantes orgánicos en medio acuoso (acetilacetona), mezclas de ácidos diluidos que contienen HF y solventes orgánicos de varios tipos (Stevenson, 1994).

Varios investigadores han criticado la práctica común de aislar las SH del suelo con soluciones alcalinas e intentan remplazarlas por soluciones suaves (Kononova, 1966); aunque son menos eficientes y con éxito variable (Stevenson, 1994).

**a). Pirofosfato de sodio y otras sales neutras.** Mucha atención se ha dado a las sales de ácidos minerales, en particular al pirofosfato de sodio. La acción de este extractante y de algunas neutras de ácidos orgánicos (ejemplo: sales de sodio de ácido oxálico, tartárico, cítrico y otros ácidos) dependen de su capacidad para formar precipitados insolubles o complejos solubles con Calcio (Ca), Hierro (Fe), Aluminio (Al) y otros cationes polivalentes a los cuales las SH del suelo están enlazadas. Como resultado de esta reacción, las SH con convertidas en estado soluble (Kononova, 1966).

De acuerdo a Schnitzer (2000), el pirofosfato de sodio ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) en solución acuosa remueve menos del 30% de la MOS pero con menor alteración molecular que con el NaOH; para minimizar los cambios químicos, la extracción se hace pH neutro y en ausencia de oxígeno.

Fukitake et al., (2003) llevaron a cabo extracciones secuenciales con la solución de pirofosfato de sodio a diferentes valores de pH (3, 5, 7, 9, 11 y 13) sugirieron que esta técnica fue conveniente para la caracterización de las propiedades húmicas de diferentes tipos de suelo obteniendo una serie de ácidos húmicos (AH) de diferentes tamaños de partícula y concluyeron que las características de estas fracciones está más influenciada por el origen que por los valores de pH usados para la extracción.

**b). Extracción con ácidos minerales diluidos.** Con los ácidos minerales diluidos se extrae poca MOS, excepto en las mezclas ácidas que contienen ácido fluorhídrico (HF). Probablemente el ácido fluorhídrico (HF) libere materia orgánica de combinaciones inorgánicas a través de la dilución de silicatos hidratados y de la formación de complejos con hierro (Fe) y aluminio (Al).

**c). Ácido fórmico Anhidro.** El ácido fórmico anhidro es un compuesto polar que no tiene propiedades oxidativas ni hidrolíticas; es un extractante adecuado para la MOS puede extraer más del 55% de ésta y el 80% de la materia orgánica de las compostas. Uno de los problemas con este reactivo consiste en que disuelve Ca, Fe, y Al y otros componentes inorgánicos junto con la MOS; una de sus ventajas consiste en que es el más eficiente para suelos donde la MOS está parcialmente humificada.

Pal y Sengupta (1985) indican que el ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ) extrae mayor cantidad de carbono de los AH (63.72% de C); mientras que con pirofosfato de sodio ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) y la acetilacetona ( $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ ) se extraen cantidades de 53.87% y 50.58%, respectivamente. Por lo tanto, el ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ) extrae más material humificado que los otros dos extractantes.

**d). Agente quelantes orgánicos.** Algunos compuestos orgánicos: acetilacetona ( $C_5H_8O_2$ ), Cupferron ( $NH_4 [C_6H_5N(O)NO]$ ) y 8-hidroxiquinoleína ( $C_9H_7NO$ ), que forman quelatos complejos con iones polivalentes metálicos, se han usado para extraer materia orgánica. En el horizonte B de éstos, la materia orgánica ocurre como complejos de Fe y Al, y la complejación de estos metales por agentes quelantes, libera la materia orgánica a formar solubles. Los agentes quelantes orgánicos son ineficientes para extraer materia orgánica de otros suelos, y el material húmico aislado aún contiene cationes metálicos residuales. Se ha usado resina quelante para extraer MOS (Stevenson, 1994).

### 1.7 Factores que influyen en la extracción

#### *Concentración y tipo de extractante.*

Uno de los parámetros que influye de modo importante en la solubilidad de la materia orgánica de sustratos orgánicos es el tipo de extractante. La apropiada concentración del extractante ha sido igualmente objeto de numerosos estudios, habiéndose utilizado más frecuentemente en el caso del NaOH la concentración 0,1 M (Miikki y col., 1997; Tomati y col., 2001).

De todos los extractantes empleados es el NaOH 0,1 M el que más se ha utilizado, ya que permite obtener altos rendimientos. Este extractante ha sido usado por numerosos investigadores tales como (Giusquiani y col., 1994), para suelos y también para compostas procedentes de lodos de depuradora, purines de cerdo o residuos sólidos urbanos (RSU) (Chefetz, (1996)); (Bernall, 1998).

#### *Relación de extracción.*

Otro de los factores que puede afectar a la solubilidad de la materia orgánica es la relación de extracción (P/V), que relaciona el peso de sustrato y el volumen del agente extractante utilizado, ya que influye en la concentración de la materia orgánica líquida que puede obtenerse en el proceso de extracción. Mientras que para suelos la relación P/V recomendada por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas por sus siglas en inglés (IHSS) es la 1/10 como relación de extracción aplicable al aislamiento de sustancias

húmicas, para otros materiales puede ser necesario un aumento de la proporción de extractante, sobre todo cuando pueda esperarse una elevada solubilización de materiales que sature la disolución, antes de que se extraiga toda la materia orgánica de que el disolvente es capaz (Tortosa, 2007).

Por este motivo, Cegarra y col (1974) emplearon distintos valores de P/V utilizando como sustratos estiércoles, turbas y suelos calizos pobres en materia orgánica enmendados con estos materiales. En la obtención de sustancias húmicas de materiales muy ricos en materia orgánica tales como turbas, lignitos, estiércoles y composts, el valor de P/V generalmente más utilizado ha sido 1/20 (García y col., 1992a y b; Cegarra y col., 1994; Bernal y col., 1998; Caravaca y col., 2006) Citados por (Tortosa, 2007).

### ***Tiempo de extracción.***

También, el tiempo utilizado en la extracción ha sido objeto de muchas investigaciones dependiendo del material orgánico.

Cegarra (1978) estudió la influencia de este factor y observó que, a medida que aumentaba el tiempo de extracción desde 0,5 hasta 24 horas, también lo hacía el porcentaje de carbono extraído a partir de turba y un estiércol ovino. Sánchez-Monedero y col. (1996) utilizaron un tiempo de extracción de 4 horas sobre lignitos, estiércoles y composts de distinta procedencia, mientras que Francioso y col. (1998) emplearon 6 horas para turba y García y col. (1993b) 12 horas para lignito. Otros investigadores han utilizado un tiempo de 24 horas, tanto en materiales jóvenes como composts (Tomati y col., 2001) como también, en materiales altamente humificados tales como turbas y lignitos (Ayuso y col., 1997). Según el método recomendado por la IHSS para el aislamiento de sustancias húmicas, 4 horas es tiempo suficiente para solubilizar la mayor parte de la materia orgánica presente en suelos.

### ***Temperatura de extracción.***

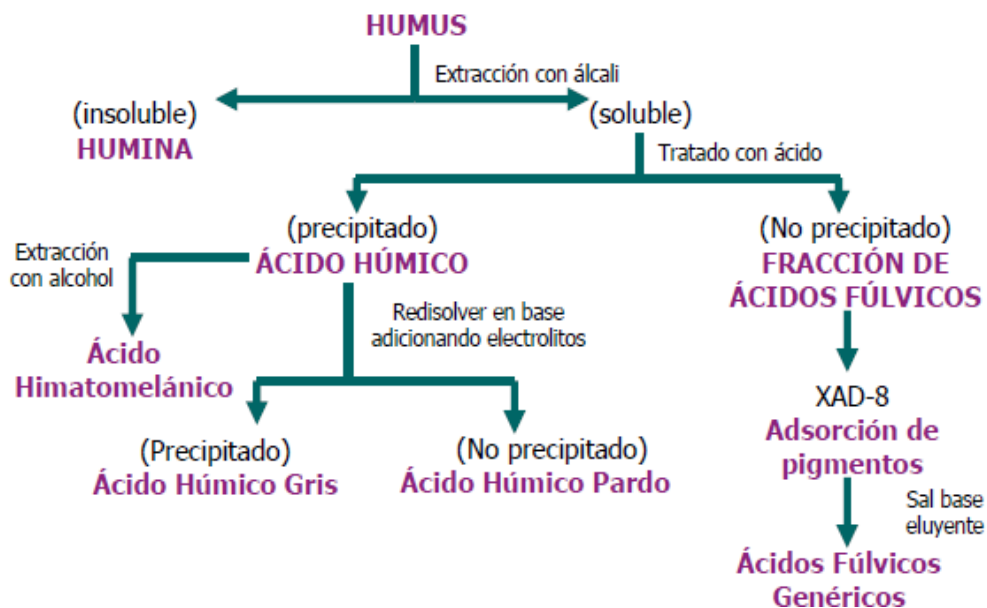
En materiales ricos en materia orgánica como estiércoles, turbas, lignitos y compostas, el rendimiento de extracción dependerá en gran medida de las condiciones en las que se

trabaje, siendo la temperatura un factor relevante. De este modo, Cegarra y col. (1974) estudiaron el efecto de este parámetro sobre turba y estiércol ovino, con un intervalo de variación que osciló entre 30° y 80°C. García y col. (1994) también analizaron el efecto de la temperatura sobre la extracción de sustancias húmicas de lignito empleando temperaturas de 20°, 50° y 80°C, y Ouatmane (2000) estudió igualmente este efecto sobre la obtención de materia orgánica a partir de compostas elaborados con serrín, estiércol animal y pulpa de café, utilizando temperaturas que oscilaron entre 25° y 80°C. En general, todos estos estudios concluyeron demostrando que el incremento de temperatura durante la extracción, independientemente del sustrato y del extractante utilizado, incrementa el rendimiento de extracción (Tortosa, 2007).

### 1.8 Fraccionamiento de las SH

La MOS extraída con los reactivos comunes (NaOH 0.5N y Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.1M), es fraccionada sobre la base de características de solubilidad. Las fracciones obtenidas comprenden: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas (Stevenson, 1994).

Figura 1.-Fraccionamiento de las sustancias Húmicas con base en sus características de solubilidad (Stevenson, 1994)



La separación de los ácidos húmicos y fúlvicos puede llevarse a cabo con soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) a diferentes concentraciones, Carbonato de Sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Pirofosfato de Sodio ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ), fluoruro sódico (NaF) y oxalato de sodio ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) resinas de intercambio iónico en forma  $\text{H}^+$  y  $\text{Na}^+$  y solventes orgánicos (dimetilformamida, ( $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$ ), dimetilsulfóxido ( $\text{CH}_3\text{SOCH}_3$ )). Sin embargo, cambiar el solvente ocasiona un cambio en las propiedades de los compuestos húmicos separados

### 1.9 Estructura de las sustancias húmicas

El número de moléculas precursoras es enorme, y el número de combinaciones según las cuales cabe imaginarlo mucho mayor. Por lo tanto, la generación de estas sustancias puede deberse a muchos tipos diferentes de mecanismos de reacción, a pesar de que la mayoría de investigadores están a favor del mecanismo basado en la condensación de compuestos fenólicos y quinonas.


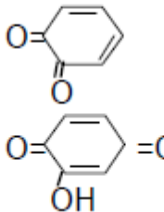
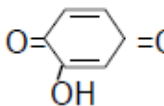
La estructura química de las sustancias húmicas ha sido uno de los temas de investigación más controvertido de las últimas décadas para los investigadores de la ciencia del suelo, y son pocos los modelos capaces de describir adecuadamente la complejidad estructural de estas sustancias ubicuas en la naturaleza.

El conocimiento de las estructuras básicas de los ácidos húmicos y fúlvicos es necesario para entender el papel y función de estos constituyentes en el suelo. Sin embargo, los múltiples componentes moleculares de los que están formados, así como los diferentes tipos de ligados a los que están enlazados, hace que no podamos establecer formulas estructurales de manera definitiva (Stevenson, 1994).

De la variedad de grupos funcionales que tienen las sustancias húmicas los más frecuentes en la estructura de los ácidos fúlvicos y húmicos suelen ser los grupos carboxilos ( $-\text{COOH}$ ), hidroxilo ( $-\text{OH}$ ), (fenólicos y alcohólicos), quinónicos y cetónicos (Sánchez, 2002).

## Capítulo 1: Antecedentes

Tabla 3.-Grupos funcionales presentes en las sustancias húmicas (Stevenson, 1994)

Amino	-NH <sub>2</sub>	Ester	R-COOR'
Amina	R-CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	Imino	=NH
Amida	R-CO-NH <sub>2</sub>	Péptido	R-CH(NH <sub>2</sub> )-NH- CH(COOH)-R
Alcohol	R-CH <sub>2</sub> -OH	Anhídrido	R-CO-O-CO-R'
Aldehído	R-CHO	Imina	R-CHNH
Carboxilo	R-COOH	Quinona	
Carboxilato	R-COO		
Enol	R-CH=CH-OH	Hidroxiquinona	
Cetona	R-CO-R		
Ceto-ácido	R-CO-COOH		
Carbonilo insaturado	-CH=CH-CHO		
Eter	R-CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>2</sub> -R'		

Schulten (1996) Trabajo en modelos estructurales de ácidos húmicos utilizando el apoyo de la informática, que ha permitido calcular distancias no enlazadas, fuerzas de van der Waals, enlaces de hidrogeno, cargas iónicas, etc. Los grupos COOH y OH son los más abundantes y se encuentran tanto en anillos aromáticos como en las cadenas alifáticas. Así mismo trabajo mucho en modelos estructurales de ácidos húmicos utilizando el apoyo de la informática, que ha permitido calcular distancias de enlaces exactas, ángulos de enlace, ángulos de torsión, distancias no enlazadas, etc.

Todo esto se tradujo en nuevos modelos muchos más complejos, como las figuras que a continuación se presentaran.

## Capítulo 1: Antecedentes

Figura 2.-Estructura química para los ácido húmico propuesta por Schulten et al en 1993.

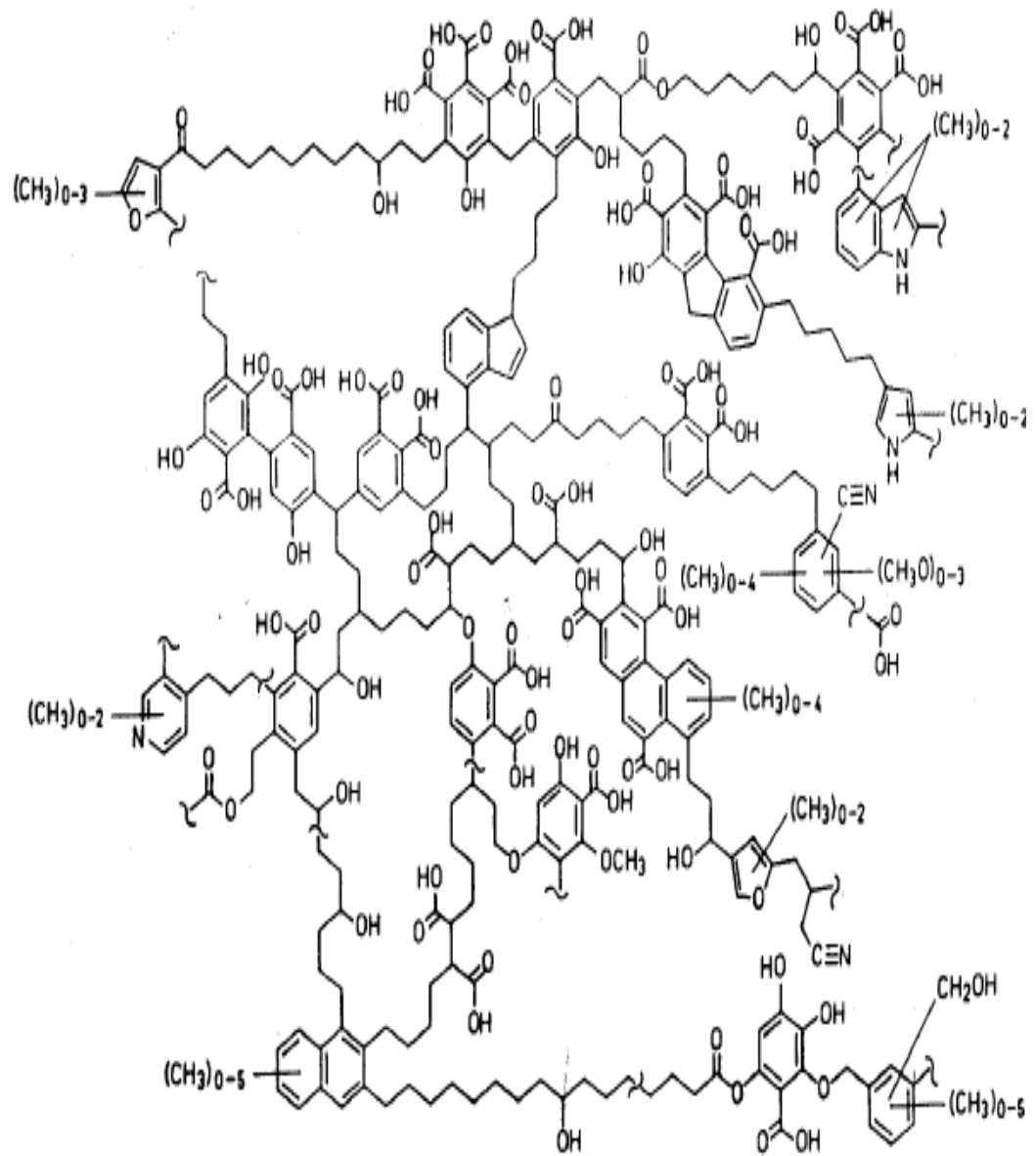
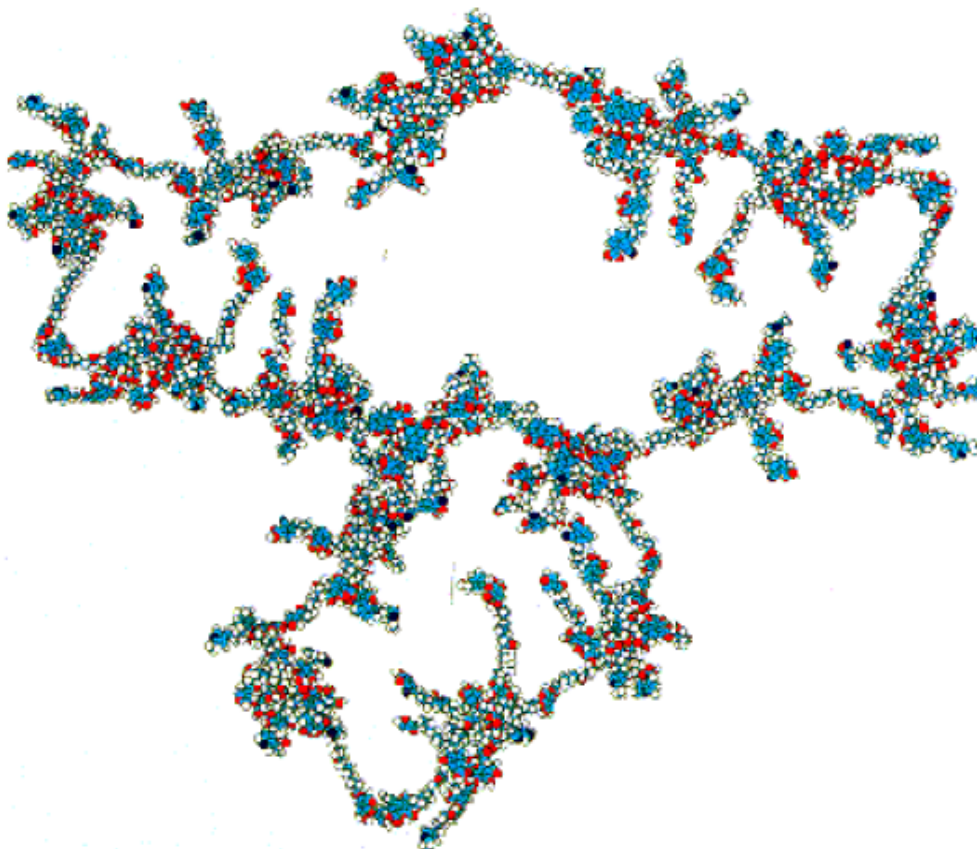


Figura 3.-Estructura química tridimensional para un ácido húmico propuesta por Schulten en 1996.



### 1.10 Funciones de las sustancias húmicas

Las sustancias húmicas como parte de la materia orgánica en humus del suelo son compuestos que surgen de la física, química y la transformación microbiológica (humificación) de biomoléculas. El humus representa uno de los más grandes depósitos de carbono en la Tierra. Los ácidos húmicos son el grupo más estudiado de sustancias húmicas. Al ser sustancias naturales, su proceso de purificación es más barato que la síntesis de cualquier otro absorbente y por otra parte, debido a su alta operatividad, ya que absorben más que los absorbentes usados hasta la fecha, tales como carbones activados o arcillas. Las propiedades específicas de los productos ácidos húmicos permiten su aplicación en la industria, la agricultura, el medio ambiente y la biomedicina (Peña, Havel, and Patocka, 2005).

### *Aplicaciones agricultura*

Las sustancias húmicas juegan un papel importante desde el punto de vista de la agronomía. Influyen significativamente en la calidad y la productividad de la tierra. Además de la mejora del suelo, también muestran una alta capacidad de intercambio de base, que es importante para la fertilidad del suelo.

Las sustancias húmicas (SH) son los más ampliamente ligados complejantes difundidos naturales, que ocurren en la naturaleza. Conforman la mayor parte de la materia orgánica, ya que representan la mayor parte de los materiales orgánicos de tierra, turba, lignitos, carbón marrón, aguas residuales, aguas naturales y sus sedimentos. Debido a su molecular estructura, proporcionan numerosos beneficios a los cultivos de producción. Ellos ayudan a romper la arcilla y suelos compactados, ayudan en la transferencia de micronutrientes del suelo a la planta, mejoran la retención de agua, aumentar las tasas de germinación de semillas y la penetración, y estimulan el desarrollo poblacional de la microflora en los suelos. Los ácidos húmicos también ralentizan la evaporación del agua de los suelos. Esto es especialmente importante en suelos donde la arcilla está presente a bajas concentración o no del todo, en las zonas áridas, y en suelos arenosos sin la capacidad de retener el agua.

Otro papel de las sustancias de ácidos húmicos reside en la mejora de la calidad de los suelos cuando son muy pobres en materia orgánica. Investigaciones recientes muestran que el ácido húmico puede utilizarse en la alimentación de animales de granja gracias a su crecimiento de la promoción.

### *Aplicaciones industriales.*

El humus y materiales que contienen de humus han sido utilizados en la construcción a gran escala, por ejemplo, como aditivos para el control de la velocidad de endurecimiento del hormigón. Materiales húmicos encontrados también se utilizan en la preparación de cuero. Inicialmente, se utilizaron como un tinte de cuero, más tarde como un agente para el curtido de cuero y, por último, como un ingrediente de una solución para terminar de cuero.

## *Capítulo 1: Antecedentes*

---

La industria de la madera es otro campo donde se han aplicado, de este uso, los materiales húmicos parecían ser agentes adecuados como un componente soluble en agua manchas en los muebles de madera. En la industria de la cerámica, sustancias húmicas eran empleado principalmente como aditivos para mejorar la resistencia mecánica de la cerámica sin procesar, a mejorar las propiedades de colada de cerámica de tejas de arcilla de color y entre muchos otros usos también se aplicaron en el preparación de barro.

Además, los materiales húmicos han encontrado aplicación en la producción de plásticos, especialmente como colorantes para la coloración de nylon 6 o plástico de PVC, endurecedores de espumas de poliuretano o como plastificante ingredientes para PVC. Se incluyen en diferentes procedimientos de fabricación, por ejemplo en la producción de papel de la conducción de electricidad hojas o en la fabricación de alta resistencia a la tracción papel, y también en el reciclaje de papel. Otras aplicaciones industriales se pueden mencionar: como un ion intercambiador, como una fuente de hidrocarburos sintéticos y fuelóleos en procesamiento de alimentos o para mejorar la extracción de uranio de sus minerales.

### *Aplicaciones ambientales*

La principal tarea de sustancias húmicas en el medio ambiente, es la química, eliminar metales tóxicos, antropogénicos, productos químicos orgánicos y otros contaminantes del agua, materiales de intercambio iónico basado en humato de calcio. Se encontró adecuado para la eliminación de metales pesados, metales como el hierro, el níquel, el mercurio, el cadmio y el cobre a partir de agua y también para eliminar elementos radiactivos de las descargas de agua de las plantas nucleares de energía.

Para eliminar los pesticidas de las aguas residuales y para eliminar el fenol a partir de agua. Materiales que contienen humus han sido también utilizados para los gases de sorción, por ejemplo la eliminación de los residuos de invernadero procedentes de una planta de transformación de cadáver de animales. Humatos poco modificados se pueden aplicar a eliminar el sulfuro de hidrógeno y mercaptanos a partir de suministro de gas municipal y de dióxido de azufre de gases de chimenea. Diferentes grupos de compuestos tales como

## *Capítulo 1: Antecedentes*

---

herbicidas, fungicidas, insecticidas, nematocidas, dioxinas y también algunos productos farmacéuticos como compuestos estrogénicos se determinaron como sea posibles descriptores endocrinos ambientales.

### *Aplicaciones biomédicas*

Las sustancias húmicas producidas a escala comercial se utilizan en la medicina veterinaria y humana. Varios estudios de las propiedades medicinales de materiales húmicos han sido reportados. Se encontró que los ácidos húmicos administrados profilácticamente a ratas disminuyeron significativamente la extensión gástrica del daño inducido por etanol. El TPP se administra experimentalmente a ratas con úlceras gástricas y duodenales acelerando considerablemente el proceso de curación.

Los ácidos húmicos son capaces de interactuar con la bacteria *Micrococcus luteus*. En este caso los materiales húmicos protegen al organismo frente a la interrupción de la pared celular por la enzima lisozima.

Se encontraron que la pre incubación de los cultivos celulares con humato amónico evita la infección por el virus del herpes, destacó la función de las sustancias húmicas como protectores del organismo. La razón principal de la creciente atención dedicada a los ácidos húmicos se puede explicar por su actividad antiviral, profibrinolítica, anti-inflamatorio y actividades estrogénicas.

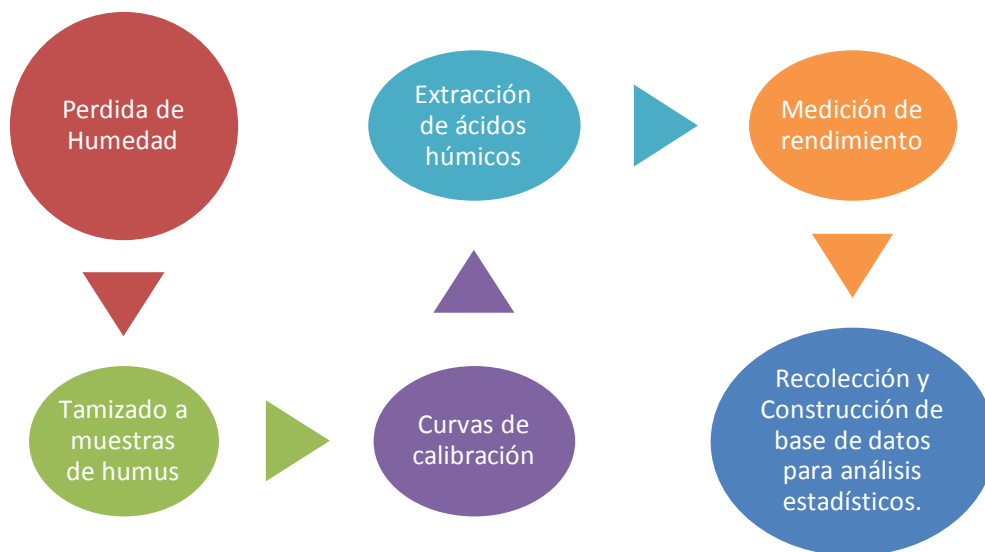
Las propiedades de las sustancias de ácidos húmicos representan nuevas posibilidades para su aplicación médica, de gran interés es que los estudios hospitalarios muestran que las difíciles enfermedades respiratorias virales comunes en los niños se resuelven fácilmente con ácidos fúlvicos en la dieta. (Peña, Havel, Patocka, 2004).

## Capítulo 2: Metodología

La importancia de este estudio consistió en la extracción de ácidos húmicos comparándolo a través de dos soluciones extractoras en seis muestras de lombricompostas previamente caracterizadas (Jimarez, 2013) de acuerdo con la norma NMX-FF-109-SCFI-2007 HUMUS DE LOMBRIZ (LOMBRICOMPOSTA) – ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA.

La metodología se desarrolló de manera descriptiva y experimental a través del método establecido en la Metodología MVR (Reid, B. & Reid, J, 2013) Ácidos Húmicos, utilizando el DTPA y los otros componentes, adicionalmente la técnica se modifico utilizando el Pirofosfato (solución de kononova) para la extracción de ácidos húmicos, que es un procedimiento para determinar contenido de ácidos húmicos, posteriormente se midió el rendimiento, analizando los extractos por medio de un espectrofotómetro (Spectronic 20D) a una longitud de onda 450 nm y así conocer el contenido en % de carbono y ppm de ácidos húmicos.

El método consistió principalmente en la extracción y análisis de los ácidos húmicos (AH) comparando la eficiencia de la metodología a utilizar. En el esquema 2 se describe las etapas efectuadas y el pretratamiento correspondiente, cabe señalar que se realizaron tres repeticiones a cada una de las seis muestras identificadas como *m1*, *m2*, *m3*, *m4*, *m5* y *m6* con el objetivo de tener una base de datos para el posterior análisis estadístico.



Esquema.2 Etapas a seguir para evaluar la eficiencia de extracción a muestras de

humus de lombriz.

### **2.1 Preparación de la muestra y procedimiento de extracción**

#### **2.1.1 Preparación de la muestra**

La preparación de las seis muestras previamente identificadas como *m1*, *m2*, *m3*, *m4*, *m5* y *m6* se llevo a cabo de acuerdo con la norma NMX-FF-109-SCFI-2007 HUMUS DE LOMBRIZ (LOMBRICOMPOSTA) – ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA. La preparación de la muestra para su evaluación consistió en extender una proporción de humus húmedo al aire para su sequedad, estando las muestras secas se prosiguió con el tamizado empleando una malla de 2 mm para separar las partículas de mayor tamaño

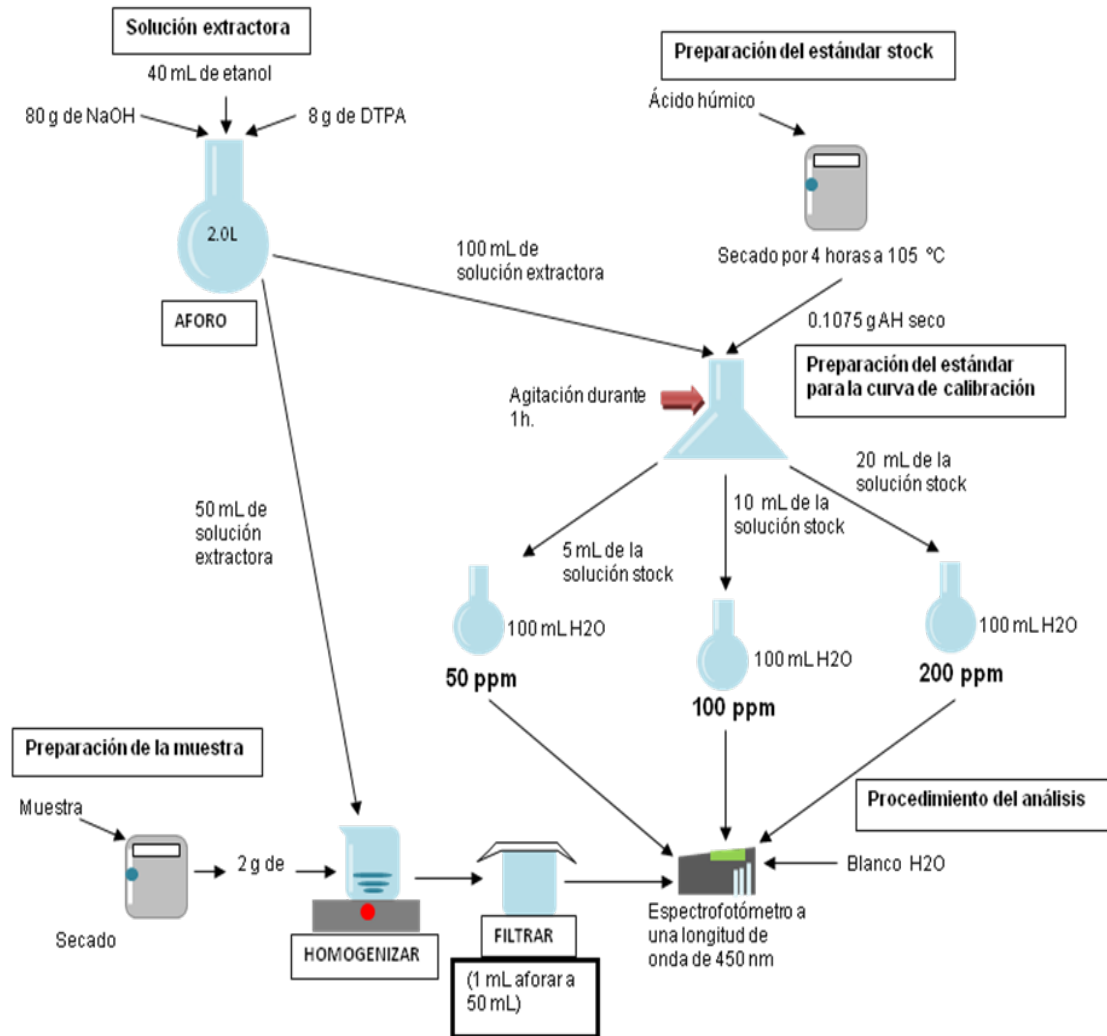
En las figuras 3 y 4 se puede ver los diagramas de flujo que se siguieron para la extracción de ácidos húmicos con ambas soluciones extractoras de las cuales más adelante se describen todos sus pasos.

#### **2.2 Preparación de las soluciones extractoras**

Para la preparación de la solución extractora ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) se requirió de un matraz aforado con capacidad de 2 lt se pesaron 80gr de hidróxido de sodio (NaOH), se midieron 8ml de etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), y se pesaron 8gr de DTPA y se llevo al aforo con agua destilada.

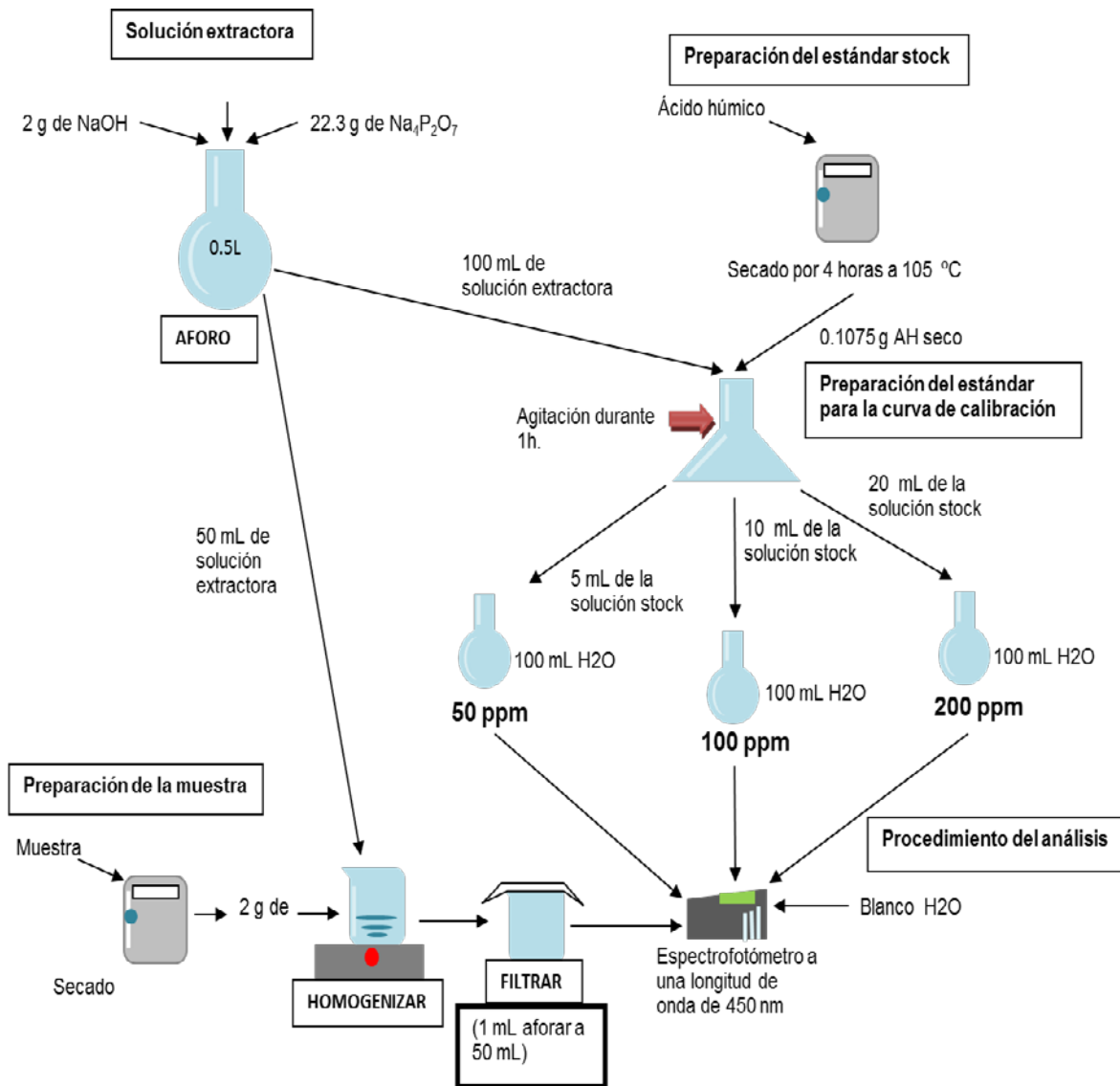
## Capítulo 2: Metodología

Figura 3.- Determinación de ácidos húmicos (Diagrama de flujo DTPA)



Para la preparación de la solución extractora de KONONOVA se requirió de un matraz aforado con capacidad de 500 ml se pesaron 2 gr de hidróxido de sodio (NaOH) y se pesaron 22.3 gr de Pirofosfato de sodio (Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) este se diluyo con agua caliente y se llevo al aforo con agua destilada.

Figura 4.- Determinación de ácidos húmicos (Diagrama de flujo Kononova)



### 2.2.1 Preparación de la solución Stock

Para el desarrollo del procedimiento de extracción, inicialmente se preparó una solución stock que se describe a continuación. Se utilizó ácido húmico comercial el cual fue secado por 4 horas a 105 °C, posteriormente se pesaron 0.1075 g y se diluyeron por separado en 100 ml de ambas soluciones extractoras y se agitaron durante una hora.

### **2.2.2 Preparaciones de las soluciones estándar**

Se tomaron 2.5 ml de la solución stock de ácido húmico comercial y fueron diluidos en 100 ml de agua destilada para obtener el estándar de 25 ppm. Se tomaron 5 ml de la solución stock de ácido húmico comercial y fueron diluidos en 100 ml de agua destilada para obtener el estándar de 50 ppm. Se tomaron 10 ml y fueron diluidos en 100 ml para obtener el estándar de 100 ppm. Se tomaron 20 ml de la solución stock y fueron diluidos en 100 ml para obtener el estándar de 200 ppm.

### **2.2.3 Preparación de la curva estándar**

Para el procedimiento de análisis, la curva estándar se realizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm, utilizando los estándares de 25, 50, 100 y 200 ppm, el blanco fue agua destilada. Se leyó la muestra y se calculó la concentración en la curva estándar.

### **2.2.4 Procedimiento de la extracción.**

Se pesaron 2 g de muestra seca y se añadieron 50 ml de las soluciones extractoras respectivas, se agitó hasta que quedaran homogéneas las mezclas en los 3 diferentes tiempos, se utilizó un agitador orbital TEMSA Modelo JTR-004. Posteriormente se filtró a través de papel filtro Filter papiere, 40 Ashless circles 110 mm para eliminar cualquier partícula, se tomó 1 ml del extracto, el cual se aforó a 50 ml y se leyó a una longitud de onda de 450 nm en un espectrofotómetro Spectronic 20 D Milton Roy company. La muestra se diluye si es necesario, hasta que ajuste en el rango de la curva estándar.

## Capítulo 3: Resultados y Discusión

---

Se efectuó el análisis de los resultados obtenidos de la extracción de ácidos húmicos por medio de las dos soluciones extractoras en las seis muestras de lombricompostas identificadas como *m1*, *m2*, *m3*, *m4*, *m5* y *m6* y por triplicado. Posteriormente los resultados de cada determinación se trataron estadísticamente empleando un análisis de varianzas.

### 3.1 Especificaciones de Curva de calibración

Inicialmente se construyeron dos curvas de calibración con los estándares de las soluciones extractoras las cuales fueron nuestros puntos de referencia. Para la construcción de estas curvas se efectuaron lecturas por triplicada las cuales también se les realizó un promedio para tener las dos curvas de calibración con resultados más exactos. Los datos obtenidos y generados se pueden observar en la tabla 4 y 5 y en la gráfica 1.

Tabla 4.- Base de datos obtenida para la elaboración de la curva de calibración correspondiente a la solución extractora DTPA. Fuente propia

<b>Curva DTPA</b>	
<b>ppm</b>	<b>Absorbancia</b>
<b>0</b>	0
<b>25</b>	0.2883
<b>50</b>	0.4127
<b>100</b>	0.7587
<b>200</b>	1.1317

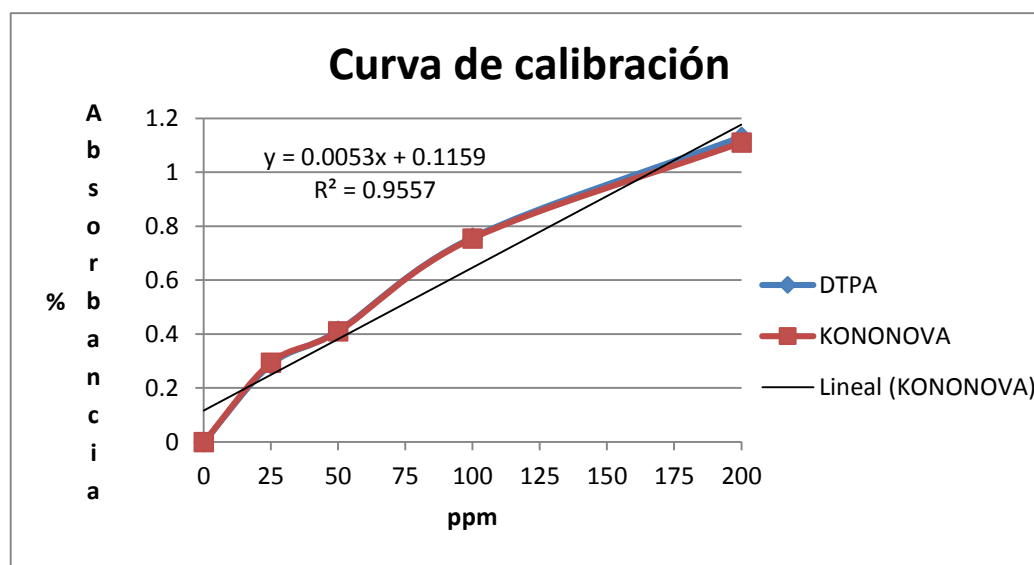
### Capítulo 3: Resultados y Discusión

Tabla 5.- Base de datos obtenida para la elaboración de la curva de calibración correspondiente a la solución extractora KONONOVA. Fuente propia.

Curva Kononova	
Ppm	Absorbancia
0	0
25	0.2943
50	0.41
100	0.755
200	1.11

A continuación en la gráfica 1 se observa la tendencia de ambas soluciones extractoras. Se aprecia que los resultados de la medición de absorbancia en ambas soluciones extractoras son similares, se puede decir que la solución que extrae un poco más es la de DTPA aunque es poco significativo. Además se observa en la grafica 1 que las curvas de ambas soluciones extractoras presentan la misma capacidad de extracción en cantidad de Ácidos Húmicos.

Grafica 1: Curvas de calibración de las soluciones extractoras DTPA y KONONOVA



Tendencia de las soluciones extractoras. Fuente propia.

### 3.2 Generación de la base de datos para análisis estadísticos

Siguiendo la metodología MVR se obtuvieron los datos de las seis muestras por triplicado junto con su absorbancia lo cual se puede apreciar en la tabla 6, cuya determinación fue a través de un espectrofotómetro (Spectronic 20 D Milton Roy company).

Tabla 6.- Información de la Absorbancia según su hora de agitación.

Agitaciones	<i>Muestra 1</i>		<i>Muestra 2</i>		<i>Muestra 3</i>	
	DTPA	Kononova	DTPA	Kononova	DTPA	Kononova
	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
<b>1 hora</b>	0.232	0.045	0.152	0.076	0.13	0.042
	0.175	0.055	0.157	0.064	0.19	0.049
	0.237	0.05	0.182	0.078	0.113	0.034
<b>3 horas</b>	0.31	0.057	0.208	0.053	0.316	0.062
	0.315	0.073	0.191	0.058	0.224	0.056
	0.3	0.071	0.235	0.06	0.208	0.051
<b>24 horas</b>	0.259	0.074	0.282	0.068	0.362	0.058
	0.616	0.079	0.328	0.072	0.378	0.072
	0.284	0.073	0.295	0.074	0.36	0.067

Base de datos de las muestras (*m1*, *m2*, *m3*). Fuente propia

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

Continuación de la tabla 6. Información de la Absorbancia según su hora de agitación.

Agitaciones	Muestra 4		Muestra 5		Muestra 6	
	DTPA	Kononova	DTPA	Kononova	DTPA	Kononova
1 hora	0.156	0.071	0.257	0.04	0.181	0.062
	0.168	0.065	0.271	0.039	0.161	0.063
	0.15	0.068	0.279	0.038	0.166	0.071
3 horas	0.197	0.042	0.253	0.051	0.282	0.086
	0.212	0.053	0.33	0.056	0.221	0.101
	0.202	0.047	0.28	0.045	0.207	0.243
24 horas	0.362	0.311	0.388	0.069	0.362	0.311
	0.305	0.313	0.345	0.07	0.305	0.313
	0.316	0.366	0.438	0.09	0.316	0.366

Base de datos de las muestra (*m4*, *m5* y *m6*). Fuente propia

Con esta base de datos general se procedió a hacer un promedio de cada prueba por muestra, tiempo y extractante, el cual se muestra a continuación en la tabla 7.

Tabla 7.- Promedio de las absorbancias de cada muestra según su hora de agitación

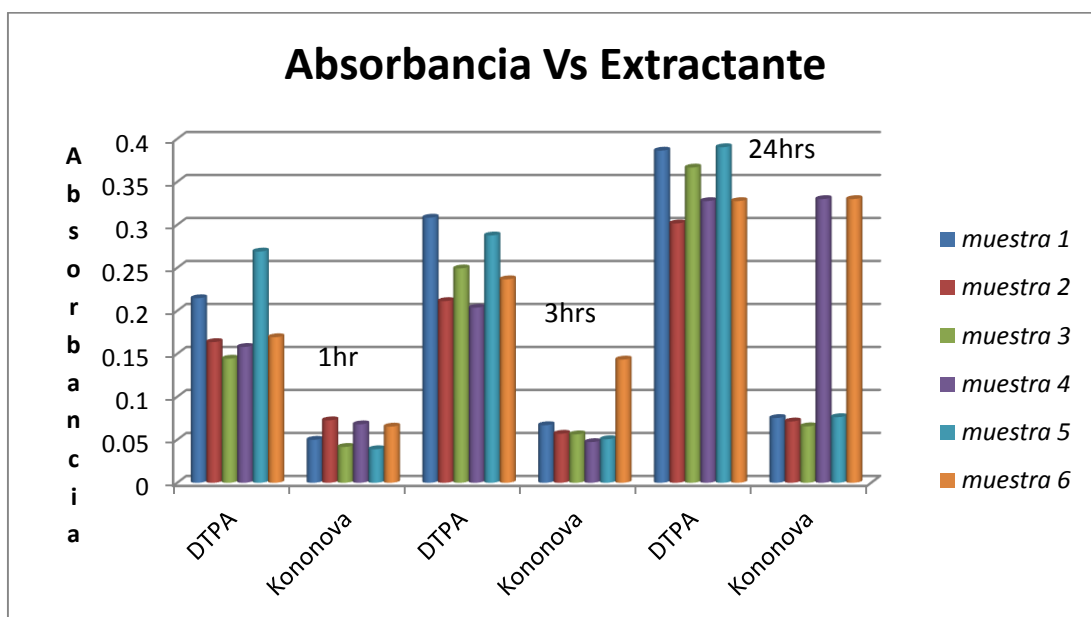
	DTPA			KONONOVA		
	1 hr	3 hrs	24 hrs	1 hr	3 hrs	24 hrs
<i>muestra 1</i>	0.2147	0.3083	0.3863	0.05	0.067	0.0753
<i>muestra 2</i>	0.1637	0.2113	0.3017	0.0727	0.057	0.0713
<i>muestra 3</i>	0.1443	0.2493	0.3667	0.0417	0.0563	0.0657
<i>muestra 4</i>	0.158	0.2037	0.3277	0.068	0.0473	<b>0.33</b>
<i>muestra 5</i>	0.269	0.2877	0.3903	0.039	0.0507	0.0763
<i>muestra 6</i>	0.1693	0.2367	0.3277	0.0653	<b>0.1433</b>	<b>0.33</b>

Base de datos condensada de todas las muestras.

### 3.3 Generación de graficas para análisis estadísticos

Una vez generados estos resultados se comparo gráficamente la Absorbancia Vs Solución extractora en las seis muestras a 1, 3, y 24 hrs para poder mostrar de manera general la diferencia entre ambas soluciones extractantes como se muestra en la grafica 2.

Grafica 2.- Absorbancia Vs Extractante de cada muestra



Datos de la absorbancia dependiendo del número de horas de agitación del extractante DTPA y KONONOVA

Como se observa en la gráfica 2 todas las muestras en todos los tiempos presentan una mayor absorbancia con la solución extractora de DTPA, mientras que con la solución extractora de KONONOVA se mantiene constante excepto en la agitación de 3 y 24 hrs donde se elevan los valores, pero en lo general se mantiene en el mismo rango de absorbancia. Se deduce que la solución extractante más efectiva es la solución extractora de DTPA.

De las interpretaciones anteriores se llevo a cabo una interpolación de los datos obtenidos en la tabla 7 con la curva de calibración de la grafica 1 de ambas soluciones extractantes para conocer las partes por millón (ppm) ya que los datos apreciables en la tabla 7

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

correspondían a las lecturas de absorbancia, destacando que lo anterior se realizó con los datos promedios de las determinaciones.

Lo anterior se resume en las siguientes tablas 8 y 9 mostrando la absorbancia y las ppm obtenidos por interpolación en las curvas de calibración con su correspondiente tiempo y solución extractora.

Tabla 8.- Absorbancia y ppm obtenidos con la curva de calibración de DTPA

		DTPA							
		1 hr		3 hrs		24 hrs			
		Curva DTPA		Abs Y	ppm X	Abs Y	ppm X	Abs Y	ppm X
muestra 1	Abs Y	ppm X	0.2147	18.6127	0.3083	29.0214	0.3863	44.7051	
muestra 2	0	0	0.1637	14.1908	0.2113	18.3237	0.3017	27.6810	
muestra 3	0.2883	25	0.1443	12.5145	0.2493	21.6185	0.3667	40.7507	
muestra 4	0.4127	50	0.158	13.6994	0.2037	17.6590	0.3277	32.9088	
muestra 5	0.7587	100	0.269	23.3237	0.2877	24.9422	0.3903	45.5094	
muestra 6	1.1317	200	0.1693	14.6821	0.2367	20.5202	0.3277	32.9088	

ppm obtenidas por interpolación. Fuente propia

Tabla 9.- Absorbancia y ppm obtenidos con la curva de calibración de Kononova

		KONONOVA							
		1 hr		3 hr		24 hr			
		Curva Kononova		Abs Y	ppm X	Abs Y	ppm X	Abs Y	ppm X
muestra 1	Abs	ppm	0.05	4.2469	0.067	5.6908	0.0753	6.3986	
muestra 2	0	0	0.0727	6.1721	0.057	4.8414	0.0713	6.0589	
muestra 3	0.2943	25	0.0417	3.5391	0.0563	4.7848	0.0657	5.5776	
muestra 4	0.41	50	0.068	5.7758	0.0473	4.0204	0.33	<b>32.7089</b>	
muestra 5	0.755	100	0.039	3.3126	0.0507	4.3035	0.0763	6.4836	
muestra 6	1.11	200	0.0653	5.5493	0.1433	<b>12.1744</b>	0.33	<b>32.7089</b>	

ppm obtenidas por interpolación. Fuente propia

Se puede observar en la tabla 8 respecto a la solución extractora de DTPA que la

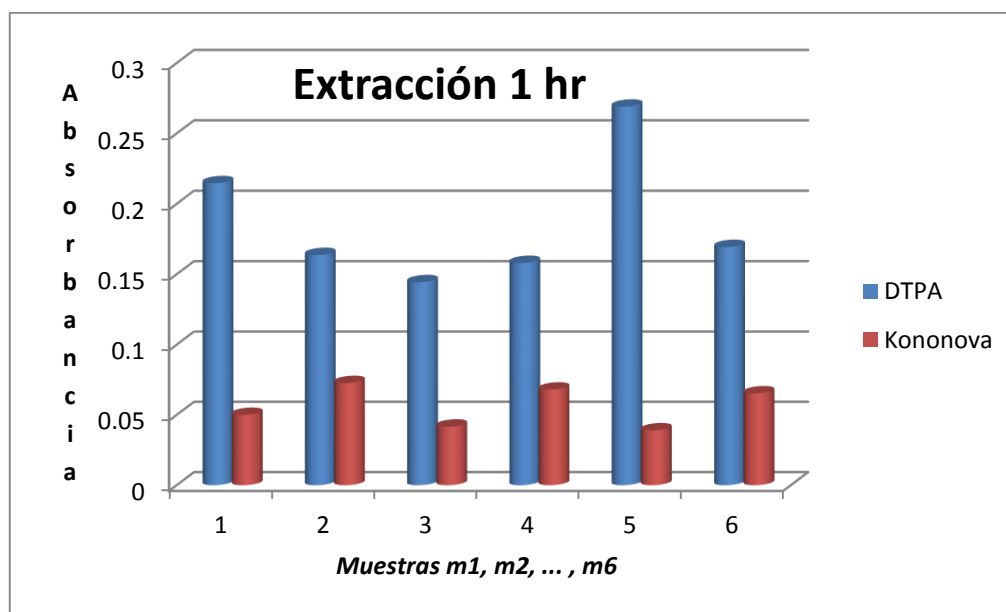
## Capítulo 3: Resultados y Discusión

interpolación para los datos utilizados son resultados significativos los cuales fluctúan entre 12 y 50 ppm. En cambio en la tabla 9 para la solución extractora de KONONOVA, la interpolación de los resultados son pequeños y fluctúan entre 3 y 6 ppm, aunque también se puede observar que 3 datos de las *muestras 4 y 6* resaltan sobre las demás ya que son las que se elevan hasta 12 y 33 ppm pudiendo esto ser afectado por el factor tiempo inicialmente, aunque también pudo haber sido la muestra por ser estas independientes.

Una vez recopilada los datos se crearon las gráficas pertinentes para poder realizar el análisis a cada muestra y así darle la correcta interpretación.

Inicialmente se realizó un comparativo de gráficas donde la grafica 3 muestra la diferencia de absorbancia entre ambas soluciones extractoras a 1hr de agitación en todas las muestras.

Grafica 3.-Extracción de AH dependiendo de las horas de agitación y los extractantes correspondientes

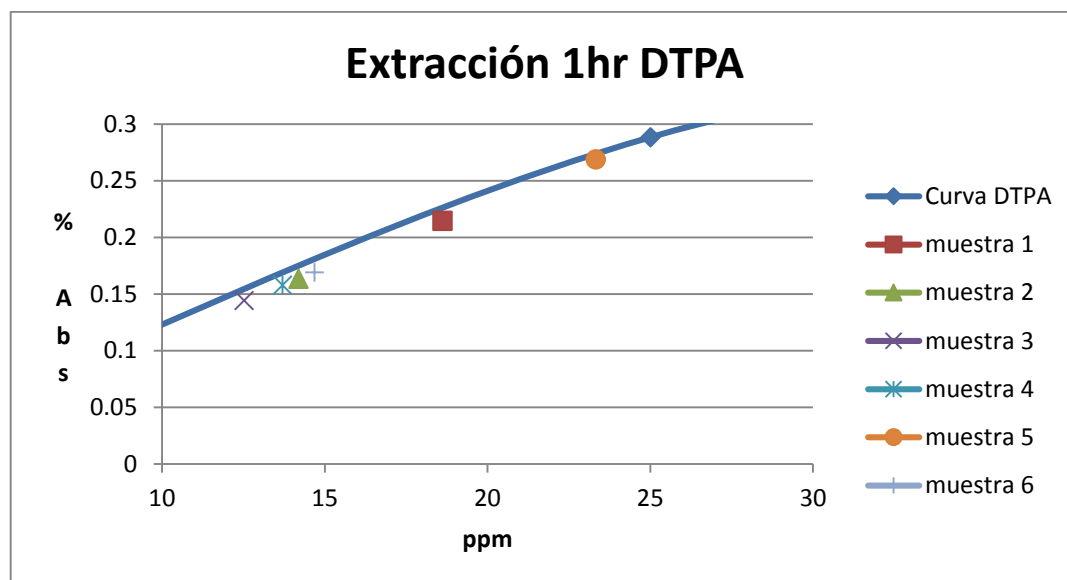


Comparación entre ambos extractantes a 1 hr de agitación. Fuente propia

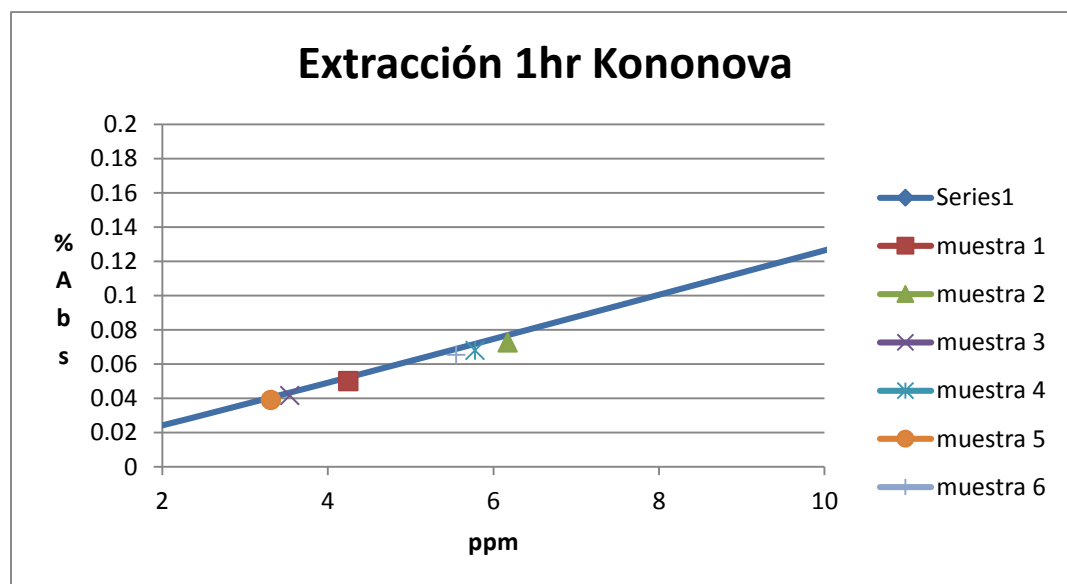
Las graficas 4 y 5 muestran la interpolación de los puntos utilizando la curva de calibración de la solución extractora de DTPA y de KONONOVA respectivamente y así poder analizarlas.

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

Grafica 4.- Interpolación de puntos en la curva de calibración DTPA basado en la tabla 8.



Grafica 5.- Interpolación de puntos en la curva de calibración KONONOVA basado en la tabla 9.



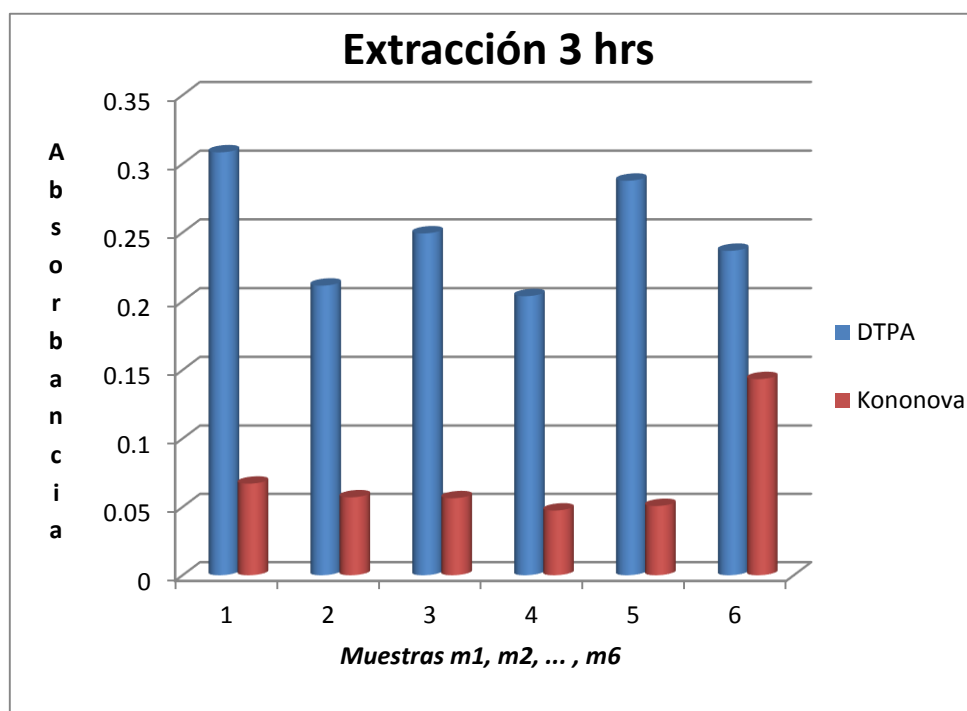
En las gráficas 4 y 5 se puede observar que el mejor rendimiento en cuanto al dato de absorbancia lo obtuvo la solución extractora de DTPA ya que se mantuvo entre 0.14 y 0.26% y de 10 a 25 ppm mientras que en la solución extractora de KONONOVA, esta dio

## Capítulo 3: Resultados y Discusión

valores muy pequeños que oscilaron entre 0.4 y 0.8% en absorbancia y de 3 a 7 ppm los cuales son muy pequeños, sin embargo también se puede observar que su variabilidad en la curva de calibración con respecto a la solución extractora de KONONOVA se mantiene más constante ya que en la curva de la solución extractora de DTPA se observa que los puntos de los datos resultan ligeramente más dispersos.

La comparación de la efectividad de las soluciones extractoras se hizo también para el tiempo de agitación de 3 hrs en todas las muestras lo cual se observa en la gráfica 6 donde la diferencia entre ambos extractantes es muy notoria.

Gráfica 6.-Extracción dependiendo de las horas de agitación y los extractantes correspondientes

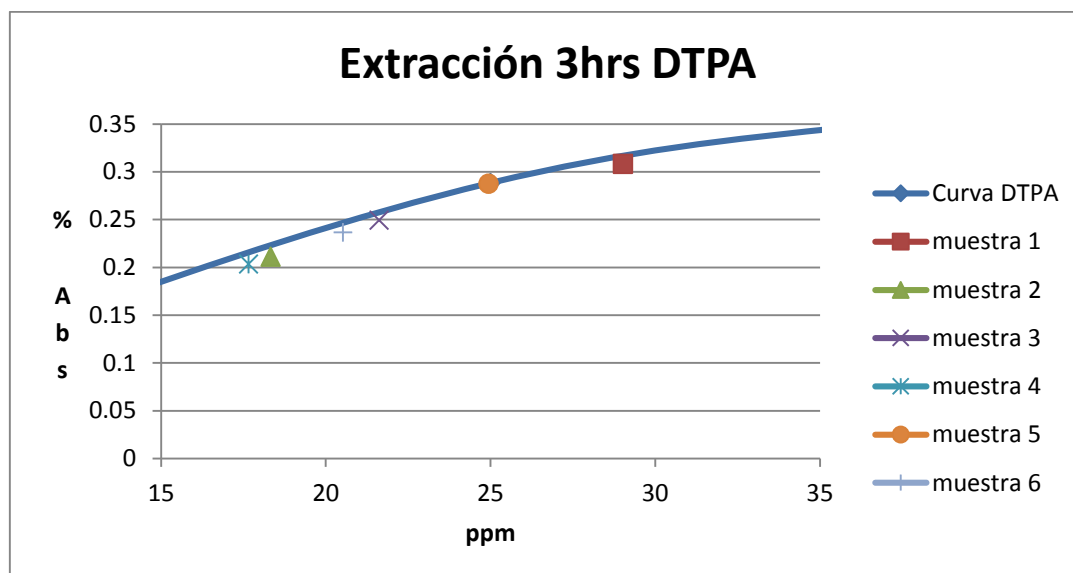


Comparación entre ambos extractantes a 3 hrs de agitación. Fuente propia

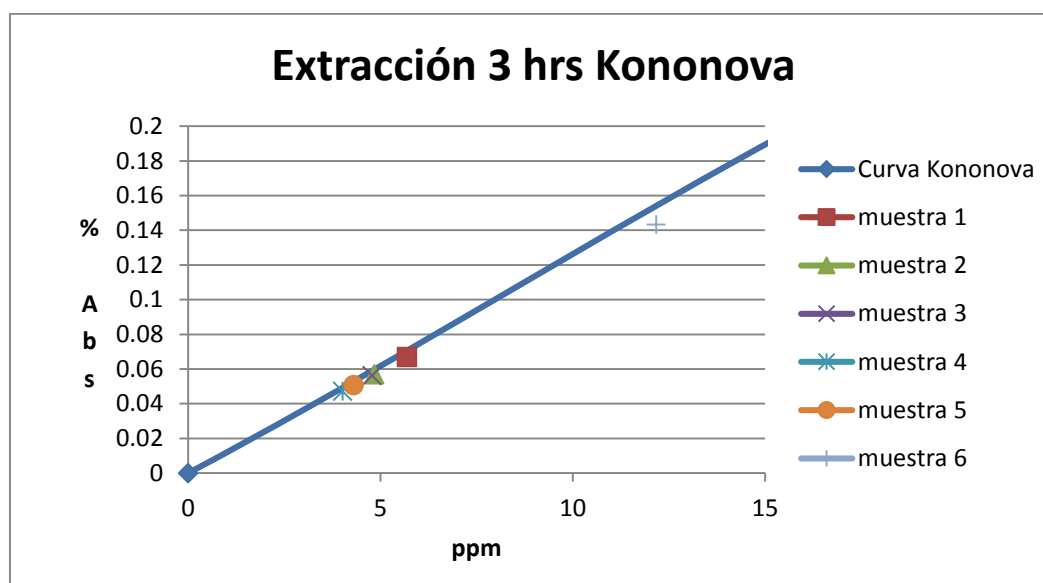
Las gráficas 7 y 8 muestran el comportamiento con sus puntos interpolados en las curvas de calibración de cada solución extractora respectivamente.

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

Grafica 7.- Interpolación de puntos en la curva de calibración DTPA basado en la tabla 8



Grafica 8.- Interpolación de puntos en la curva de calibración KONONOVA basado en la tabla 9.



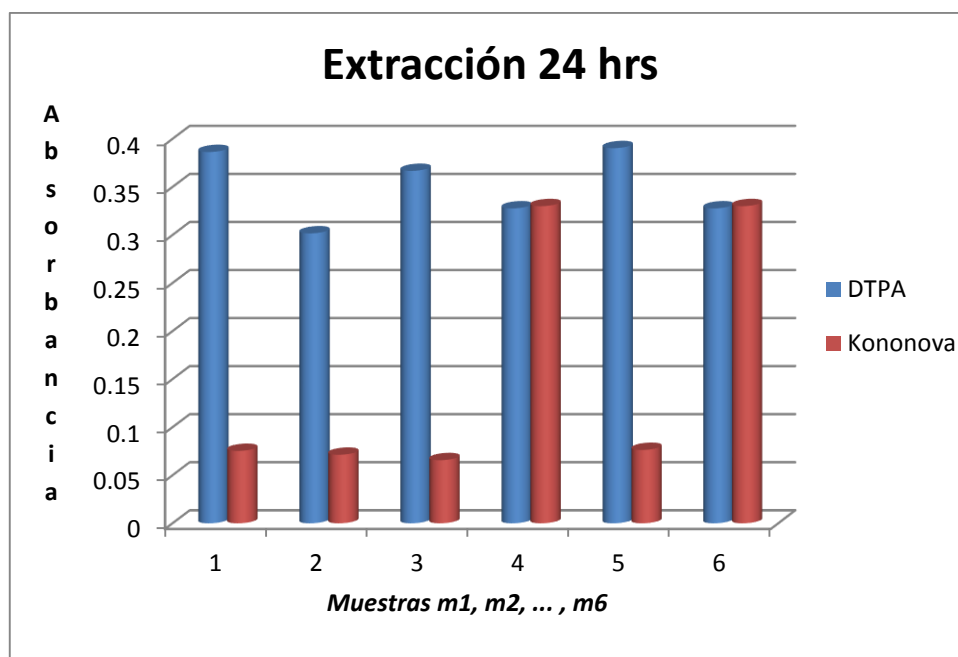
De todo lo anterior se puede resaltar que si la agitación es por un tiempo prolongado la absorbancia se ve beneficiada, dato apreciable en las graficas 7 y 8. En la grafica 7 se puede observar que la absorbancia con la solución extractora de DTPA oscila entre 0.2 y 0.35 %

## Capítulo 3: Resultados y Discusión

de absorbancia y de 15 a 30 ppm, mientras que en la grafica 8 la curva de calibración de la solución extractora de KONONOVA, la absorbancia es muy pequeña y se mantuvo constante como se muestra en la gráfica 5 la cual oscila entre 0.4 y 0.8% y de 0 a 15 ppm, solo la *muestra 6* se disparo en una absorbancia del 15 % pero pudo haber sido por el origen de las muestras.

Posteriormente se siguió la comparación con el tiempo de extracción de 24 hrs para las 6 muestras lo cual se vio reflejado en la gráfica 9, también se observa en las gráficas 10 y 11 los puntos de interpolación de ambas soluciones extractoras tomando en cuenta las curvas de calibración de las soluciones extractoras respectivamente.

Grafica 9.- Extracción dependiendo de las horas de agitación y los extractantes correspondientes.



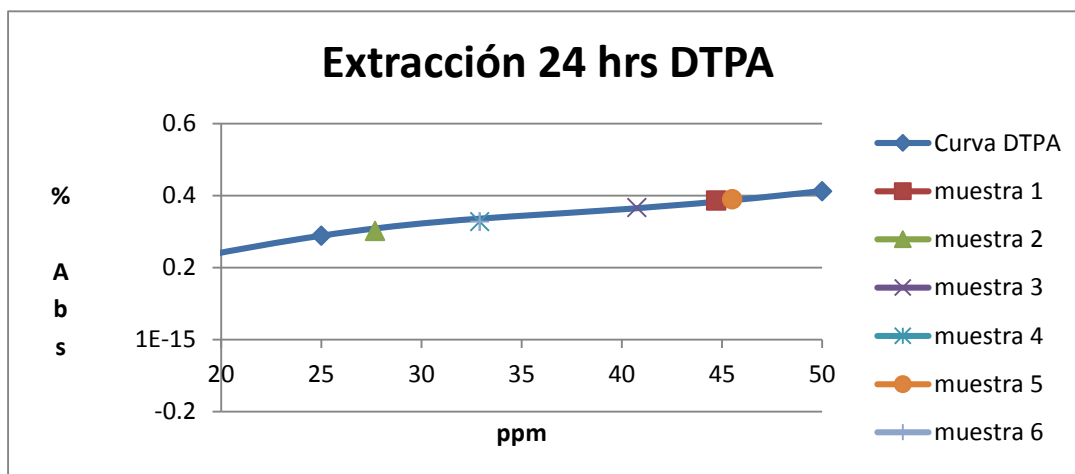
Comparación entre ambos extractantes a 24 hrs de agitación. Fuente propia.

En las gráficas 9, 10 y 11 se puede observar mas a detalle que el tiempo de extracción es un factor importante ya que los datos de la absorbancia en ambas soluciones extractoras muestran que son más eficientes en la extracción, aunque en la grafica 9 se aprecia que en

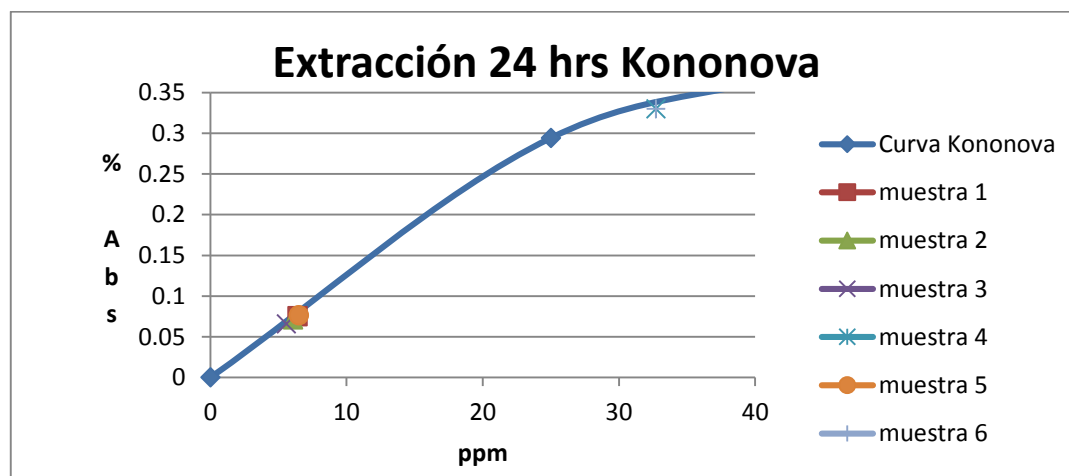
### Capítulo 3: Resultados y Discusión

el caso de la solución extractora de KONONOVA se mantiene en los mismos valores de absorbancia oscilando entre 0 y 0.07 %, mientras que en el caso de la solución extractora de DTPA se ve una mayor extracción en todos los casos llegando hasta un 0.4 % de absorbancia lo cual lo supera notablemente.

Grafica 10.- Interpolación de puntos en la curva de calibración DTPA basado en la tabla 8



Grafica 11.- Interpolación de puntos en la curva de calibración KONONOVA basado en la tabla 9.



En las gráficas 10 y 11 se aprecia la intercepción de los puntos y se puede decir que para la solución de DTPA la absorbancia oscila entre 0.3 a 0.4% y de 25 a 50 ppm, en el caso de la

solución extractora de KONONOVA podemos apreciar que los valores de absorbancia son muy pequeños y fluctúan entre 0.05 y 0.1% y de 0 a 10 ppm aunque cabe mencionar que en el caso de la solución de KONONOVA hay un dato disperso que se ve reflejado en la *muestra 4 y 6* el cual es equivalente a la solución de DTPA y curiosamente se puede decir que ambas muestras y soluciones empleadas extrajeron casi la misma cantidad, sin embargo las razones de su variación en este tiempo de agitación pudo haber sido por diferentes factores como: el extractante, el tiempo de agitación, el origen de la muestra, etc.

Finalmente para poder calcular el % de C de los AH extraídos con las soluciones extractoras empleadas, se realizó las siguientes operaciones

### 3.4 Contenido en % de Carbono de los Ácidos Húmicos (%C de los AH)

Dentro de los análisis de los resultados se calcularon las ppm y el % de C de AH, para ello utilizamos la base de datos que se generaron en las tablas 8 y 9 de los cuales calculamos las ppm que se interpolaron y una vez conocidas estas poder calcular el % de AH lo que se determino a través de la siguiente formula según la metodología MVR (Reid, B, & Reid, J, 2013).

Formula 1:

$$\text{ppm de ácido húmico} = (\text{ppm de ácido húmico de la curva estándar}) (\text{factor})$$

Donde: ppm de ácido húmico = (ppm de ácido húmico de la curva estándar) (25)

$$\text{Factor} = 50/2 = 25$$

$$\text{Factor de dilución} = 50/1 = 50$$

Formula 2: % ácido húmico = ppm ácido húmico/10, 000

## Capítulo 3: Resultados y Discusión

### 3.5 Análisis estadístico

Las tablas 10 y 11 muestran %C de AH y los datos de % ppm de C de AH del proceso de extracción con las soluciones extractoras de DTPA y de KONONOVA

Sustituyendo los datos en la formula se obtuvo las siguientes tablas con los siguientes resultados:

Tabla 10.- % de C de los AH y % ppm de C de AH utilizando la ecuación 1 y 2 con el extractante DTPA Nuevos datos a partir de la tabla 8. Fuente propia

	<b>DTPA</b>					
	1 hora		3 horas		24 horas	
	%AH	%ppm AH	%AH	%ppm AH	%AH	%ppm AH
<i>muestra 1</i>	0.0931	930.6358	0.1451	1451.0724	0.2235	2235.2547
<i>muestra 2</i>	0.0710	709.5376	0.0916	916.1850	0.1384	1384.0483
<i>muestra 3</i>	0.0626	625.7225	0.1081	1080.9249	0.2038	2037.5335
<i>muestra 4</i>	0.0685	684.9711	0.0883	882.9480	0.1645	1645.4424
<i>muestra 5</i>	0.1166	1166.1850	0.1247	1247.1098	0.2275	2275.4692
<i>muestra 6</i>	0.0734	734.1040	0.1026	1026.0116	0.1645	1645.4424

Tabla 11.- % de C de los AH y % ppm de C de AH utilizando la ecuación 1 y 2 con el extractante KONONOVA. Nuevos datos a partir de la tabla 9. Fuente propia

	<b>KONONOVA</b>					
	1 hora		3 horas		24 horas	
	%AH	%ppm AH	%AH	%ppm AH	%AH	%ppm AH
<i>muestra 1</i>	0.0212	212.3443	0.0285	284.5413	0.0320	319.9320
<i>muestra 2</i>	0.0309	308.6070	0.0242	242.0725	0.0303	302.9445
<i>muestra 3</i>	0.0177	176.9536	0.0239	239.2412	0.0279	278.8788
<i>muestra 4</i>	0.0289	288.7882	0.0201	201.0193	<b>0.1635</b>	1635.4467
<i>muestra 5</i>	0.0166	165.6285	0.0215	215.1755	0.0324	324.1789
<i>muestra 6</i>	0.0277	277.4632	<b>0.0609</b>	608.7203	<b>0.1635</b>	1635.4467

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

En las tablas 10 y 11 se puede observar que el % de C de los AH para ambas soluciones extractoras es pequeña y en el caso de la solución extractora de KONONOVA hasta cierta forma despreciable. Adicionalmente se retomaron los valores de materia orgánica (% M.O) (Jimarez 2013) de cada una de las muestras a partir de estos se calculó el % de carbono orgánico (% CO) con la siguiente fórmula según (Walkey y Black).

Fórmula 3:

$$\% \text{ de carbono orgánico} = \frac{\% \text{ de M. O.}}{1.724}$$

Donde: 1.724 es una constante (Jackson)

Al resolver la ecuación se obtuvo la siguiente tabla 9 donde se da información del % de M.O de cada una de las muestras. Según la norma NMX-FF-109-SCFI-2007 HUMUS DE LOMBRIZ (LOMBRICOMPOSTA) – ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA en las especificaciones fisicoquímicas del humus de lombriz menciona que el % de M.O permisible debe ser de 20 a 50 % en materia seca, por lo cual los datos del % de M.O de las muestras estudiadas son aceptables ya que están dentro del rango establecido; lo cual se refleja también en los datos del cálculo del % de CO.

Tabla.12- % de M.O y % de CO de todas las muestras

Muestras	% Materia Orgánica	% de Carbono Orgánico
<i>Muestra 1</i>	39	22.6218
<i>Muestra 2</i>	42	24.3619
<i>Muestra 3</i>	37	21.4617
<i>Muestra 4</i>	38	22.0418
<i>Muestra 5</i>	41	23.7819
<i>Muestra 6</i>	39	22.6218

Resultados del % de CO al sustituir la fórmula 3. Fuente propia.

### Capítulo 3: Resultados y Discusión

Para conocer realmente el % de C de los AH de cada una de las muestras a través de las dos soluciones extractoras empleadas, el dato de % CO se le considero como el 100% de carbono ligado.

Realizando las operaciones necesarias se obtuvieron los siguientes datos los cuales se observan en la tabla 13.

Tabla 13.- %C de AH considerando que %CO ligado es el 100%

	DTPA			KONONOVA		
	1 hr	3 hrs	24 hrs	1 hr	3 hrs	24 hrs
<i>Muestra 1</i>	0.4114	0.6414	<b>0.9881</b>	0.0939	0.1258	0.1414
<i>Muestra 2</i>	0.2912	0.3761	0.5681	0.1267	0.0994	0.1244
<i>Muestra 3</i>	0.2916	0.5037	0.9494	0.0825	0.1115	0.1299
<i>Muestra 4</i>	0.3108	0.4006	0.7465	0.1310	0.0912	<b>0.7420</b>
<i>Muestra 5</i>	0.4904	0.5244	0.9568	0.0696	0.0905	0.1363
<i>Muestra 6</i>	0.3245	0.4535	0.7274	0.1227	0.2691	0.7230

Por ejemplo podemos decir que si para la muestra 1 el 22.6218 del % CO de la tabla 12 es el 100% del cual el 0.09306358 a 1 hr de agitación con la solución extractora de DTPA de la tabla 10 equivale al 0.4% de AH de la tabla 13, y el 99.6% restante pertenece a otros componentes orgánicos.

Para la misma muestra 1 el 22.6218 del % CO de la tabla 12 es el 100% del cual el 0.14510724 a 3 hrs de agitación con la solución extractora de DTPA de la tabla 10 equivale al 0.6% de AH de la tabla 13, y el 99.4% restante pertenece a otros componentes orgánicos.

De igual manera para la muestra 1 el 22.6218 del % del CO de la tabla 12 es el 100% del cual el 0.22352547 a 24 hrs de agitación con la solución extractora de DTPA de la tabla 10 equivale al 1% de AH de la tabla 13 y el 99% restante no se conoce.

El mismo ejemplo es para la solución extractora de KONONOVA para la muestra 4 el 22.0418 del % CO de la tabla 12 es el 100% del cual el 0.0289 a 1 hr de agitación de la tabla 11 equivale al 0.13% de la tabla 13 y el 99.87% no se conoce.

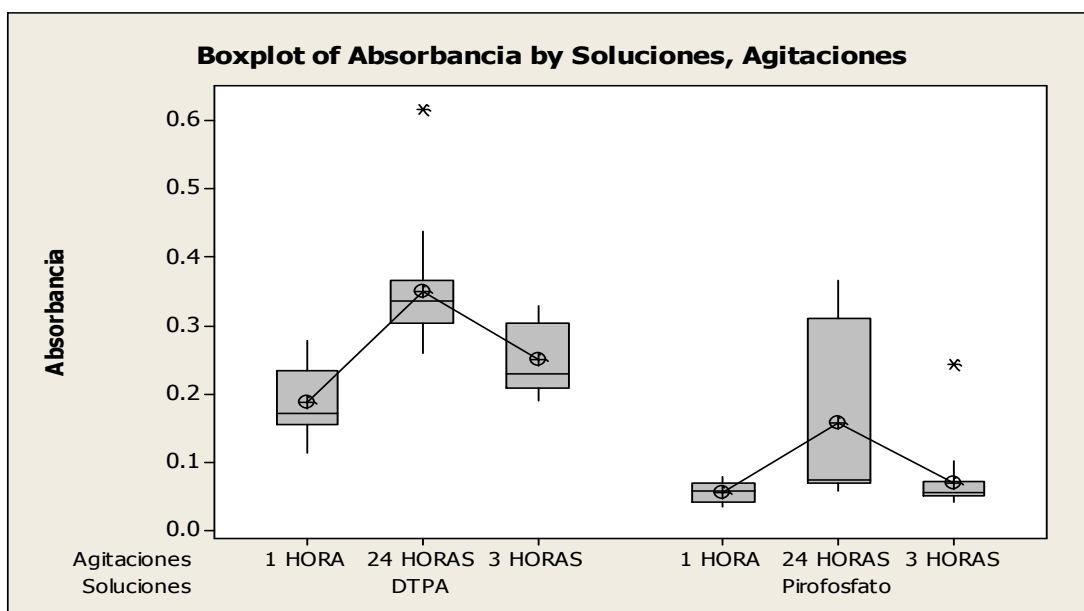
Para la misma muestra 4 el 22.0418 del % CO de la tabla 12 es el 100% del cual el 0.0201 a 3 hrs de agitación con la solución extractora de KONONOVA de la tabla 11 equivale al 0.09% de AH de la tabla 13, y el 99.91% restante no se conoce.

De igual manera para la muestra 4 el 22.0418 del % del CO de la tabla 12 es el 100% del cual el 0.1635 a 24 hrs de agitación con la solución extractora de DTPA de la tabla 11 equivale al 0.74% de AH de la tabla 13 y el 99.26% restante no se conoce.

#### 3.6 Análisis de varianza ANOVA

Para concluir el presente trabajo los datos de la tabla 7 que presenta el promedio de las absorbancias según su hora de agitación de cada muestra, se analizaron estadísticamente con los análisis de varianza ANOVA por sus siglas en ingles (Analysis of Variance), lo cual se puede apreciar en la grafica 12.

Grafica 12.- Análisis de varianza ANOVA del promedio de las muestras estudiadas con ambas soluciones extractoras. Fuente propia.



#### Two-way ANOVA: Absorbancia versus Soluciones, Agitaciones

Source	DF	SS	MS	F	P
Soluciones	1	0.75467	0.754674	154.71	0.000
Agitaciones	2	0.33589	0.167947	34.43	0.000
Interaction	2	0.01901	0.009503	1.95	0.148
Error	102	0.49756	0.004878		
Total	107	1.60713			

S = 0.06984 R-Sq = 69.04% R-Sq(adj) = 67.52%

De los resultados obtenidos por el análisis de varianza se puede apreciar un resultado favorable hacia la solución extractante de DTPA.

En la grafica 12 se puede observar que la solución extractora de DTPA en comparación con la solución extractora de KONONOVA presenta una mejor eficiencia de extracción en un tiempo de agitación de 24 hrs. Además también podemos darnos cuenta a grandes rasgos que en el comportamiento de variabilidad la solución extractora de KONONOVA a 1 hr de agitación presenta mejor estabilidad ya que su media no varía como las demás, asimismo nos damos cuenta que ambas soluciones extractoras a 24 hrs de agitación tienen una mayor eficiencia para la extracción de AH en lombricompostas y comparando ambos grupos el mejor extractante para lombricompostas es la solución de DTPA ya que en todos los tiempos de agitación presento mejor extracción mientras que el extractante de KONONOVA se mantuvo casi constante y con cantidades pequeñas de extracción.

## CONCLUSIONES

---

De los resultados obtenidos de la extracción de ácidos húmicos en lombricompostas comparando dos soluciones extractoras, se concluye lo siguiente:

No se cumple la hipótesis ya que los resultados muestran que la mejor solución extractora para ácidos húmicos en lombricompostas es la solución extractora de DTPA.

Se encontraron diferencias significativas a un nivel del 0.05 % para el tiempo y el método utilizado. En particular cabe destacar que el método con DTPA dio mejores resultados ya que la media de los ácidos húmicos obtenidos de las lombricompostas, fue mucho mayor que con la solución extractora de KONONOVA.

Para el caso de la solución extractora de KONONOVA, de los valores obtenidos solo destacaron tres muestras, la *m4* y *m6* a 24 horas y la *m6* a 3 horas, las cuales pudieron dispararse principalmente por el tiempo de agitación.

Además se debe de tomar en cuenta que normalmente la solución extractora de KONONOVA es conocida y utilizada para la extracción de sustancias húmicas en suelo, caso contrario de la solución extractora de DTPA conocida para la extracción de ácidos húmicos en lombricompostas.

Se puede sugerir que se utilice la solución extractora de DTPA para el análisis en la extracción de sustancias húmicas en suelos ya que su técnica es conocida para lombricompostas en el rendimiento de la extracción.

Cabe destacar que se podría realizar una comparación de costos de reactivos para las soluciones extractantes y así conocer el costo de la solución que dio mejores resultados.

Para la evaluación de las sustancias húmicas, primeramente se deberá evaluar los fines de la misma, ya que dependerá del material de origen a estudiar (suelos o materiales orgánicos), para suelos se puede recomendar seguir usando el método de KONONOVA mientras que para materiales orgánicos con fines de estudio o una mejor caracterización de sustancias húmicas se recomienda utilizar la solución extractora de DTPA, ya que esta es exclusiva de lombricompostas.

## *CONCLUSIONES*

---

Es importante conocer los componentes de la composta o lombricomposta que se desee utilizar ya que muchas veces no se sabe el origen de las mismas y por lo tanto se ignora si su aplicación puede ser beneficiada o perjudicial de ahí la necesidad de su previa caracterización fisicoquímica y microbiológica.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L., MacCarthy, P. 1985.** An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. pp. 1-9. *In* Humic substances in soil, sediment, and water: Geochemistry, isolation and characterization. G. R. Aiken et al. (ed.). Wiley-Interscience, New York.
- Ayuso, M., J.L. Moreno, T. Hernández, and C. García. 1997.** Characterisation and evaluation of humic acids extracted from urban waste as liquid fertilisers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 75:481-488.
- Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J. L., García, C., Hernández, T., (2008).** Application of fresh and composted organic waste modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology*, 40:318-329.
- Bernal, M.P., C. Paredes, M.A. Sánchez-Monedero, and J. Cegarra. 1998.** Maturity and stability parameters of compost prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology*. 63:91-99.
- Berrow, M. L. & Mitchell, R. L. (1980).** Location of trace elements in soil profiles: total and extractable contents of individual horizons. *Trans of Royal Society of Edinburgh: Earth Science*. 71:103–121pp.
- Caravaca, F., G. Tortosa, L. Carrasco, J. Cegarra, and A. Roldan. 2006.** Interaction between AM fungi and a liquid organic amendment with respect to enhancement of the performance of the leguminous shrub *Retama sphaerocarpa*. *Biology and Fertility of Soils* 43:30-38.
- Cegarra, J. 1978.** Fraccionamiento de fertilizantes orgánicos y de sus productos de humificación. Tesis Doctoral. CEBAS-CSIC. Murcia.
- Cegarra, J., D. Garcia, A. Navarro, and M.P. Bernal. 1994.** Effects of heat on the alkali extraction of humic substances from peat. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25:2685-2695.
- Cegarra, J., L. Reverte, A. Lax, and C. F. 1974.** Factores que influyen en la extracción y fraccionamiento de la materia orgánica del suelo. *Anales de Edafología y Agrobiología* 33:575-590.
- Chang Chien, S.W., M.C. Wang y C.C Huang. 2006.** Reactions of compost-derived humic substances with lead, copper, cadmium and zinc. *Chemosphere*. 64:1253-1361.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Chefetz, B. (1996).** Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. *Journal of Environmental Quality*. , 25, 776-785.
- Chefetz, B., Tarchitzky, J., Ashish, P., Desmukh, P., Hatcher, G., Chen y., (2002).** Characterization of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an agriculture soils. *Soil Science Society of America Journal*. 66:129-141.
- Ciavatta y col., L. V. (1988).** A first approach to the characterization of the presence of humified materials in organic fertilizers. *Agrochimica XXXII* , 510-517.
- De Saussure, T.1804.** Recherches Chemiques sur la Végétation. París. Environment:39-46.
- Francioso, O., C. Ciavatta, V. Tugnoli, S. Sánchez-Cortes, and C. Gessa. 1998.** Spectroscopic characterization of pyrophosphate incorporation during extraction of peat humic acids. *Soil Science Society of America Journal* 62:181-187.
- Fukitake, N., A. Kusumoto, Y Yanagi, T. Suzuki y H. Otsuka. 2003.** Properties of soil humic substances in fractions obtained by sequential extraction with pyrophosphate solutions at different pHs. *Soil Science and Plant Nutrition*. 49: 347-353.
- Gaffney, J. S., Marley, N. A., Clark, S. B. 1996.** Humic and fulvic acids and organic colloidal materials in the environment. pp. 2-17. *In Humic and Fulvic Acids. Isolation, structure and Environmental Role.* J.S. Gaffney, N. A. Marley, S. B. Clark (Eds).
- García, C., T. Hernandez, F. Costa, B. Ceccanti, and A. Polo. 1992a.** A comparative chemical structural study of fossil humic acids and those extracted from urban wastes. *Resources Conservation and Recycling*. 6:231-241.
- García, D., J. Cegarra, A. Roig, and M. Abad. 1994.** Effects of the extraction temperature on the characteristics of a humic fertilizer obtained from lignite. *Bioresource Technology*. 47:103-106.
- García, D., J. Cegarra, M. Abad, and F. Fornes. 1993b.** Effects of the extractants on the characteristics of a humic fertilizer obtained from lignite. *Bioresource Technology* 43:221-225.
- García, Lucas, Encarnación (2013).** Estrategias para la recuperación de los suelos degradados en ambientes semiáridos: adición de dosis elevadas de residuos orgánicos de

## BIBLIOGRAFÍA

---

origen urbano y su implicación en la fijación de carbono. (Tesis de doctorado, universidad de Murcia).

**Giusquiani, P. G. (1994).** *Spectroscopic comparison between humic and fulvic acids from urban waste compost and soil.* *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health.* Elsevier, New York.: ed. N. Senesi & T.M. Miano.

**Hayes, M. H. B. 1985.** Extraction of humic substances from soil. En: Aiken, G.R; D.M, MckNight. y R. L. Wershaw (Edit.) *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water.* Wiley, New York, pp. 329-362.

**Hernández, Hernández, Antelma (2011).** “*Ácidos Húmicos y Fúlvicos en la producción Hidropónica de chile manzano (Capsicum pubescens R y P) en invernadero* “(Tesis de maestría, Colegio de postgraduados, Institución de enseñanza e investigación en ciencias Agrícolas).

**Huang, G.F, Q.T. Wu, J.W.C. Wong y B. B. Nagar. 2006.** Transformation of organic matter during co-composing of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology.* 97: 1834 – 1842.

**Jimarez O. Dulce R, 2013.** *Evaluación de la calidad de humus de lombriz a través de las especificaciones establecidas en la norma mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007 Humus de lombriz-Lombricomposta-Especificaciones y métodos de prueba.* Tesis de licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Pp. 34 – 35.

**Kononova, M.M. 1966.** Organic matter, its nature, its role in soil formation and in soil fertility. Second English Edition. Pergamon Press, Oxford.

**López, F. J. M. (2006).** Efecto del humus de lombriz (*Eisenia foetidae*) en diferentes dosis en un cultivo de brócoli (*Brassica oleraceae*, var., *Patriot*) a nivel de invernadero Tesis profesional de Biología. Benemerita Universidad Autonoma de Puebla. Pp. 3 – 42.

**MacCarthy, P. 2001.** The principles of humic substances. *Soil Science.* 166: 738–751.

**MacCarthy, P., Clapp, C. E., Malcolm, R. L., Bloom, P. R. 1990.** An introduction to soil humic substances. pp. 161-186 *In Humic substances in Soil and Crop Sciences: Selected readings.* P. MacCarthy, C. E. Clapp, R. L. Malcolm, P. R. Bloom (Eds).

**Mendoza ,G. L (2006).** *Manual de lombricultura.* Tuztla Gutiérrez Chiapas, Mex., DE CEC y TECH.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Miikki, V., N. Senesi, and K. Hänninen. 1997.** Characterization of humic material formed by composting of domestic and industrial biowastes. Part 2. Spectroscopic evaluation of
- NORMA MEXICANA NMX-FF-109-SCFI-2007.(2007).** *HUMUS DE LOMBRIZ (LOMBRICOMPOSTA) ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA.*
- Orlov, D.S. 1995.** Humic Substances in soils and general theory of humification. Russian translations series III. A.A. Balkeman/Rotherdam/Brookfield.
- Ouatmane, A. 2000.** Etude du compostage de quelques dechets organiques: I- Approchephysico-chimique, calorimetrique et spectroscopique de l'etude de l'etat de maturation des composts. II- Analyse qualitative et quantitative de la fraction humique. PhD Thesis. Universite Cadi Ayyad. Faculte des Sciences.
- Peña Méndez, Eladia M, Havel Josef and Patocka, Jirí, (2005).** Humic substances - compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*, (3): 13.24, Winter 2005.
- Peña. A. Raul (2008).** “La importancia de la materia orgánica en la fertilización del suelo”. *El productor Revista de información y asistencia* , X (Numero 2), P.20-25.
- Pineda, M. R. (1994).** *Lombricultura: Humus de lombriz.* Preparaciones Cipca-piura/CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y PROMOCIÓN DEL CAMPESINADO, PERÚ. Pp. 7 – 72.
- Popov, A. I. (2008).** The probable mechanism of biological effect of humic substances. In: Perminova y Kulikova (eds.). *From Molecular Understanding to Innovative Applications of Humic Substances.* International. Humic Substances Society. Humus Sapiens. Moscow. pp453-456.
- Porta, J., Lopez-Acevedo, M., and Roquero,C., (2005).** Información de los suelos para la agricultura y el medio ambiente (Mundi-Prensa Editorial: Madrid).
- Powlson, D. S., Brookes, P. C., and Christensen, B. T., (1987).** Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic-matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry*, 19: 159 -164.
- Raij, B.; van de Andrade, J.C.; Cantarella, H & Quaggio, J. (Eds). (2001).** *Análise química para avaliacao da fertilidades de solos tropicais.* Instituto Agronómico Campinas 284 pp.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Rajae, A., S. Amir, S. Sovabi, P. Winterton, V. Nobira, V. Revel, J.C. Revel y M.Hafidi, (2008).** The fulvic acids fractions as it changes in the mature phase of vegetable oil-mill sludge and domestic waste composting. *Bioresource Technology*. XXX: 1-7.
- Reid, B. & Reid, J. (2013,30 de octubre).** Mesa verde 100% Nuevo México Humates. [humates.com]. Recuperado de <http://www.humates.com/contactmvr.html>.
- Reines, A. M., Rodríguez, A. C., Sierra, P. A. y Vázquez, G. Ma. M. (1998).** Lombrices de tierra con valor comercial. *Biología y técnicas de cultivo*. México, Ducere, S.A. de C. V. Pp. 7 – 61.
- Rodríguez Torres Maria Dolores, (2008).** Extracción secuencial y caracterización fisicoquímica de sustancias húmicas y su efecto sobre el crecimiento del trigo. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Investigación Para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR-Michoacán.
- Ros, M., 2000.** Recuperación de suelos agrícolas abandonados mediante el reciclaje en los mismos de residuos orgánicos de origen urbano. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Sánchez Sánchez. Antonio (2002).** Mejora en la eficiencia de los quelatos de hierro sintéticos a través de sustancias húmicas y aminoácidos. Tesis de doctorado. Universidad de Alicante.
- Sánchez-Monedero, M.A., A. Roig, C. Martínez-Pardo, J. Cegarra, and C. Paredes. 1996.** Amicroanalysis method for determining total organic carbon in extracts of humic substances. Relationships between total organic carbon and oxidable carbon. *Bioresource Technology*. 57:291-295.
- Schnitzer, M. 1978.** Humic substances: Chemistry and reactions. En *Soil Organic Matter*. Edit. Schnitzer, M y S.U. Khan. Elsevier Amsterdam. pp. 1-64.
- Schnitzer, M. 1990.** Aliphatics in Soil Organic Matter in Fine-Clay Fractions. *Soil Science Society of American*. 54: 98-105.
- Schnitzer, M., H. Diné, H.R. Schulten, T. Paré y S. Lafond. 2000.** Humification of duck farm wastes. In: Ghabour, E.A., Davies, G (Eds.) *Humic Substances: Versatile Components of Plants, Soil and Water*, The Royal Society of Chemistry. pp. 20-34.
- Schnitzer, R.M., (1978).** Humic Substances: Chemistry and reactions. In *Soil Organic Matter*. (eds M. Schnitzer and S.U. Khan), pp. 164. Elsevier.

## BIBLIOGRAFÍA

---

**Shulten, H. R. 1996.** A new approach to the structural analysis of humic Substances in water and Soils: Humic acid oligomers pp.42-56. In Humic and Fulvic Acids. Isolation, Structure and Enviromental Role. Ed. Gaffney J.S., Marley N. A., Clark S. B. Developed from symposium sponsored by the division of Industrial and Engineering Chemistry, Inc. American Chemical Society, Washington, DC.

**Shulten, H. R. Schnitzer, M. 1993.** Naturwisserschaften. 80:29.

**Singer, M. J., and Ewing, S., (2000)** Soil Quality. In Handbook of soil Science. Chapter 11 (ed. Sumner, M. E.), 271- 298, CRC Press, Boca Raton, Florida.

**Stevenson F.J. 1994.** Humus Chemistry. Genesis, composition and Reactions. Second Edition. John Wiley.y Sons Inc N.Y.

**Tomati, U., E. Madejon, E. Galli, D. Capitani, and A.L. Segre. 2001.** Structural changes of humic acids during olive mill pomace composting. Compost Science & Utilization. 9:134-142.

**Tortosa Muñoz Germán, (2007).** Extracción de material orgánica soluble de un compost de orujo de olive de dos fases. Tesis de licenciatur. Universidad de Murcia.

**Vaughan, D. Malcolm, R. E., Ord, B. G. 1985.** Influence of humic substances on biochemical processes in plants. pp. 77-108. *In* Soil organic matter and biological activity.D. Vaughan, R. E. Malcolm (eds.). Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publ., Dordrecht.

**Xelhuantzi Carmona Jaqueline, Salazar Gutiérrez. Gerardo, Domínguez Araujo Gerardo, Arias Chávez Luis Eduardo, Chávez Durán Álvaro Agustín, Galindo Barboza Alberto Jorge (2012).** Manual para la elaboración de abonos orgánicos apartir de técnicas como la composta y lombricomposta. (2) , I.S.B.N.:978-607-425-809-7. (INIFAP, Recopilador) Altos de jalisco, Guadalajara, México: SAGARPA.