



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

DEPARTAMENTO INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA

TESIS

“Microencapsulación de fertilizantes de liberación controlada”

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

Ingeniero Químico

PRESENTA

Aldo Andrés López Nataret

DIRECTORES DE TESIS

DR. Marco Antonio Sánchez Medina

DR. Iván Antonio García Montalvo

Oaxaca de Juárez, Oaxaca a Febrero de 2022



AGRADECIMIENTOS

A mis padre y hermanos, por su educación, apoyo y amor incondicional en esta etapa de mi vida.

A mis amigos más cercanos de la carrera de ingeniería química, por su apoyo constante día a día, a sus grandes consejos y motivaciones, por que sin ellos este camino fuera mucho más difícil.

A mis amigos de toda la vida, por siempre estar a mi lado en los buenos y malos momentos de mi vida, por que sin su amor y cariño no tuviera el optimismo de alcanzar esta importante meta.

A mis asesores el Dr. Iván Antonio García Montalvo y el Dr. Marco Antonio Sánchez Medina, por todo su apoyo brindado y valiosos conocimientos compartidos a lo largo del desarrollo de esta tesis.

A mis compañeros del laboratorio de alimentos del Instituto Tecnológico de Oaxaca, por su apoyo, enseñanza y disposición que me brindaron.

Al departamento de química y bioquímica, y a sus profesores, por la educación ofrecida a lo largo de este ciclo.

RESUMEN

El objetivo del proyecto es desarrollar, formular y evaluar la microencapsulación de ácidos humícos y fúlvicos para ser empleados en la fertilización a través de la liberación controlada para plantas de ornato con un alto valor comercial, con ello se busca generar una alternativa de reducción en el impacto ambiental provocado por otros tipos de fertilizantes para los mismos fines, es importante mencionar que la producción de plantas de ornato es considerada como una industria que requiere de costos elevados durante su iniciación y mantenimiento, destacando el incremento de costos debido a la utilización de materiales importados tales como: vermiculitas, lana roca, turbas, muzgos, nitrato de potasio, nitrato de calcio y fosfonitratos, se debe tomar en cuenta que los productos comerciales más utilizados para la fertilización han demostrado poseer propiedades fisicoquímicas adecuadas para el desarrollo de los cultivos por lo tanto, el desarrollo de fertilizantes alternativos a los tradicionales habrán de cuidar de manera especial dichos aspectos, además de no ocasionar daño al suelo evitando así la generación de contaminantes residuales.

ÍNDICE

	pág
INTRODUCCIÓN.....	6
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO.....	8
1.1 Ácidos Húmicos.....	9
1.2 Ácidos Fúlvicos.....	14
1.3 Fertilizantes de Liberación Controlada.....	16
1.4 Esferificación.....	19
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES.....	22
2.1 Preparación y Caracterización de Fertilizantes de.....	22
Liberación Lenta Encapsulado Por Polímero Superabsorbente a Base de Almidón	
2.2 Esferas de Quitosano-Almidón Preparadas por.....	23
Gelificación Ionotrópica como Matrices Potenciales para la Liberación Controlada de Fertilizantes	
CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
CAPÍTULO IV. HIPÓTESIS.....	28
CAPÍTULO V. JUSTIFICACIÓN.....	29
CAPÍTULO VI. OBJETIVOS.....	32
CAPÍTULO VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
CAPÍTULO VIII. RESULTADOS.....	45
7.9 Conclusión.....	61
CAPÍTULO IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
Anexos.....	70
A. 1 Cronograma de Actividades.....	71
A. 2 Calendarización de Entregables.....	72

ÍNDICE FIGURAS, TABLAS Y GRAFICOS

Figuras

Figura 1. Esfera de aminoácidos.....	48
Figura 2. Esfera de AH/AF.....	48
Figura 3. Filtrado y lavado de la muestra.	54
Figura 4. Determinación del tamaño de la plata y trasplantación.	55
Figura 5. Cunas de moisés después de la medición de raíz.	56
Figura 7. Observación de planta control después de la adición de agua.....	57
Figura 6. Adición de esferas de AH/AF a la planta prueba.	57

Tablas

Tabla 1. Medición del potencial de hidrogeno.....	45
Tabla 2. Medición de viscosidad en SSU.....	46
Tabla 3. Densidades ópticas medición de absorbancia.	46
Tabla 4. Resultados de pruebas fisicoquímicas del producto esferificado.	49
Tabla 5. Resultados de determinación de cenizas.....	50
Tabla 6. Resultados de determinación de humedad.....	51
Tabla 7. Resultados de determinación de proteínas.....	52
Tabla 8. Resultados de determinación de lípidos.	53
Tabla 9. Resultados de determinación de fibra cruda.	54
Tabla 10. Tamaño de las plantas.	56
Tabla 11. Longitud de la raíz.....	57

Graficas

Grafica 1. Intervalos de Gramos de alginato vs Productos.....	59
---	----

INTRODUCCIÓN

Se ha considerado a la materia orgánica (MO) del suelo, como un factor esencial para la fertilidad de este, por sus numerosas cualidades, los componentes orgánicos del suelo están relacionados con la productividad y el desarrollo benéfico de las plantas, ya sea que se acople íntegramente con los factores del medio, siendo biológicos o climáticos. Las sustancias húmicas (SH) tienen una influencia directa en el crecimiento y nutrición vegetal, incrementando la productividad de los cultivos (1). Las SH provienen de desechos animales y plantas descompuestos microbial y químicamente, son de color oscuro, con carácter ácido, elevado peso molecular, resistentes al ataque microbiano y con propiedades refractarias (2, 3), en el suelo se encuentran formando complejos macromoleculares que pueden estar ligados a cationes como el Ca (II), Fe (III) y Al (III), combinados con los minerales de las arcillas, o asociados a algunas sustancias no húmicas como los carbohidratos, mediante uniones de carácter débil, aunque también se pueden unir covalentemente (3, 4).

El contenido de materia orgánica y SH difiere con el tipo de suelo, así en los suelos naturales este porcentaje es mayor que en los suelos destinados a la agricultura, donde el tipo de cultivo y el grado de mecanización aplicado aumenta la mineralización de la materia orgánica, siendo los nutrientes liberados asimilados por las cosechas (5), los contenidos de sustancias húmicas según el tipo de suelo van a oscilar entre el 33-75% del total de materia orgánica del suelo y dentro de un mismo suelo, el contenido y tipo de SH también difiere con la profundidad en el perfil del mismo (6, 7), con el tiempo (8) y los factores ambientales (9, 10) ya que en razón de su dinámica se van transformando y evolucionando sin cesar, con ello la procedencia de las sustancias húmicas es un factor determinante en sus propiedades fisicoquímicas.

Hoy en día, las tendencias a utilizar productos orgánicos permiten a los agricultores incrementar sus rendimientos sin alterar el medio ambiente, los ácidos fúlvicos han

despertado un gran interés en los productores del campo, entre sus múltiples beneficios posibilitan un mejor aprovechamiento de fertilizantes foliares y radicales, además de estimular el crecimiento general de la planta, lo cual se traduce en un aumento de rendimientos y mejor calidad de cosechas. Además de que mejoran la estructura del suelo al favorecer la formación de agregados y la reproducción exponencial de microorganismos (11).

Los ácidos húmicos y fúlvicos son componentes principales de los complejos órgano-minerales presentes en los suelos, por ello es determinante conocer sus propiedades fisicoquímicas, se han establecido técnicas de extracción, separación y purificación que permiten su caracterización y su dosificación a suelos para diferentes tipos de plantas, la esferificación se propone como una alternativa de fertilización de liberación controlada, la esferificación es una gelificación controlada de un líquido que, sumergido en un recipiente conteniendo una solución de sales de calcio, forma pequeñas esferas con un líquido a su interior, con la esferificación se desea modificar las propiedades texturales de los alimentos, fertilizantes o medicamentos, por lo anterior en el presente trabajo se tiene como objetivo desarrollar, formular y evaluar la esferificación de ácidos húmicos y fúlvicos para ser empleados en la fertilización de liberación controlada para plantas de ornato con alto valor comercial, generando así una alternativa de reducción en el impacto ambiental provocado por otros tipos de fertilizantes para los mismos fines.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

Los ecosistemas terrestres representan un complejo proceso heterogéneo de reacciones, siendo el Carbono (C) más interactivo, es la formación natural cuya composición y características reflejan las etapas de la evolución de la vida en la Tierra, esta es la materia natural y acumulada de los resultados de una acción combinada de diversos factores formadores, tales como organismos, clima, plantas, animales y tiempo; por lo tanto, las características del suelo son un recordatorio peculiar sobre los factores ambientales que controlan la formación de este. El C orgánico del suelo se encuentra en la materia orgánica (MO) y se compone de una mezcla heterogénea de compuestos orgánicos de diversos orígenes (12), en el subsuelo la materia orgánica se asocia principalmente con fases minerales y ambas forman complejos orgánico-minerales, la formación de estos complejos protegen a la MO de la degradación, sin embargo, los suelos no están hechos solo de minerales o sustancias orgánicas, estos dos componentes interactúan entre si y por lo tanto controlan la química de las reacciones del suelo; donde las interacciones son importantes, pero en especial en los suelos que reciben o acumulan grandes cantidades de sustancias orgánicas (12, 13).

El término *humus*, se utilizó en la antigüedad para hacer referencia a la totalidad del suelo, después se ha empleado como sinónimo de materia orgánica, mientras que en la actualidad, hace referencia a una fracción de dicha MO que engloba a un grupo de sustancias difícilmente clasificables (14). Las formas de *humus* pueden ser la primera herramienta para evaluar cualitativamente la renovación de la MO en los suelos (14), la composición de humus es de gran importancia en la formación de la estructura del suelo junto con su mineralogía, tamaño y composición de partículas y cationes intercambiables como tales, las cuales deben estar relacionadas con las existencias de C orgánico que un suelo puede almacenar, las características de la MO afectan su estabilidad y en general a los factores de formación del suelo. La variabilidad de las formas de humus reflejan las diferentes velocidades de degradación de la MO en diferentes entornos, debido a la relación entre las formas

de humus y la degradación de la materia orgánica, donde muchos autores han investigado los efectos de la vegetación y la biota del suelo en la aparición de formas de *humus* en varios entornos; la calidad de MO u otra forma de desarrollo de *humus* básicamente depende de los mismos factores que afectan a la formación del suelo (clima, relieve, organismos, material parental y tiempo). La influencia de las sustancias húmicas (SH) es agronómicamente valiosa sobre la formación de la estructura y propiedades físicas favorables de suelos, está determinada por su interacción con la parte mineral y en gran medida depende de la composición mineralógica además del tamaño de partícula, así como en la estructura y tamaño de las moléculas de los compuestos de *humus* de los suelos, la materia húmica continuamente se está formando en los suelos y al mismo tiempo se está degradando (15, 16).

Las SH son moléculas electrolíticas y se componen de ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas residuales (HR). A las cuales se les define como macromoléculas orgánicas con una estructura química, compleja, distinta y estable, la cual proviene de la degradación de plantas y animales debido a la actividad enzimática de microorganismos y metamorfismo orgánico (17). Estas macromoléculas representan la fracción orgánica del suelo más importante por su actividad en procesos físicos, químicos y biológicos, a continuación, describiremos cada una de ellas.

1.1 ÁCIDOS HÚMICOS

Los ácidos húmicos (AH) son macromoléculas polielectrolíticas que desempeñan un papel importante en el ciclo global de carbono y nitrógeno, además participa en la regulación de la movilidad de nutrientes y contaminantes ambientales (18). Su uso en la agricultura se ha extendido al producir efectos positivos a nivel morfológico, fisiológico y bioquímico en las plantas. Se encuentran en carbones marrones como carbón de bajo rango (CBR) tipo lignito, el cual presenta bajo grado de carbonificación (19, 20). Las sustancias húmicas son materiales amorfos sin

vestigio, de color oscuro y de alto grado de transformación agrupados en ácidos fúlvicos (AF) y ácidos húmicos (AH) (21). Se ha reportado que los AH pueden actuar como fitohormonas, debido a que presentan sustancias que estimulan el crecimiento celular y que su bioactividad (efecto “Like auxin”) está relacionada con un mayor contenido de grupos nitrogenados en su estructura, muy parecida a la actividad de promoción de crecimiento del ácido indol acético (22, 23).

Las sustancias húmicas constituyen la fracción donde es retenido mayoritariamente el carbono de la materia orgánica del suelo e intervienen en múltiples propiedades del sistema suelo-planta (24). La importancia del estudio y del manejo de las sustancias húmicas, radica en la gran influencia que tienen sobre el crecimiento y desarrollo de los cultivos, tanto en forma directa como indirecta, los efectos indirectos se refieren al papel de las sustancias húmicas en el mejoramiento de la fertilidad del suelo y específicamente en los atributos físicos, químicos y biológicos del mismo.

Los efectos directos se relacionan con la absorción de las sustancias húmicas por las plantas cultivadas y los cambios que promueven en el metabolismo de estas, lo cual finalmente puede reflejarse en una mayor tolerancia de la planta al estrés ambiental y una mejor producción, además de la calidad en las cosechas. Los AH en el suelo contribuyen a mejorar la actividad microbiana del mismo (bacterias, hongos y actinomicetos), lo cual resulta en mejores condiciones para el establecimiento de las raíces y consecuentemente de la planta, asimismo incrementan la capacidad de retención de humedad, aumentan la capacidad de intercambio iónico, elevan la disponibilidad de micronutrientes por medio de la quelatación, contribuyen en la formación de la estructura granular, auxilian en la degradación o inactivación de sustancias tóxicas, mejora la capacidad amortiguadora del suelo en el pH en las sales, entre otros efectos. Los AH pueden ser absorbidas por las plantas y semillas e intervenir en su metabolismo. Esto favorece la germinación de las semillas, el crecimiento radical, la absorción nutrimental (23). Debido a que las sustancias húmicas que son una fracción de la

materia orgánica del suelo mejoran la translocación y capacidad de absorción de los nutrientes, también ayudan de forma indirecta a la planta mejorando la capacidad de retención de agua, aumenta el intercambio catiónico y la actividad microbiana del suelo. Para que la planta obtenga estos beneficios se requiere que estas sustancias se absorban de forma adecuada, su rápida absorción se debe a que tienen un bajo peso molecular, en este sentido destacan los ácidos fúlvicos en comparación a los ácidos húmicos por su fácil absorción (24, 25).

Los AH tienen como característica ser la fracción de las sustancias húmicas que son solubles en medio alcalino, pero insolubles en medio ácido. Poseen una estructura flexible y ramificada, con multitud de cavidades internas, lo que determina su capacidad de absorción de agua. Un 35% de la molécula son ácidos con estructuras de carácter aromático, lo cual conforma el centro de la molécula; el restante 65% está constituida por cadenas laterales alifáticas (aminoácidos, péptidos, ácidos alifáticos).

Los AH pueden mejorar la disponibilidad de los cationes, tanto por la capacidad de intercambio catiónico, como por la facilidad de quelatación de los mismos. Una vez dentro de la planta o la semilla, los AH tienen varios efectos bioquímicos en la pared celular, en las membranas y en el citoplasma, brindan un mayor crecimiento de diferentes órganos de la planta, en una mayor tolerancia de las plantas al estrés ambiental (temperatura, humedad, salinidad, pH, nutrientes, enfermedades), así como en un incremento en la calidad y producción de cosechas. Además, incrementan la velocidad y/o el porcentaje de germinación de las semillas, se ha observado una mejora en la absorción de nutrimentos por las plantas, ya que los AH incrementan la permeabilidad de la membrana celular y promueven cambios eléctricos de los fosfolípidos estructurales de las membranas. Es común encontrar el manejo de micronutrientes, donde los AH actúan como agentes quelatantes, acelerando el metabolismo energético y el contenido de clorofila de las hojas de la planta, aumentan la concentración del RNA mensajero, modificando la producción de proteínas, tanto las que actúan como enzimas como las proteínas estructurales

y transportadoras en las membranas celulares. Son efectivos en la regulación de las hormonas de las plantas, al proteger el ácido indolacético de la oxidación enzimática. Los AH contienen radicales libres, debido a su mayor estado de humificación o polimerización, estos radicales libres pueden desempeñar funciones específicas en las plantas, tales como activadores, de catálisis, y ser fotosensitivos (19, 22).

Los ácidos húmicos tienen una respuesta positiva en la fertilidad del suelo que beneficia la actividad microbiana y realizando múltiples acciones en función a los diferentes tipos de suelos donde se aplique.

Por ejemplo, en terrenos arcillosos, los ácidos húmicos mejoran la estructura del suelo, mejorando la permeabilidad del terreno y aumenta el flujo de aire a nivel radicular de la planta. En suelos arenosos, que tiene niveles bajos de materia, ayuda al fácil intercambio catiónico de los macros y micronutrientes, mejoran la capacidad de retener agua y por lo tanto evita la pérdida de nutrientes por lixiviados. De manera general, la utilización de ácidos húmicos y fúlvicos en el suelo facilita el desbloqueo de los nutrientes y actúan como agentes complejos naturales, ayudando a la asimilación de estos en la planta (26).

La aplicación de ácidos húmicos a las semillas genera la aceleración a su germinación, mejora el desarrollo de las raíces y activa los puntos de crecimiento de las plántulas. Tanto los ácidos húmicos como los fúlvicos influyen en las hormonas de crecimiento de las plantas y proporciona los radicales libre a las células vegetales, que dan un efecto positivo sobre la germinación de las semillas, la iniciación de las raíces y el crecimiento general de las plantas. Cuando el suelo contiene los niveles idóneos de las sustancias húmicas, las plantas tienen una mayor facilidad de absorción de nitrógeno, fósforo y potasio, lo que disminuye las cantidades de fertilizantes N-P-K requeridos. Los ácidos húmicos y fúlvicos, aunque no son fertilizantes en sí mismos, son excelentes portadores y activadores de fertilizantes. Se ha verificado que los fertilizantes foliares que contienen ácidos

húmicos o fúlvicos son entre un 100 % y un 500 % más eficaces que otros fertilizantes aplicados al suelo. Las aplicaciones pueden programarse para activar el crecimiento vegetativo, la floración, el conjunto de frutas o el llenado y la maduración de los frutos (27).

Los efectos bioestimulantes de las sustancias húmicas en el crecimiento y desarrollo de las plantas han sido largamente estudiados, encontrándose incremento en la longitud del tallo, raíz, hojas, masa fresca y seca, tamaño y calidad de los frutos; así como el aumento de los rendimientos en las cosechas (28).

Entre los procesos metabólicos que contribuyen a iniciar el crecimiento y desarrollo de las plantas se encuentra la estimulación de la actividad de enzimas clave en el metabolismo del C y N por las sustancias húmicas. Enzimas relacionadas con el metabolismo del nitrógeno como el nitrato reductasa, glutamato deshidrogenasa y glutamina sintetasa fueron estimuladas por sustancias húmicas en diferentes condiciones (29,30). Fue descrito el efecto positivo de ácidos húmicos a diferentes dosis en las principales enzimas involucradas en la reducción y asimilación de nitrógeno inorgánico (30). Los efectos de sustancias húmicas sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, señalan el dominio positivo sobre el transporte de iones facilitando la absorción, la acción directa sobre procesos metabólicos tales como: respiración, fotosíntesis y síntesis de proteínas, mediante el aumento o disminución de la actividad de diversas enzimas, el contenido de metabolitos y la actividad tipo hormonal de estas sustancias (31,32). Estas claras modificaciones en el metabolismo primario inducidas por las sustancias húmicas han sido confirmadas mediante técnicas de biología molecular (33), lo cual demuestra que las sustancias húmicas aplican sus efectos en la fisiología de la planta por medio de redes complejas transcripcionales y mecanismos de acción de múltiples facetas, parcialmente conectados a su comprobada actividad auxínica (34).

1.2 ÁCIDOS FÚLVICOS

El ácido fúlvico (AF) es la parte más activa del humus, es soluble en medio ácido, neutro y alcalino, a diferencia del ácido húmico que no es soluble en pH ácido. Esto ocasiona, que el calcio se precipite en presencia de ácido húmico, mientras que se mantiene en solución, en presencia de ácido fúlvico, en zonas con alta concentración de carbonatos de calcio, el ácido fúlvico evita que se precipite el fósforo y otros elementos, lo que es benéfico para plantas porque reciben más nutrientes y además evita que se tapen las boquillas de los sistemas de riego. Los ácidos fúlvicos son compuestos de bajo peso molecular, su color puede variar de amarillo a oscuro; en lo que la acidez total y el contenido en $-COOH$, es mucho mayor que en los ácidos húmicos, al igual que la preferencia a retener metales, formando sales por la formación de quelatos y complejos de metales con sustancias húmicas pueden variar apreciablemente en su disponibilidad (35). Una de sus características principales es ser transportador de metales. En un suelo pobre en materia orgánica la aplicación de ácidos fúlvicos permite multiplicar la flora microbiana en dos mil veces en sólo dos semanas, lo cual le da una fertilidad extra.

Los ácidos fúlvicos son también denominados una pre-etapa de los ácidos húmicos. Gracias a estudios donde se degrada la molécula y se miran sus grupos funcionales se denotan algunas analogías y similitudes de esta. Los ácidos fúlvicos son más abundantes que los ácidos húmicos, estos se encuentran en forma coloidal, ya que son más solubles que los húmicos. Tienen una composición química de 6,44% de hidrogeno, 0,98% de Nitrógeno y 55,19% de carbono con una relación carbono-hidrogeno de 1,40 (36). La aplicación de los AF se han obtenido incrementos de producción mejorando la calidad de cultivos, como en papa, donde mejora la distribución de los almidones y el tamaño de esta es más uniforme; en trigo aumenta los contenidos de proteínas; en el tomate, chile y otras hortalizas aumenta el porcentaje de fruto de exportación.

Se incrementa la resistencia al ataque de enfermedades, las plantas soportan mejor cualquier tipo de estrés (sequía, heladas, inundaciones, sobredosis de producto, por ejemplo). La recuperación de cultivos es más eficaz con aplicaciones repetitivas de AF, estimula el crecimiento de las plantas, aumentando su vigor, estimulando la absorción, promoviendo la penetración y transporte activo de los nutrientes a nivel membrana fundamental de células foliares y radicales, que actúa como promotor de crecimiento vegetal y agente quelatante, el ácido fúlvico estimula el metabolismo, provee respiración, aumenta el metabolismo de proteínas y la actividad de múltiples enzimas, incrementa la permeabilidad de las membranas celulares, la división celular y su elongación, colabora con la síntesis de la clorofila, tolera la sequía, beneficia las cosechas, estabiliza el pH del suelo, asiste la dinitrificación por las bacterias fijadoras, contribuye al balance electroquímico tanto como donante o como receptor, descompone la sílice para liberar los nutrientes minerales esenciales, desintoxica los agentes contaminantes tales como pesticidas y herbicidas (37-39).

La presencia o ausencia de los AF es importante para la formación y estabilidad de los agregados, al poseer agregados estables en el suelo se favorece la retención de humedad y aireación, conllevando al desarrollo de la raíz, pudiendo actuar como un indicador de las características en plantas y a su vez el desarrollo de los propios cultivos.

Los ácidos fúlvicos y húmicos estimulan germinación de varias variedades de semilla cultivadas. Los ácidos fúlvicos son importantes para la producción de iones minerales, son también conocidos por la habilidad de hacer vitaminas y minerales, absorbibles para las plantas. La interacción entre los ácidos fúlvicos y los elementos minerales debe suceder antes de que esta absorción pueda suceder, cuando los minerales se ponen en contacto los ácidos fúlvicos, en un medio acuoso, los minerales son transformados a una forma iónica o en un estado asimilable para las plantas a través de un proceso químico natural involucrado ácido fúlvico y fotosíntesis esto lo hace seguro para ser usado tanto en humano como en animales.

Los productos de alta solubilidad a base de sustancias fúlvicas de origen vegetal que muestran las siguientes características. Favorecen la asimilación de nutrientes y de reguladores de crecimiento aplicados foliarmente.

Hace más efectiva la actividad biológica de productos sistemáticos para el control de plagas, enfermedades y malezas al facilitar la absorción y traslocación en la planta. Forma complejos nutricionales disponibles con los elementos mayores. Incrementa la permeabilidad de las membranas celulares facilitando la entrada de nutrientes (40).

1.3 FERTILIZANTES DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Los fertilizantes de liberación lenta y liberación controlada se caracterizan por contener nutrientes de forma que retrasan la disponibilidad de los mismos para las plantas luego de la aplicación, o bien hacen que la disponibilidad de los mismos sea significativamente más larga que fertilizantes de disponibilidad inmediata como el nitrato de amonio, urea y fosfato monoamónico (41). Los fertilizantes de liberación lenta han sido definidos como los que son susceptibles al ataque microbiano y consecuentemente a la descomposición; entre esta figura urea-formaldehído. En tanto, que los fertilizantes de liberación controlada han sido definidos como los recubiertos o encapsulados (42). Un fertilizante sea de liberación lenta debe cumplir con las siguientes características medidas a una temperatura de 25 °C: No más del 15% liberado en 24 horas, No más del 75% liberado en 28 días, y por lo menos 75 % debe ser liberado en el tiempo programado de liberación.

El término fertilizante de liberación controlada (FLC) es aceptable cuando se aplica a fertilizantes en los que los factores tasa, patrón y duración de la liberación son bien conocidos y controlables (43). Mientras que el término fertilizante de liberación lenta (FLL) son aquellos en los cuales la liberación de los nutrientes ocurre de manera más lenta que con fertilizantes convencionales o de disponibilidad inmediata; sin embargo, la tasa, el patrón y duración de la liberación no son bien

controladas, los fertilizantes de liberación controlada pueden ser fuertemente afectados por el manejo de condiciones tales como almacenamiento, transporte y distribución en el campo, o por condiciones del suelo tales como contenido de humedad, pH, temperatura, y la actividad biológica (42).

Los fertilizantes nitrogenados que tienen amonio o urea estabilizados (43) o biomodificados por los inhibidores (44) pueden ser clasificados como de liberación lenta, estos fertilizantes se espera que sean eficaces en suelos que tienen un rango de capacidad de intercambio catiónico media a alta, y una buena capacidad de almacenamiento de amonio y otros nutrientes. Los FLC son clasificados en tres tipos: fertilizantes con N orgánico (compuestos de baja solubilidad); fertilizantes en los que una barrera física controla la liberación; fertilizantes inorgánicos de baja solubilidad descompuestos.

Los fertilizantes de liberación controlada fueron diseñados para proporcionar un buen control sobre la liberación de nutrientes en los suelos y para que coincida con la demanda que tienen las plantas en determinado estado fenológico; lo que se espera es que proporcionen una alta eficiencia en el uso de nutrientes y que se minimicen los efectos adversos sobre el ambiente. La efectiva utilización y la adecuada aplicación de nutrientes requieren herramientas para la predicción de la liberación bajo condiciones de suelo y ambiente variables. Los modelos de liberación deben evaluar los peligros potenciales, tales como las pérdidas por lixiviación o volatilización. Los fertilizantes revestidos con materiales hidrófobos, especialmente recubiertos de polímeros, proporcionan un buen control de la liberación ya que son menos afectados por las condiciones del suelo. El patrón de la liberación temporal de fertilizantes recubiertos está dado por un rango de liberación que puede ser parabólica, de tendencia de liberación lineal y de tendencia de liberación sigmoideal. Los patrones lineales y sigmoideales de liberación se pueden sincronizar mejor con el patrón de absorción de nutrientes de los cultivos (42, 45, 46).

Los mecanismos de activación se describen a continuación: La primera etapa del proceso de liberación de un FLC es la penetración de agua (principalmente de vapor) a través del recubrimiento; este vapor se condensa en el núcleo sólido y disuelve parte de este, induciendo así una acumulación de presión interna. En esta etapa, dos vías son posibles: 1) Si la presión interna excede la resistencia de la membrana, se rompe el revestimiento y el contenido completo del gránulo se libera de forma instantánea; 2) Si la membrana se resiste a la presión interna, el fertilizante se libera por difusión impulsado por un gradiente de concentración a través del revestimiento, o por el flujo de masa impulsado por un gradiente de presión, o por una combinación de los dos; a este se denomina mecanismo de difusión. El mecanismo de liberación catastrófica se produce especialmente en recubrimientos frágiles y recubrimientos no elásticos, un ejemplo de este recubrimiento es el que se hace a base de azufre u otros recubrimientos inorgánicos. El mecanismo de liberación por difusión se observa con fertilizantes recubiertos con polímeros, tales como poliuretano, resinas de tipo alquídicas y poliolefinas.

Durante el período de retardo, los vapores de agua penetran en el gránulo y disuelven parte del fertilizante en el núcleo, la fuerza impulsora detrás de este proceso es el vapor de agua que produce una gradiente de presión a través del revestimiento. El volumen disponible para el vapor condensado se limita a los huecos en el interior del núcleo sólido y aquellos entre el núcleo y el revestimiento, cabe destacar que el peso de los gránulos se incrementa ligeramente concomitante al incremento de la presión interna (44).

Al aumentar la presión interna se observa un aumento en el volumen de gránulo, esto ocurre principalmente con fertilizantes recubiertos con resina de tipo alquídica, se supone que la duración del período de retardo está relacionada directamente con el tiempo necesario para que los huecos internos se llenen con agua y puedan inducir un contacto de la solución del nutriente con la cara interna del revestimiento, la liberación se inicia cuando se da un volumen crítico de solución saturada en el interior del gránulo, que también induce a una acumulación de presión. Este es el

comienzo de la segunda etapa, la etapa de liberación constante, la velocidad de liberación permanece constante siempre y cuando la solución saturada en el gránulo se equilibre con el fertilizante sólido.

Una vez que el fertilizante en el núcleo se ha disuelto, la concentración de la solución interna disminuye como el producto de liberación, y en consecuencia disminuye la fuerza motriz para la liberación. Esta es la etapa de decrecimiento, parte de la cual puede ser demasiado lenta por un efecto llamado "efecto de cola" que no es más que la liberación condicionada a la longevidad del granulo (43, 44).

1.4 ESFERIFICACIÓN

Los procesos de encapsulación fueron desarrollados entre los años 1930 y 1940 por el Registro Nacional de Efectivo para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina como agente encapsulante mediante un proceso de coacervación (47). La microencapsulación de compuestos con actividad biológica (DNA, fármacos, proteínas, probióticos, enzimas, etc.), se puede definir como el proceso de recubrimiento de dichos compuestos, bajo la forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. El producto resultante de este proceso tecnológico recibe la denominación de microesfera o microcápsula, dependiendo de cuál sea su morfología y estructura interna. Las microcápsulas se diferencian de las microesferas principalmente por el tipo de estructura interna, para las microcápsulas tienen el principio activo, que puede tener una naturaleza líquida o sólida, se encuentra incluido en una especie de reservorio recubierto por una fina película de material, en el caso de las microesferas, el principio activo se encuentra altamente disperso bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas en una matriz de material que puede ser lo mismo del recubrimiento, la obtención de un tipo de estructura u otro, depende de las propiedades fisicoquímicas del principio activo y del material de recubrimiento, así como del proceso tecnológico elegido, el recubrimiento puede ser un polímero para la constitución, tanto de la microesfera

como de la microcápsula, puede ser de origen natural o bien sintético, uno de los polímeros naturales empleados para la producción de microesferas es el quitosano, éste biopolímero policatiónico, es la forma soluble de la quitina, un polímero lineal constituido por residuales de N-acetilglucosamina, presente en el exoesqueleto de los crustáceos (camarón), dentro de los principales parámetros que influyen en las características del quitosano son, su peso molecular y el grado de desacetilación, representando la porción de unidades desacetiladas, estos son determinados por las condiciones de reacción durante el proceso de preparación del quitosano (48).

Como materiales sintéticos se puede emplear el poliuretano que se puede formar *in situ* por un proceso de polimerización interfacial. La utilización de ambas puede abarcar campos como la: eliminación controlada de sabores, colores, aromas, perfumes, drogas, fertilizantes, etc. Las enzimas y las células animales o vegetales también pueden ser encapsuladas, permitiendo que los sustratos y productos entren y salgan de la cápsula, la esferificación como tal es considerado el proceso de la Gelificación controlada de un líquido que, cuando se sumerge en un baño, forma esferas; es decir, si ponemos un líquido en el seno de otro con el que sea inmiscible, el primero quedará en forma de esferas (49), hoy en día esta técnica tiene diversas aplicaciones y variantes (fertilizantes, alimentos, fármacos, proteínas, probióticos y enzimas), siendo su finalidad la de formar una estructura por enlaces químicos en los que un líquido o semilíquido tome consistencia y forme esferas perfectas (50). El principal agente gelificador de las esferificaciones han sido los alginatos, el ácido algínico y los alginatos son productos ampliamente extendidos; se emplean a modo de gelificantes, espesantes o estabilizantes. Su rapidez en la gelificación, el hecho de no necesitar calor ni cambios bruscos de temperatura y su fácil disolución los convierten en un gran recurso para la industria en cualquier rama (49). Los alginatos son los polisacáridos más abundantes presentes en las algas marinas, comprenden hasta 40% de su peso seco, son los componentes estructurales de la pared celular de las algas, cuya función principal es dar rigidez, elasticidad, flexibilidad y capacidad de enlazar agua. Las propiedades por las cuales los alginatos son útiles es por su capacidad viscosificante y gelificante, además son compuestos

biodegradables, sobre todo por microorganismos del suelo terrestre, sus propiedades gelificantes y espesantes han resultado muy atractivas en el mercado. Estas propiedades están determinadas por su masa molecular, entre mayor sea la masa, mayores son las capacidades viscosificantes.

La aplicación de los alginatos se basa en cuatro propiedades principales; la primera concierne a su habilidad como espesantes al ser disueltos en agua, generando un aumento en la viscosidad de la solución en la que se disuelven; segunda en base a su capacidad de retener agua; la tercera se debe a su habilidad de formar un gel a partir de una serie de reacciones químicas de intercambio iónico que dan lugar a la formación de enlaces entre las cadenas adyacentes del polímero del alginato; particularmente se realiza un intercambio de iones sodio por cationes divalentes o trivalentes; la cuarta se basa en la propiedad de formar películas. En cuanto a la capacidad gelificante de los alginatos, la cual se usa ampliamente, se sabe que la formación del gel se inicia a partir de una solución de sal de alginato y una fuente de calcio externa o interna, desde donde el ion calcio se difunde hasta alcanzar la cadena polimérica. Como consecuencia de esta unión se produce un reordenamiento estructural en el espacio, resultando en un material sólido con las características de un gel, el grado de gelificación depende de la hidratación del alginato, la concentración del ion calcio y la proporción de ácido gulurónico en la muestra (51).

CAPÍTULO II. ANTECEDENTES

2.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE FERTILIZANTES DE LIBERACIÓN LENTA ENCAPSULADO POR POLÍMERO SUPERABSORBENTE A BASE DE ALMIDÓN

Qiao *et al.*, en el 2016 (52) menciona que la agricultura abastece a la población mundial en rápido crecimiento con alimentos, ropa y otras necesidades de la vida diaria, y es indispensable para el surgimiento de la civilización humana (53). Para satisfacer la creciente demanda de alimentos y otros productos agrícolas, se han empleado grandes cantidades de diversos fertilizantes (N, P y K) para mejorar los rendimientos de los cultivos. Sin embargo, la eficiencia de la mayoría de los fertilizantes, especialmente el nitrógeno se reduce en gran medida debido a la volatilización y la lixiviación de los nutrientes. También, esto da lugar a la contaminación ambiental y a problemas de salud debido a la eutrofización del agua y emisiones peligrosas (NH_3 , N_2O , etc.) resultante de la hidrólisis de nutrientes y por la acción de microorganismos (54).

Se han desarrollado fertilizantes de liberación lenta que podrían satisfacer al mismo tiempo las necesidades de nutrientes de las plantas, mejorando los rendimientos de los cultivos al tiempo que reducen pérdida de nutrientes en el entorno (45). Los fertilizantes de liberación lenta se preparan físicamente encapsulando los fertilizantes solubles con materiales hidrofóbicos inorgánicos y/o materiales orgánicos que actúan como una barrera para suprimir la "explosión" repentina de los fertilizantes. Entre esos materiales de recubrimiento inorgánicos insolubles tales como el azufre solían ser candidatos atractivos, ya que no solo podrían retrasar la liberación de nutrientes de los fertilizantes sino también tienen funciones adicionales como planta secundaria nutrientes y agentes que neutralizan la alcalinidad del suelo (55).

Después de ello, los polímeros fueron ampliamente utilizados como materiales de revestimiento, como películas formadas en la superficie de los gránulos de fertilizantes, pero resultaron ser frágiles ya que presentaron algunas grietas y poros (56), y también son vulnerables a los microorganismos (54). Por los altos costos, complejidad del proceso y contaminación ambiental ya que algunos polímeros eran a base de petróleo, se optó por usar biopolímeros renovables como la lignina (57), la celulosa y el almidón se utilizan como alternativa de materiales de recubrimiento para mejorar el rendimiento de liberación lenta en fertilizantes, por lo anterior propusieron una mezcla de matrices que involucraban almidones, acrilamidas, nitratos de amonio, y etil celulosa, ellos encontraron que el emplear etil celulosa como parte de membranas internas y almidones en la parte externa, todo ello permite que exista una absorción mucho más adecuada de agua y con ello se presenta una liberación controlada del fertilizante funcionando como una alternativa viable en la producción de productos agrícolas.

2.2 ESFERAS DE QUITOSANO-ALMIDÓN PREPARADAS POR GELIFICACIÓN IONOTRÓPICA COMO MATRICES POTENCIALES PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FERTILIZANTES

Pérez en el 2016 (58) menciona que la agricultura depende en gran medida de la adición de fertilizantes, el uso excesivo de fertilizantes se ha asociado con la contaminación causada por altos niveles de nutrientes en el suelo y en aguas superficiales (59-61), causando problemas de salud, ambientales y aumentando los costos de purificación de agua (60). La degradación de la calidad del suelo después de muchos ciclos de uso agrícola intensivo conduce a una mayor demanda para la fertilización, el riego y la energía para mantener la productividad de esos suelos (51-61). Un enfoque para reducir los problemas asociados con el uso excesivo de fertilizantes es idear un método que reduzca la cantidad y frecuencia de su aplicación (62). Una forma de lograr este objetivo es utilizar fertilizantes de liberación controlada (FLC), estos productos agroquímicos usan una barrera física para reducir la velocidad de disolución de los fertilizantes, sus características físicas (reservorio

o sistema de matriz), a lo largo de con el mecanismo que rige la liberación de fertilizante (difusión, hinchazón o degradación de la matriz polimérica), puede modular el patrón de liberación de nutrientes (61, 63, 64). El costo es un parámetro importante al analizar la viabilidad de los FLC para la fabricación industrial. La producción de los FLC que utilizan hidrogeles como matrices portadoras todavía tiene un mayor costo que el uso de fertilizantes minerales convencionales (64, 65). Algunos polímeros pueden caracterizarse como de "bajo costo", ya que requieren poco procesamiento, son abundantes en la naturaleza y son subproductos o materiales de desecho de otros procesos industriales.

Por ello el objetivo de su estudio fue investigar la viabilidad de un método simple de preparación de hidrogeles no contaminantes basados en mezclas de quitosano y almidón para usar en la industria agrícola como matrices para la liberación controlada de fertilizantes. Macroesferas se prepararon por entrecruzamiento ionotrópico de quitosano usando sodio tripolifosfato, las condiciones de preparación (tiempo de reticulación y composición de las mezclas) fueron analizados para producir un bajo costo de macroesferas con el menor contenido posible de quitosano, los hidrogeles que prepararon fueron caracterizados para dilucidar su estructura, propiedades termales y morfológicas. La estructura final de las esferas determinó su comportamiento durante la absorción, que es la principal determinante de la capacidad y liberación cinética de carga de fertilizantes. Como resultado final encontraron, que la realización de macroesferas por entrecruzamiento ionotrópico de quitosano con almidón son excelentes candidatos como alternativa de fertilizantes de liberación controlada con ello puede tener amplia cabida en la agroindustria.

CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los nutrientes presentes en el suelo, aire y agua, además del concurso del sol, los vegetales fabrican una inmensa cantidad de sustancias orgánicas complejas, muchas de las cuales nos alimentan (metabolismo principal) y son la base de la vida para los animales en la Tierra, a diferencia de lo que ocurre con éstos, los vegetales no pueden huir de sus enemigos ni trasladarse a regiones más propicias cuando se estresan, es decir, cuando se sienten amenazados o las condiciones ambientales se tornan adversas. Para protegerse y asegurar su propio espacio vital, las plantas han desarrollado hasta su máxima expresión la defensa química, a la cual dedican una parte importantísima de las sustancias que elaboran, en dependencia de la magnitud del estrés que sufren (metabolismo secundario), lo cual afecta la producción de alimentos y productos que nos son útiles.

Algunos ejemplos de la capacidad de las plantas para producir sustancias de defensa y/o adaptación puede ser el acondicionamiento a altas temperaturas, sequía, salinidad, bajas temperaturas y desarrollo frente a contaminación por hidrocarburos o metales pesados. En las plantas de cultivo estas respuestas a nivel bioquímico se corresponden con alteraciones macroscópicas que pueden afectar tanto el cuerpo de la planta, altura y diámetro, por ejemplo, así como la cantidad, calidad de las flores y la fructificación.

Esto ocurre porque las plantas de cultivos se han seleccionado para exacerbar su metabolismo principal por lo que generalmente, devienen incapaces de adaptarse adecuadamente al estrés, ya que muchas sustancias e intermediarios biológicos, propios de su metabolismo secundario, están en déficit o no se expresan suficientemente en el momento oportuno, ocasionando así el deterioro de los rendimientos. Dentro de los intereses actuales de la agricultura orgánica y sostenible se encuentran la preservación del medio ambiente y su calidad, con el cuidado del medio edáfico donde se desarrolla la actividad de la flora microbiana. El número y diversidad de los microorganismos son parámetros generales de los

suelos, altamente sensibles al disturbio del medio ambiente, por lo que son considerados como indicadores de la calidad del mismo (55), en el mundo se ensayan numerosos productos de origen orgánico y mineral como una alternativa de la agricultura orgánica, estos son aplicados foliarmente como estimuladores del crecimiento vegetal y en alguna medida llegan al suelo, pudiendo tener algún efecto sobre la biota edáfica y las propiedades fisicoquímicas del mismo (15), estos estimulantes pueden ser en forma de carbohidratos, proteínas, minerales, aminoácidos, bases nitrogenadas y ácidos orgánicos (húmicos y fúlvicos), siendo estos últimos los más empleados para desarrollo agrícola, por ello es importante dosificarlos a través de una matriz de esferificación semipermeable que permita la liberación controlada en cultivos.

Para el monitoreo tecnológico la empresa Fair Agriculture and Ecology S.A de C. V., ha identificado una tendencia muy importante en el desarrollo de sustratos y nutrientes alternativos basados en componentes derivados de procesos industriales o desechos urbanos. De esta manera, en el caso de sustratos enfocados a la producción de cultivos ornamentales, la tendencia es hacia la reducción del uso y aprovechamiento de materiales orgánicos provenientes de ecosistemas forestales (turbas, hojarasca, corteza arbórea y mantillos forestales), los cuales sirven como base principal para la formulación de sustratos con fines de producción y para su comercialización.

Este aprovechamiento tiene un impacto en los ecosistemas forestales que de acuerdo a la NOM-027-SEMARNAT-1996 que establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento de tierra de monte es de importancia fundamental debido al incremento en la erosión, así como a la pérdida de la productividad del suelo que se deriva de un inadecuado aprovechamiento de dicho material. Además de lo establecido en la NOM-021-RECNAT-2000 donde se especifica la fertilización, salinidad y clasificación de suelos por lo que este proyecto involucra el no daño al suelo a diferencia de otros productos en la misma categoría. Las regulaciones ambientales, así como el incremento en la demanda de sustratos

para el sector ornamental generan una oportunidad para el desarrollo de sustratos que representen una alternativa tanto para reducir la sobreexplotación de algunos materiales, así como el aprovechamiento de materiales orgánicos considerados como desechos o subproductos de diversas actividades productivas y domésticas.

Los principales productos comercializados son las turbas (peat moss), compostas orgánicas, lombricompostas, fibra de coco, así como diferentes mezclas de compuestos orgánicos con inorgánicos como la perlita, agrolita, arcillas, tezontle, entre otros, dentro de los principales comercializadores a nivel nacional destacan: Hydro Environment SA de CV, Agrolita de México SA de CV, Insumos Agropecuarios del Centro SA de CV, Fax México SA de CV. Por mencionar algunas ventajas competitivas de estas empresas destacan los volúmenes de importación y venta, sin embargo, en la mayoría de los casos los productos comercializados son de importación y varían en función de los precios predominantes de mercado siendo esto una seria desventaja. Derivado de lo anterior nos preguntamos lo siguiente: ¿Cuáles son los beneficios obtenidos al desarrollar, formular y evaluar la microencapsulación de ácidos húmicos y fúlvicos que puedan ser empleados en la fertilización de liberación controlada para plantas de ornato con alto valor comercial?

CAPÍTULO IV. HIPÓTESIS

Entre los beneficios obtenidos al desarrollar, formular y evaluar la microencapsulación de ácidos húmicos y fúlvicos, se encuentran una dosificación controlada de fertilizantes hacia la planta, menor daño ambiental generado al suelo, aprovechamiento de los residuales de la matriz gelificante en el suelo y la planta, además de ser considerada una alternativa de mejora en la nutrición vegetal para las plantas de ornato con alto valor comercial.

CAPÍTULO V. JUSTIFICACIÓN

La eficacia en el control de suministro de nutrientes, el aumento de la eficiencia del uso de nutrientes y la reducción de problemas del ambiente depende principalmente de dos factores: la adecuación de la oferta con la demanda de nutrientes de plantas y el mantenimiento de la disponibilidad de nutrientes. Las interacciones complejas entre raíces de plantas y los componentes del suelo (químicos y microbiológicos) afectan la disponibilidad de nutrientes, la mayoría de transformaciones a las que los nutrientes del suelo son sometidas dependen de la concentración de los mismos en el suelo; esto implica que el suministro de nutrientes superior a la capacidad de absorción de la planta evoquen procesos que disminuyen su concentración en el suelo, tales procesos incluyen las transformaciones inducidas por microbios (nitrificación, desnitrificación, inmovilización), reacciones químicas (intercambio, fijación, precipitación, hidrólisis), y los procesos físicos (lixiviación, escurrimiento, volatilización).

A medida que los nutrientes pueden ser retirados de la solución del suelo por procesos que compiten con la absorción de la planta, puede afectar la eficiencia de uso de nutrientes y el medio ambiente, se debe mejorar la gestión tanto temporal como espacial para reducir el exceso de oferta de nutrientes, como ventajas económicas, fisiológicas y ambientales asociados con el control de suministro de nutrientes son más discutidos a la luz de la demanda de nutrientes de las plantas y la sincronización en la liberación de nutrientes. Las pérdidas de nutrientes a través de los procesos anteriormente mencionados pueden ser considerados irreversibles por lo menos a corto plazo, siendo estos la principal causa de las tasas más pobres de recuperación de N que van desde entre el 70% en las mejores prácticas llegando a 30 y 40% en las mal administradas. Numerosos resultados de investigación que han sido publicados tratan sobre la posibilidad de reducir estas pérdidas mediante el uso de fertilizantes de liberación controlada, fertilizantes de liberación lenta o de biofertilizantes de amonio modificado (30-33,49).

Los fertilizantes de liberación controlada pueden satisfacer la demanda de nutrientes del cultivo durante toda la temporada a través de una sola aplicación, que implica un ahorro en los costos de aplicación relacionada a la mano de obra, además del posible ahorro directo asociado con el uso de FLC, hay varias ventajas agronómicas relacionadas con la mejora de las condiciones de crecimiento de plantas, la oferta excesiva de nutrientes, que comúnmente es el resultado de la aplicación de fertilizantes solubles convencionales, puede contribuir en una alta concentración de sales solubles en la zona de la raíz (30, 33).

Esto puede inducir el estrés osmótico y causar lesiones específicas a las plantas en diferentes etapas de crecimiento o desarrollo, en comparación con fertilizantes solubles, el uso de fertilizantes de liberación controlada implica una mejor germinación de semillas, una reducción de las quemaduras de las hojas, la quebradura del tallo y un menor índice de enfermedades de semillero (30). Una menor disponibilidad de nutrientes tales como Fósforo (P) y algunos microelementos se producen en suelos como resultado de procesos de fijación que reducen la concentración de estos nutrientes en la solución del suelo, las reacciones son dependientes de la concentración, esto implica que la aplicación de una sola fuente de nutrientes altamente soluble puede resultar en una reducción rápida de las sus formas disponibles (49), la liberación controlada de nutrientes en un medio de fijación puede aumentar su disponibilidad (29).

Shaviv en el 2001 (49), reportó una acumulación de P mucho mayor en las plantas fertilizadas con FLC con base en N, P y K, en comparación con las aplicaciones de fertilizante granulado convencional con base en P, se ha hecho hincapié a las formas preferidas de tomar nutrientes por las plantas, sobre todo en relación con el suministro de amonio y nitrato en fertilizantes nitrogenados, se han reportado aumentos significativos en los rendimientos de maíz y su contenido de proteínas inducidas por fertilizantes que poseen un balance adecuado de nitrato y amonio combinados, en comparación con nitrato o amonio aplicados por separado (49). Las pérdidas de nutrientes en el ambiente dependen de su concentración en la solución

del suelo, cualquier método de aplicación de nutrientes que mejora su eficiencia, reduce el excedente de nutrientes sobre las necesidades de las plantas y también tiene un potencial para reducir las pérdidas al medio ambiente (48, 49). Por lo mencionado anteriormente, es importante desarrollar, formular y evaluar la microencapsulación de ácidos húmicos y fúlvicos para ser empleados en la fertilización de liberación controlada para plantas de ornato con alto valor comercial, con ello se busca generar una alternativa de reducción en el impacto ambiental provocado por otros tipos de fertilizantes para los mismos fines, mencionando que la producción de plantas de ornato es considerada como una industria que requiere de costos elevados durante su iniciación y mantenimiento, destacando el incremento de costos debido a la utilización de materiales importados tales como: vermiculitas, lana roca, turbas, muzgos, nitrato de potasio, nitrato de calcio y fosfonitratos, se debe tomar en cuenta que los productos comerciales más utilizados para la fertilización han demostrado poseer propiedades fisicoquímicas adecuadas para el desarrollo de los cultivos por lo tanto, el desarrollo de fertilizantes alternativos a los tradicionales habrán de cuidar de manera especial dichos aspectos.

CAPÍTULO VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Desarrollar, formular y evaluar la microencapsulación de ácidos húmicos y fúlvicos para ser empleados en la fertilización de liberación controlada para plantas de ornato con alto valor comercial.

6.2 Objetivos Específicos

- Determinar los siguientes parámetros fisicoquímicos en los ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF): Potencial de hidrógeno (pH), Viscosidad (μ) y Relación de Densidades Ópticas (DO).
- Estandarizar la formulación adecuada para llevar a cabo el proceso de microencapsulación a través de una membrana semipermeable conformada por Alginato de Sodio y Cloruro de Calcio.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos en el producto microencapsulado.
- Determinar los parámetros bromatológicos en el producto microencapsulado.

CAPÍTULO VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y ESTANDARIZACIÓN DE LA MEZCLA DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS (AH) Y ÁCIDOS FÚLVICOS (AF)

Primero deberá de caracterizarse los parámetros fisicoquímicos de los ácidos a emplear, posteriormente estos mismos parámetros serán evaluados, pero ahora para los AH/AF, el cual el reactivo a evaluar es una mezcla de los antes mencionados AH/AF, posteriormente todas ellas serán microencapsuladas y evaluadas para así determinar cuál es la más idónea para lograr en crecimiento en cultivos.

➤ DETERMINACIÓN DE pH

La determinación de pH se realizará a través del método electrométrico, este consiste en la determinación de la concentración producida por los iones hidronios a través de mediciones potenciométricas usando un electrodo de vidrio con un electrodo de referencia.

➤ DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD

La medida reológica de materias primas y de productos en elaboración, resulta de gran utilidad para el control de procesos y para conocer la funcionalidad de determinados ingredientes en el desarrollo de nuevos productos. Además, influye de forma muy considerable en el grado de aceptación del producto por parte del consumidor. La viscosidad es una característica de los fluidos en movimiento, muestra una tendencia de oposición hacia su flujo ante la aplicación de una fuerza. Esta oposición es debida a las fuerzas de adherencia que poseen las moléculas de un líquido con respecto a las otras moléculas del mismo líquido. Para llevar a cabo la medida de la viscosidad de las muestras destinadas a la elaboración de las esferas se empleará un viscosímetro Saybolt.

➤ DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN DE DENSIDADES ÓPTICAS

Para celdas de 1 ml se empleará 1000 µl de agua como celda de referencia, se utilizará para una segunda celda 100 µl del aminoácido con 900 µl de agua y para una tercera celda se empleará 100 µl de AH/AF con 900 µl, medir la absorbancia a 465 nm y 665 nm, la relación de ambas absorbancias es la relación denominada E4/E6. La mitad de esta relación estará inversamente proporcionada con el tamaño de partículas de los ácidos, una baja relación indica un tamaño mayor de partícula y alta relación, lo inverso.

7.2 ESTANDARIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN ADECUADA PARA LLEVAR A CABO EL PROCESO DE MICROENCAPSULADO A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA SEMIPERMEABLE CONFORMADA POR ALGINATO DE SODIO Y CLORURO DE CALCIO

Se realizará la estandarización de la formulación más acorde de la relación de Alginato de Sodio y de Cloruro de Calcio, se tomarán como criterios esenciales la formación de la esfera, el tamaño de esta, así como la forma obtenida y su resistencia a temperaturas. La esferificación indica que la mezcla de ácidos deberá de unirse al Alginato de Sodio (2.2, 2.3, 2.5 % m/v), utilizando así mismo un estabilizador (goma xantana) en un 2% dependiendo de la mezcla y posterior a ello se sumergirá en el baño con Cloruro de Calcio al 8 % m/v alrededor de 10 min para obtener un esferificado más consistente, posteriormente se sumergirá en un baño de agua destilada para quitar el contenido de cloruro de calcio sobrante de la esfera.

7.3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN EL PRODUCTO ESFERIFICADO

➤ DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD

La medida reológica de materias primas y de productos en elaboración, resulta de gran utilidad para el control de procesos y para conocer la funcionalidad de determinados ingredientes en el desarrollo de nuevos productos.

Además, influye de forma muy considerable en el grado de aceptación del producto por parte del consumidor. La viscosidad es una característica de los fluidos en movimiento, muestra una tendencia de oposición hacia su flujo ante la aplicación de una fuerza. Esta oposición es debida a las fuerzas de adherencia que poseen las moléculas de un líquido con respecto a las otras moléculas del mismo líquido. Para llevar a cabo la medida de la viscosidad de las esferas se utilizará un viscosímetro tipo Saybolt.

➤ DETERMINACIÓN DEL COLOR

El color supone un factor decisivo en la intención de compra de un producto por parte del consumidor, lo que hace necesario su control al evaluar la calidad comercial del producto. Esto es así debido a que está correlacionado muchas veces con la calidad nutricional, el estado sanitario, la presencia de defectos externos o internos o la concentración en determinados colorantes entre otros muchos aspectos. Para realizar la medición del color de las esferas se realizarán tres medidas a cada una de las formulaciones diseñadas, empleando para ello un espectrofotómetro (625, 550, 495 y 445 nm) y determinar la luminosidad, el tono, el croma y el ángulo de la tonalidad.

➤ **DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA**

Existen gran variedad de ensayos que pueden determinar la textura, para determinar el más adecuado se deben analizar ciertos factores como: la naturaleza del producto, si puede tratarse de un ensayo destructivo o no, el tiempo del que se dispone para poder realizarlo, e incluso, el lugar de localización del equipo que va a realizar el ensayo, después de analizar estos factores teniendo en cuenta la naturaleza de las esferas, para ello se empleará el ensayo de deformación, clasificado dentro del grupo de ensayos por compresión, para llevar a cabo el ensayo de deformación sobre las esferas se utilizará un texturómetro, buscando emplear una sonda de compresión cilíndrica de 12 mm de diámetro, aplicando las siguientes condiciones: una deformación del 10% y una velocidad de ensayo de 10 mm/s.

➤ **TIEMPO DE GELIFICACIÓN**

Para estimar el tiempo de Gelificación se procederá a emplear una pipeta Pasteur con la solución de AH/HF, y Alginato de Sodio posteriormente se realizará una liberación gota a gota poco a poco en solución de Cloruro de Calcio al 8% p/v, cuantificando el tiempo de en qué tarda en esferificarse y adicionando el tiempo en que tarde en lavarse con agua destilada.

➤ **DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ**

La determinación de acidez se realizará a través del método de titulación, en el cual se buscan los iones de hidrógeno presentes en una muestra como resultado de la disociación o hidrólisis de solutos reaccionan con adiciones de álcali estándar (NaOH 0.1 N), la acidez depende del pH del punto final o indicador.

➤ **DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LA ESFERA**

Se determinó el grosor promedio de las esferas utilizando un vernier, midiendo el largo y ancho de un total de 20 esferas.

➤ **DETERMINACIÓN DE pH**

La determinación de pH se realizará a través del método electrométrico, este consiste en la determinación de la concentración producida por los iones hidronios a través de mediciones potenciométricas usando un electrodo de vidrio con un electrodo de referencia.

➤ **DETERMINACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA**

La determinación de la conductividad eléctrica es la capacidad de una sustancia de conducir la corriente eléctrica y es lo contrario de la resistencia, el valor de la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos, por lo tanto, cuanto mayor sea dicha concentración, mayor será la conductividad.

Se determinará a través del método electrométrico, este consiste en la determinación de la concentración producida por los movimientos moleculares en la sustancia a través de mediciones potenciométricas usando un electrodo de vidrio con un electrodo de referencia.

➤ **DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DEL AGUA**

En tubos de 50 ml, se pesará 1 g de esferas por muestra y se adicionarán 30 ml de agua destilada en cada uno, se agitará y se dejará en reposo en un lapso de 0 hasta 21 h; cada hora se tomará un tubo y las esferas ya hidratadas se equilibraron sobre membranas Millipore colocadas en la posición intermedia de tubo de centrifuga, se centrifugará (1800 rpm, 10 minutos).

Posteriormente se pesarán las esferas centrifugadas y se expresará la capacidad de retención de agua como el porcentaje de ganancia de peso (agua retenida) en las esferas con AH/AF, tomando el peso ganado dividido entre peso inicial por 100 %.

➤ DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD

Se utilizará un método indirecto, pesando inicialmente las esferas en una balanza analítica para encontrar su masa. Para obtener su volumen se sumergirán completamente las esferas, y con cuidado, en una probeta que tiene un volumen exacto de agua (V_0); luego se leyó el volumen final (V_f), el volumen del sólido correspondido a la diferencia ($V_f - V_0$), la densidad de las esferas se calculará dividiendo la masa sobre el volumen.

➤ TEMPERATURA DE LA RUPTURA DE LA MEMBRANA

El método más utilizado para determinar materia seca parcial es el de la eliminación de agua libre por medio del calor de circulación seguida por determinación del peso del residuo, esta técnica se basa en someter a los insumos a temperaturas entre 55 – 60 °C la temperatura se regula para efectuar un secado máximo y para evitar un mínimo de pérdidas de sustancias volátiles y otras que se descomponen. Para esto se colocó 473 gramos de muestra fresca en una charola de aluminio y se dejó en un horno a 65° C durante 14 horas (AOAC, 1985).

➤ TIEMPO DE LA RUPTURA DE LA MEMBRANA

Se empleará el mismo procedimiento que en la determinación de la Temperatura de la ruptura de la membrana, y observar-registrar el tiempo en el que las esferas se rompen para determinar una media de rompimiento.

➤ VIDA DE ANAQUEL

Es considerado el periodo de viabilidad que posee un producto por ello se realizará un ensayo con 250 g de esferas en un recipiente de vidrio (emulando así el empaquetamiento) y se observará el tiempo en que tardan en comenzar a romperse, ya que una vez rota la membrana el líquido liberado puede funcionar como medio de cultivo para microorganismo llevando a la descomposición de todo el producto.

➤ **TIEMPO DE LIBERACIÓN**

El tiempo de liberación será registrado a través de una prueba establecida por un mes y registrada mediante la observación de la ruptura de las esferas en una planta, con ello puede estimarse el tiempo que tarda en fragmentarse y liberarse el contenido de AH/AF, lo que permitirá dar un valor de dosificación de referencia.

➤ **DETERMINACIÓN DE CENIZAS**

Para esta determinación se empleará para saber lo que queda de la combustión total de la esferificación para esto se pesarán 3-5 g de la muestra deshidratada y se colocará en una capsula de porcelana puesta a peso constante posteriormente la muestra se carbonizará en una estufa a mecha directa. Una vez carbonizada la muestra se pasará a una mufla a 400°C por 3 h.

La cápsula de porcelana se pasará a una estufa a 110°C para su enfriamiento, y luego se colocará en un desecador hasta enfriarse a temperatura ambiente. Finalmente, se pesará y se obtendrá el porcentaje de cenizas dividiendo el peso de éstas entre el peso de la muestra inicial, multiplicado por 100 (AOAC, 1985).

➤ **DETERMINACIÓN DEL %H**

La determinación del porcentaje de humedad se calculará obteniendo el porcentaje de la materia seca total, la materia seca total está constituida por una porción susceptible de quemarse ya que está constituida por sustancias que contienen carbono o materia orgánica y que constituyen a dar energía, la otra porción incombustible se encuentra formada por sustancias que no pueden quemarse y que los residuos que forman son cenizas cuando se someten a calcinación. La muestra ya completamente seca se triturará en un mortero posteriormente se colocarán 2-5 g de esta muestra en un crisol a peso constante y este se introducirá en una estufa a 100 °C durante 12 horas (AOAC, 1985). Posterior a ello se calculará la diferencia de pesos tomando en cuenta el peso del crisol con muestra seca restado al peso del crisol solo y dividido entre los 2

g de muestra y el resultado se multiplicará por 100 %. Para determinar la humedad como tal se restará al 100 % el % de materia seca total.

➤ **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS**

Se pesará 0.1- 1 g de muestra seca y se realizará una digestión de la muestra con 5 ml de ácido sulfúrico concentrado en presencia de 1.5 g de mezcla digestora como catalizador. El matraz Kjeldhal se dejará enfriar y después se agregarán 130 ml de agua destilada y 6 ml de ácido bórico al 4 % agregando también 10 gotas de indicador Shiro Toshiro.

La solución ácida se alcalinizará con 8 ml de una solución de hidróxido de sodio al 1:1. La solución será llevada al aparato de destilación kjeldhal; donde se recogerán 80 ml de la solución y se titularán con una solución de ácido sulfúrico al 0.01787 N (AOAC, 1985), calculando con ello el % de N que contiene la muestra, después se realizará el cálculo para la determinación total de proteína cruda.

➤ **DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS**

Para determinar el contenido de extracto etéreo se pesarán 1-2 g de muestra deshidratada en tubos de celulosa, los cuales se depositarán en el equipo de extracción aparato Soxleth. Se utilizarán 250 ml de eter de petróleo, para la extracción de lípidos por reflujo durante 6 h, los matraces serán llevados a peso constante en una estufa a 40°C durante 12 h.

El porcentaje de grasa se obtendrá por la diferencia en peso del matraz antes y después de la extracción dividido entre la cantidad de muestra por 100 % (AOAC, 1985).

➤ **DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS**

Debido a que los carbohidratos son particularmente sensibles a ácidos fuertes y altas temperaturas en esta técnica serán sometidos para ser expuestos aplicando a las esferificaciones parcialmente secas.

Se tomarán una muestra de 1 ml en un tubo de ensaye añadiéndole 2 ml de fenol-sulfúrico por las paredes del tubo en baño de hielo para evitar quemar las muestras. Se someterán en baño de ebullición por 5 minutos y posteriormente se atempera cada muestra durante 10 minutos. La absorbancia será leída en un espectrofotómetro a 480 nm. El resultado estará reportado como mg/ml realizando una curva de calibración en base a glucosa 1ml al 1% p/v (AOAC, 1985).

➤ **DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA**

Se utilizarán 0.1-0.5 g de muestra y el contenido de fibra será determinado por una digestión secuencial con un digestor utilizando 100 ml de H_2SO_4 al 0.255 N y después con NaOH al 0.3 N. El residuo insoluble se obtendrá por filtración posteriormente será secado en una estufa y pesado. Ahí se obtendrá el peso de la fibra junto al de los minerales. Y luego este será incinerado en una mufla, quedando solo el residuo de las cenizas constituido por minerales. Por diferencia entre el primer peso (antes de la incineración) y el de las cenizas se obtendrá el de la fibra cruda (AOAC, 1985).

➤ **DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD FÍSICA**

Se estimará la estabilidad mediante el análisis de la pérdida de humedad de las esferas utilizando una balanza analítica y empleando 10 gramos de muestra fresca y revisando a los 30, 60 y 90 minutos. Al pasar el tiempo, se observará su forma y se presionará levemente las esferas para comprobar si mantenían líquido en su interior.

7.4 EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS EN PLANTAS DE CUNAS DE MOISÉS (*Spathiphyllum wallisii*) DURANTE UN PERIODO DE 3 MESES

Las formulaciones propuestas serán llevadas a cultivos experimentales en campo donde serán evaluados los siguientes parámetros en plantas *Spathiphyllum wallisii*, durante un periodo de 3 meses:

➤ DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LA PLANTA

El tamaño de la planta se determinará a través de la medición desde el nivel del suelo hasta la parte más alta, llevando un control por fecha y altura registrada, posterior a ello se calcula la tasa de crecimiento, para ello se toma la primera medición y la última, se restan y se dividen entre el tiempo expresado en días transcurridos entre las mediciones.

➤ DETERMINACIÓN DEL PESO FRESCO DE LA PLANTA

El peso fresco de la planta se obtendrá a través de la extracción de la planta con todo y raíces, serán sometidas a lavado para retirar los residuos de tierra que hayan quedado, posteriormente se registrará el peso obtenido y volverá al suelo una vez que se haya realizado la medición, esto se realizará mes a mes.

➤ DETERMINACIÓN DEL PESO SECO DE LA PLANTA

El peso seco de la planta se obtendrá a través de la extracción de la planta con todo y raíces, serán sometidas a lavado para retirar los residuos de tierra que hayan quedado registrando el peso, posteriormente serán sometidos a un secado con una temperatura de 60-70° C durante 3 días, hasta alcanzar el peso constante, posteriormente se colocará en una bolsa hermética para que se enfríe posterior a ello se registrará el peso obtenido, con ello podrá calcularse la tasa de crecimiento de la planta además del % de Humedad de la planta.

➤ **DETERMINACIÓN DEL PESO FRESCO DE LA RAÍZ**

El peso fresco de la raíz se obtendrá a través de la extracción de la planta con todo y raíces, serán sometidas a lavado para retirar los residuos de tierra que hayan quedado, después de retiraran las raíces y se registrará el peso obtenido.

➤ **DETERMINACIÓN DEL PESO SECO DE LA RAÍZ**

El peso seco de la raíz se obtendrá a través de la extracción de la planta con todo y raíces, serán sometidas a lavado para retirar los residuos de tierra que hayan quedado, se retirarán las raíces.

posteriormente serán sometidos a un secado con una temperatura de 60-70° C durante 3 días, hasta alcanzar el peso constante, posteriormente se colocará en una bolsa hermética para que se enfríe posterior a ello se registrará el peso obtenido, con ello podrá calcularse la tasa de crecimiento de la raíz además del % de Humedad de la planta.

➤ **DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE LA RAÍZ**

Se realizará la extracción de la planta con todo y raíces, serán sometidas a lavado para retirar los residuos de tierra que hayan quedado, posteriormente se registrará la longitud de la raíz.

➤ **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE CLOROFILA**

La determinación de clorofila se realizará a través de un medidor de clorofila, en el cual se insertará la hoja para tomar la muestra y registrar la lectura, estas mediciones se harán mes a mes.

7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN GENERADA A TRAVÉS DE UTILIZACIÓN DEL SOFTWARE ESTADÍSTICO MINITAB, REVISANDO EL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LAS DIFERENTES FORMULACIONES

Todos los datos generados por cada uno de los parámetros serán colocados en una base de datos de Excel®, el análisis estadístico se realizará a través del software estadístico MINITAB, para llevar a cabo el análisis de varianza (ANOVA) y así determinar el efecto generado por las diferentes formulaciones.

CAPÍTULO VIII. RESULTADOS

8.1 RESULTADOS DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y ESTANDARIZACIÓN DE LA MEZCLA DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS (AH) Y ÁCIDOS FÚLVICOS (AF)

Se caracterizó los parámetros fisicoquímicos de los ácidos a emplear, posteriormente estos mismos parámetros fueron evaluados, pero ahora para los AH/AF, el cual el reactivo que se evaluó es una mezcla de los antes mencionados AH/AF, así mismo todas ellas serán microencapsuladas y evaluadas en donde se determinó cuál fue la más idónea para lograr el crecimiento en cultivos.

➤ DETERMINACIÓN DE pH

Se determinó el potencial de hidrogeno de la muestra de AH/AF y de un aminoácido que se tomó como blanco, cada una de las muestras se analizó por triplicado por un potenciómetro obteniéndose un pH promedio para la muestra de AH/AF de 9.81 y para el aminoácido un pH de 6.23, como se muestra a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Medición del potencial de hidrogeno.

Reactivos	Pruebas	pH
Acido húmicos y fúlvicos	1	9.83
	2	9.79
	3	9.81
Aminoácido	1	6.23
	2	6.23
	3	6.23

➤ DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD

La determinación de la viscosidad de las muestras de AH/AF y del aminoácido (muestra de referencia), fue desarrollado por un viscosímetro Saybolt. La cuales se realizó por triplicado obteniéndose un promedio, para después calcular la

viscosidad cinemática la cual fue para la muestra de AH/AF de 5.08 centistokes y para el aminoácido de 3.14 centistokes aproximadamente, las cantidades de la viscosidad medidas se muestra en la siguiente tabla medidos en SSU (Tabla 2).

Tabla 2. Medición de viscosidad en SSU.

Reactivos	Pruebas	Viscosidad (SSU)
Acido húmicos y fúlvicos	1	42.63
	2	42.80
	3	43.88
Aminoácido	1	38.06
	2	36
	3	39.20

➤ DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN DE DENSIDADES ÓPTICAS

Tomando en cuenta los datos del desarrollo experimental se realizó las mediciones del AH/AF, aminoácido y agua como celda de referencia en un espectrofotómetro para obtener la absorbancia y tener el tamaño aproximado de partículas de las muestras. Los resultados obtenidos se pueden observar en la siguiente tabla 3. La mitad de esta relación estará inversamente proporcionada con el tamaño de partículas de los ácidos, una baja relación indica un tamaño mayor de partícula y alta relación, lo inverso.

Tabla 3. Densidades ópticas medición de absorbancia.

Reactivos	Densidades ópticas
Acido húmicos y fúlvicos	$\epsilon_4 = 0.058 \text{ abs}$ $\epsilon_6 = 3 \text{ abs}$
Aminoácido	$\epsilon_4 = 2.82 \text{ abs}$ $\epsilon_6 = 0 \text{ abs}$
Agua (blanco)	$\epsilon_4 = 0.053 \text{ abs}$ $\epsilon_6 = 0 \text{ abs}$

Se realizó el procedimiento correspondiente para encontrar el tamaño de partículas de los ácido dando una baja relación para el AH/AF de 9.666×10^{-3} dando como significado que contiene partículas de tamaño considerable.

8.2 REALIZACIÓN DE ESTANDARIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN ADECUADA PARA LLEVAR A CABO EL PROCESO DE MICROENCAPSULADO A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA SEMIPERMEABLE CONFORMADA POR ALGINATO DE SODIO Y CLORURO DE CALCIO

Se realizó la estandarización de la formulación acorde a la relación de Alginato de Sodio y de Cloruro de Calcio, se tomaron como criterios esenciales la formación de la esfera, el tamaño de la misma, así como la forma obtenida y su resistencia a temperaturas. La esferificación indica que la mezcla de ácidos deberá de unirse al Alginato de Sodio (2.2, 2.3, 2.5 % m/v), utilizando así mismo un estabilizador (goma xantana) en un 2% dependiendo de la mezcla y posterior a ello se sumergirá en el baño con Cloruro de Calcio al 8 % m/v alrededor de 10 min para obtener un esferificado más consistente, posteriormente se sumergirá en un baño de agua destilada para quitar el contenido de cloruro de calcio sobrante de la esfera.

La formación de la esfera se basó en el tiempo que se mantenía la muestra de AH/AF con alginato de sodio en la solución de cloruro de calcio, el tamaño de la esfera fue proporcional a la boquilla de una jeringa de 10 ml obteniendo un tamaño aproximado entre 5 mm a 7 mm, la forma obtenida de la esfera fue vista como óvalos o esferas con protuberancias (Fig. 1).

La realización de la mezcla utilizada para las esferas, en caso de el ácido húmico y fúlvico, se tomaron 0.210 gr de alginato de sodio en 10 ml de AH/AF y 0.190 de goma xantana, se utilizó una licuadora para que la muestra sea uniforme, para el aminoácido se tomaron 0.230 gr de alginato de sodio en 10 ml del reactivo y 0.200 gr de goma xantana y al igual que el anterior se le licuo la mezcla hasta quedar uniforme (Fig. 2).



Figura 1. Esfera de aminoácidos.



Figura 2. Esfera de AH/AF.

8.3 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN EL PRODUCTO ESFERIFICADO

➤ DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LA ESFERA

Se determinó el grosor promedio de las esferas utilizando un vernier como herramienta de medición, midiendo el largo y ancho de un total de 20 esferas para después obtener un promedio aproximado de 6 mm.

➤ DETERMINACIÓN DE pH

La determinación de pH se realizó a través del método electrométrico, utilizando un potenciómetro usando un electrodo de vidrio con un electrodo de referencia y obteniendo la medición directa de las esferas.

➤ **DETERMINACIÓN DEL PESO**

Se determino, pesando directamente las esferas en una balanza analítica al menos por triplicado para obtener su masa.

➤ **DETERMINACIÓN DEL COLOR**

Para la determinación de esta prueba, se hizo por medio de la observación de al menos 10 esferas de cada una de las muestras, para ver la tonalidad de cada una de ellas.

➤ **DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA**

El ensayo determinado para la textura de las esferas fue mediante el tacto, se comprobó la resistencia y la deformación de las esferas analizadas.

➤ **TIEMPO DE GELIFICACIÓN**

Se estimo el tiempo de gelificación, mediante el procedimiento de la jeringa de 10 ml tomando la muestra del AH/AF y liberando gota a gota en la solución de cloruro del calcio y se cuantifico el tiempo en que tarda en esferificarse y se adiciono el tiempo en que tardo en lavarse en el agua destilada. El mismo procedimiento se aplicó para el aminoácido.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla (tabla 4).

Tabla 4. Resultados de pruebas fisicoquímicas del producto esferificado.

Prueba	AH/AF	Aminoácido
Tamaño medio de esfera	5.5 mm	6 mm
Peso	0.110 gr	0.200 gr
pH	8.46	5.80
Color	negro	Clara transparente
Textura	Suave pegajosa	solida
Tiempo de gelificación	18 minutos	12 minutos

➤ DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Para la determinación de cenizas se empleó para saber lo que queda de la combustión total de la esferificación, para esto se pesaron 3-5 g de la muestra deshidratada y se colocó en una capsula de porcelana puesta a peso constante posteriormente la muestra se carbonizo en una estufa a mecha directa. Una vez carbonizada la muestra se pasó a una mufla a 400°C por 3 horas.

La cápsula de porcelana se pasó a una estufa a 110°C para su enfriamiento, y luego se colocó en un desecador hasta enfriarse a temperatura ambiente. Finalmente, se pesó y se obtuvo el porcentaje de cenizas dividiendo el peso de éstas entre el peso de la muestra inicial, multiplicado por 100 (tabla 5).

Tabla 5. Resultados de determinación de cenizas.

muestras	p crisol	p muestra	p crisol con ceniza	% de cenizas
esferas aminoácido	26.1958	5.0691	26.3205	2.46000276
esferas aminoácido	24.7742	4.9867	24.8913	2.34824634
esferas AH/AF	24.7326	4.3171	25.0263	6.80317806
esferas AH/AF	25.0889	3.5433	25.3383	7.0386363

➤ DETERMINACIÓN DEL %H

La determinación del porcentaje de humedad fue calculando por medio del porcentaje de la materia seca total. La muestra ya completamente seca se colocó 2-5 g de esta muestra en un crisol a peso constante y este se introdujo en una estufa a 100 °C durante 12 horas. Posterior a ello se calculó la diferencia de pesos tomando en cuenta el peso del crisol con muestra seca restado al peso del crisol solo y dividido entre el peso de la muestra inicial y el resultado se multiplicará por 100 %. Para determinar la humedad como tal se restará al 100 % el % de materia seca total (tabla 6).

Tabla 6. Resultados de determinación de humedad.

Muestras	p crisol	p muestra	p con la muestra humedad	% de humedad
esferas aminoácido	1.8556	4.3407	1.9754	2.759923515
esferas aminoácido	1.7685	2.2427	1.8807	5.002898292
esferas AH/AF	1.7722	3.6397	1.9656	5.313624749
esferas AH/AF	1.5847	3.5433	1.788	5.737589253

➤ DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

Se pesaron 0.1 - 1 g de muestra seca y se realizó una digestión de la muestra con 5 ml de ácido sulfúrico concentrado en presencia de 1.5 g de mezcla digestora como catalizador. El matraz Kjeldhal se dejó enfriar y después se agregó 130 ml de agua destilada y 6 ml de ácido bórico al 4 % agregando también 10 gotas de indicador Shiro Toshiro. La solución ácida se alcalinizo con 8 ml de una solución de hidróxido de sodio 1:1. La solución se llevó al aparato de destilación kjeldhal; donde se recogió 80 ml de la solución y posteriormente se tituló con una solución de ácido sulfúrico al 0.01787 N, calculando con ello el % de N que contiene la muestra, después se realizó el cálculo para la determinación total de proteína cruda (tabla 7).

Tabla 7. Resultados de determinación de proteínas.

Muestras	peso de la muestra	ml gastados	N	%N	Factor	% de proteína
aminoácido liquido	1.0539	1.3	0.01787	0.03086004	6.25	0.192875273
AH/AF liquido	0.5122	3.6	0.01787	0.17583913	6.25	1.098994533
esferas aminoácido	0.3485	1.8	0.01787	0.12921779	6.25	0.807611191
esferas aminoácido	0.2963	3.2	0.01787	0.27019102	6.25	1.688693891
esferas AH/AF	0.1967	2.5	0.01787	0.31797153	6.25	1.987322064
esferas AH/AF	0.1976	1.3	0.01787	0.16459211	6.25	1.028700658

➤ **DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS**

Para determinar el contenido de extracto etéreo se pesó 1-2 g de muestra deshidratada en tubos de celulosa, los cuales se depositaron en el equipo de extracción aparato Soxleth. Se utilizarán 250 ml de eter de petróleo, para la extracción de lípidos por reflujo durante 6 h, los matraces fueron llevados a peso constante en una estufa a 40°C durante 12 h. El porcentaje de grasa se obtendrá por la diferencia en peso del matraz antes y después de la extracción dividido entre la cantidad de muestra por 100 % (tabla 8).

Tabla 8. Resultados de determinación de lípidos.

muestras	p crisol	p muestra	p crisol con grasa	% de grasas
aminoácido liquido	43.9722	1.3209	43.9821	0.74948898
AH/AF liquido	44.4598	1.1004	44.4674	0.69065794
esferas aminoácido	44.358	1.2037	44.3631	0.42369361
esferas aminoácido	43.9625	1.0749	43.9684	0.54888827
esferas AH/AF	44.5434	1.2717	44.558	1.14806951
esferas AH/AF	43.8663	1.1481	43.8891	1.98588973

➤ **DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA**

Se utilizaron 0.1 - 0.5 g de muestra (W_1) y el contenido de fibra fue determinado por una digestión secuencial con un digestor utilizando 100 ml de H_2SO_4 al 0.255 N, esto se llevó a ebullición y se mantuvo el reflujo durante 30 minutos, se filtró y lavo 3 veces con agua destilada caliente utilizando 50 ml aproximadamente en cada lavado. Posteriormente con NaOH al 0.3 N al igual se llevó a ebullición y se mantuvo el reflujo durante 30 minutos para después filtrarlo y lavar con agua destilada como se hizo con el ácido (Fig.3), al finalizar con el procedimiento anterior se lavó 3 veces con acetona y se llevó los crisoles a la estufa a 130 °C por una hora, se sacó los crisoles de la estufa enfriándolos en el desecador para posteriormente pesarlos (W_2) y se trasladó a una mufla a 300 °C para finalmente enfriarlo en un desecador y pesarlo (W_3). Por diferencia entre el primer peso (antes de la incineración) y el de las cenizas se obtendrá el de la fibra cruda (tabla 9).



Figura 3. Filtrado y lavado de la muestra.

Tabla 9. Resultados de determinación de fibra cruda.

muestras	w1	w2	w3	% de fibra
esferas aminoácido	0.32	30.07	30.0645	1.71875
esferas aminoácido	0.3188	30.0582	30.0579	0.09410289
esferas AH/AF	0.3497	30.0227	30.018	1.34400915
esferas AH/AF	0.3667	30.013	30.0125	0.13635124

➤ DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD FÍSICA

Se determinó la estabilidad mediante la pérdida de humedad de las esferas en donde se utilizó una balanza analítica y se empleó 10 gramos de muestra fresca y revisando periódicamente a los 30, 60 y 90 minutos. Al pasar el tiempo, se observó que la forma se mantuvo alrededor esos intervalos de tiempo y por lo consiguiente el líquido se mantuvo en el interior de la esfera.

8.4 EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS EN PLANTAS DE CUNAS DE MOISÉS (*Spathiphyllum wallisii*) DURANTE UN PERIODO DE 3 MESES

➤ **DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LA PLANTA**

El tamaño de la planta se determinó a través de la medición desde el nivel del suelo hasta la parte más alta, llevando un control por fecha y altura registrada, posterior a ello se calcula la tasa de crecimiento (Fig. 4), para ello se toma la primera medición y la última, se restan y se dividen entre el tiempo expresado en días transcurridos entre las mediciones (tabla 10).



Figura 4. Determinación del tamaño de la planta y trasplantación.

Tabla 10. Tamaño de las plantas.

Planta cuna de moisés	Tamaño de la planta (inicio)
1 (planta prueba)	80 cm
2 (planta control)	90 cm

Planta cuna de moisés	Tamaño de la planta (final)
1 (planta prueba)	86 cm
2 (planta control)	94 cm

➤ **DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE LA RAÍZ**

Se realizó la extracción de la planta con todo y raíces, fueron sometidas a lavado para retirar los residuos de tierra que hayan quedado, posteriormente se registró la longitud de la raíz (Fig. 5).



Figura 5. Cunas de moisés después de la medición de raíz.

Tabla 11. Longitud de la raíz.

Planta cuna de moisés	Tamaño de raíz (inicio)
1 (planta prueba)	10 cm
2 (planta control)	12 cm

Planta cuna de moisés	Tamaño de raíz (final)
1 (planta prueba)	15 cm
2 (planta control)	16.5 cm

Para el crecimiento de la planta cuna de moisés, se tomó la necesidad de realizar la prueba en dos plantas de la misma índole, una como la planta prueba y otra como planta control, a la planta prueba se le adiciona las esferas de AH/AF cada tercer día en conjunto de su respectivo riego (Fig. 6) y a la planta control solo se lleva a cabo con su respectivo riego (Fig. 7), observando día con día su crecimiento.



Figura 6. Adición de esferas de AH/AF a la planta prueba.



Figura 7. Observación de planta control después de la adición de agua.

8.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN GENERADA A TRAVÉS DE UTILIZACIÓN DEL SOFTWARE ESTADÍSTICO MINITAB, REVISANDO EL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LAS DIFERENTES FORMULACIONES

ANOVA de un solo factor: GRAMOS DE ALGINATO vs. PRODUCTOS

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
PRODUCTOS	2 AH/AF, AMINOÁCIDOS

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Sec.	Contribución	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PRODUCTOS	1	0.000430	18.12%	0.000430	0.000430	1.11	0.341
Error	5	0.001942	81.88%	0.001942	0.000388		
Total	6	0.002371	100.00%				

$p < \text{nivel de significancia} \rightarrow \text{Rechazar } H_0$

como $0.341 < 0.05$ se acepta H_0

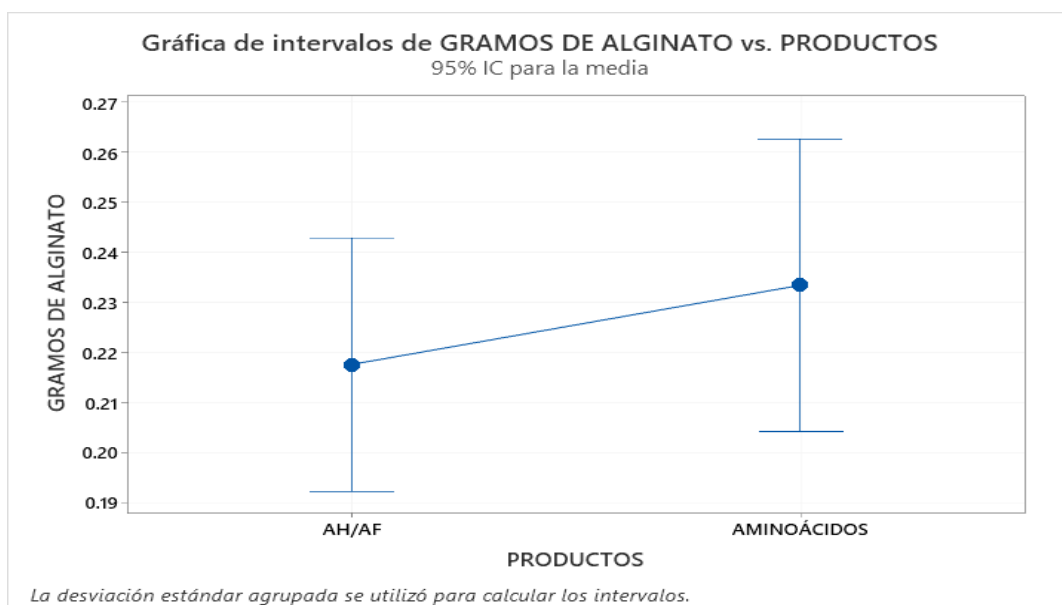
Resumen del modelo

	S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	PRESS	R-cuad. (pred)
	0.0197062	18.12%	1.75%	0.0036722	0.00%

Medias

PRODUCTOS	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
AH/AF	4	0.2175	0.0222	(0.1922, 0.2428)
AMINOÁCIDOS	3	0.23333	0.01528	(0.20409, 0.26258)

Desv.Est. agrupada = 0.0197062



Grafica 1. Intervalos de Gramos de alginato vs Productos

En base a el análisis de varianza obtenido se puede concluir que no hay diferencia significativa en los efectos de formulaciones diferentes de los microencapsulados de liberación controlada, explicando que las formulaciones utilizadas experimentalmente tendrán el mismo beneficio para la planta cuna de moisés.

CAPÍTULO IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo con el porcentaje establecido con la elaboración de las esferas (microencapsulados) dentro de la experimentación pertinente realizada, la cual será utilizada para el cultivo de plantas ornamentales, está en el margen porcentual de otras experimentaciones de liberación controlada.

Por ejemplo, para la producción de plantas de *Pinus halepensis*, utilizaron dosis de fertilizantes de liberación controlada recubiertos de OSMOCOTE 9-13-18 y OSMOCOTE 16-8-9 con porcentajes (1.5; 3.25 y 5 g/l) y (3.25; 5 y 7 g/l) respectivamente, Dando un buen aporte de fosforo, potasio y nitrógeno a la planta (66).

El éxito al esferificar con alginato de sodio y cloruro de calcio es darle a la esfera una consistencia adecuada, además al agregarle un porcentaje de la goma xantana se le dio mayor firmeza, resistencia y forma requerida. El recubrimiento antes mencionado es amigable con el suelo donde se encontrará la planta de ornato. Dando una efectividad a la experimentación realizada con los datos obtenidos en base a otras investigaciones.

CAPÍTULO X. CONCLUSIONES

La esferificación, en base a lo recabado experimentalmente dando la certeza al procedimiento realizado satisface los parámetros establecidos al inicio del proyecto.

Aplicando todos los análisis fisicoquímicos de los ácidos y aminoácidos ocupados experimentalmente, como el potencial de hidrogeno (pH), viscosidad (μ), y densidades ópticas (DO), para facilitar la estandarización adecuada de la membrana semipermeable para la correcta esferificación con alginato de sodio y cloruro de calcio de los aminoácidos y los ácidos pertinentes, aplicando como método una esferificación directa, dándole resistencia, firmeza y durabilidad, logrando así su fácil manipulación y aplicación.

Beneficiando y fortaleciendo minuciosamente al crecimiento y desarrollo adecuado de las plantas de ornato dándole todos los nutrimentos necesarios (Nitrógeno-Potasio-Fosforo) tanto a ella como al suelo en su periodo de crecimiento.

Experimentalmente en el cuidado y aplicación del fertilizante esferificado en la planta de ornato el crecimiento es suficientemente notorio, esto se respalda a que el fertilizante fue fortaleciendo a la planta cada vez que esta lo necesitaba durante su crecimiento. obteniendo un resultado agradable y satisfactorio.

La esferificación aplicada a los agroquímicos da una vida útil más prologada al fertilizante, una resistencia a cambios de temperaturas ambientales, protegiendo así la mayoría de su propiedades y nutrientes, para que sean aprovechadas en su totalidad por las plantas de aplicación y el suelo dando a este ultimo mayor fertilidad para el crecimiento notorio de las plantas. En el estado de Oaxaca la esferificación a fertilizantes de liberación controlada es un tema muy poco explotado, ya que se trata de un proceso tardado de realizar siguiendo minuciosamente sus cuidados, pero sin embargo otorga muy grandes beneficios a un largo periodo de tiempo a los cultivos aplicados.

CAPÍTULO XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hayes MHB. 1991. In advances in soil organic matter research: the impact on agriculture and the environment. WS Wilson (Eds.), Royal Society of Chemistry, Cambridge. 3-22 pp.
2. Stevenson FJ. 1994. Humus chemistry. Genesis, composition, reaction. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
3. Schnitzer M. 2000. Life time perspective on the chemistry of soil organic matter. Sparks DL (Ed.). Advances in Agronomy. Academic Press. 98: 3-58.
4. MacCarthy P, Clapp CE, Malcom RL, Bloom PR. 1990. An introduction to soil humic substances. In Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings. P Maccarthy, CE Clapp, RL Malcom, PR Bloom (Eds.). Proceedings of a symposium by the IHSS, Chicago, Illinois, December 1985. 161-86 pp.
5. Gallardo J. 1982. La materia orgánica del suelo, su importancia en suelos naturales y cultivados. Temas de divulgación. Instituto de Orientación y Asistencia Técnica del Oeste, No. 6, Salamanca.
6. Kalbitz K, Popp P, Geyer W, Hanschmann G. 1997. HCH mobilization in polluted wetland soils as influenced by dissolved organic matter. The Science of the total environment. 204: 37-48.
7. Zysset M, Berggren D. 2001. Retention and release of dissolved organic matter in podzol B horizons. European J. Soil Sci. 52: 409-21.
8. Zsolnay A. 2003. Dissolved organic matter: artefacts, definitions and functions. Geoderma 113: 187-209.
9. Senesi N, Miano TM, Provenzano MR, Brunetti G. 1989. Spectroscopic and compositional comparative characterization of I.H.S.S. reference and standard fulvic and humic acids of various origin. Sci. Total Environ. 81-82: 143-56.
10. Barancikova G, Senesi N, Brunetti G. 1997. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. Geoderma 78 (3-4): 251-66.
11. AGRO. 2000. Revista Industrial del Campo. Sección Agroindustria. Benedetti A, Figliolia A, Izza C, Indiatì R, Canali S. 1992. Fertilization with NPK Aiken

- GR, Mcknight DM, Wershaw RL, Maccarthy P. 1985. An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. In Humic substances in soil, sediment and water: Geochemistry, isolation and characterization. Aiken GR et al. (Eds) Wiley-Interscience, New York. 1-9 pp.
12. Juneta A.B.D, Isabelle B, Daniel M, Armand L, Samuel M, Christine B, Jerome T, Joelle D. 2013. Characterisation of organic matter from organo-mineral complexes in an Andosol from Reunion Island. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 99: 92-100.
 13. Tikhova VD, Shakirov MM, Fadeeva VP, Dergacheva MI, Orlova LA. 2001. Elemental content and functional group analysis of humic acids in fossilized soils of different ages. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 74 (8): 1380-1384.
 14. Berthelin J, Babel U, Toutain F. 2006. History of soil biology. In: Warkentin, B. P. (Ed.), *Footprints in the Soil. People and Ideas in Soil History*. Elsevier, Amsterdam. pp: 279–306.
 15. Pohlán J. 2002. Phosphorus contents oilin relation to fulvic acid carbón fraction. *Communications in soil Science and plant analysis*. 33(19-20): 3737-44.
 16. Stevenson FJ. 1982. *Humus chemistry, Genesis, composition, reactions*. Department of Agronomy, University of Illinois, John Wiley & Sons, Inc. New York.
 17. Sutton R, Sposito G. 2005. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environmental Science and Technology*. 39 (23): 9009-9015.
 18. Christi I, Knicker H, Kögel-Knabner I, Kretzschmar R. 2000. Chemical heterogeneity of humic substances: Characterization of size fractions obtained by hollow-fibre ultrafiltration. *European journal of soil science*, 51 (4): 617-25.
 19. Peña EM, Havel J, Patocka J. 2005. Humic substances compounds of still unknown structure applications in agriculture, industry, environment and biomedicine. *Journal of applied biomedicine* 3: 13-24.

20. Giannoulli A, Stavros K, Siavalas G, Chatziapostolou A, Christanis K, Papazisimou S, Papanicolao C, Foscolos A. 2009. Evaluation of greek low-rank coals as potential raw material for the production of soil amendments and organic fertilizers. *International journal of coal geology*, 477 (3-4): 383-393.
21. Montoya J, Menjivar J, Bravo I. 2012. Fraccionamiento y cuantificación de la materia orgánica en andisoles bajo diferentes sistemas de producción [Tesis]. Universidad del Pacífico-Colombia. 7 p.
22. Nardi S, Pizzeghello D, Muscolo A, Vianello A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil biology Biochemistry*, 34 (11): 1527-1536.
23. Pasqualoto L, Canellas F, Lopes AL, Okorokova F, Rocha A. 2009. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H-ATPase activity in maize' roots. *Plant physiology*, 130 (4): 1951-1957.
24. Ramos R. 2000. Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulante. Efecto frente al estrés salino [Tesis]. Universidad de Alicante España. 350 p.
25. Santos, G. de A. Fundamentos da matéria orgânica do solo. *Ecossistemas tropicais & subtropicais*. 2.a ed., Ed. Metrópole, 2008, Porto Alegre, 636 p., ISBN 978-89-85401-73-9.
26. Aznar Murillo Gregorio. Los Ácidos Húmicos en la agricultura. Jiloca Industrial, S.A. (JISA).
27. Cooper L. 2017. El valor de las sustancias húmicas en el ciclo de vida del carbón de los cultivos: Ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, y más. Bio Huma Netics Inc.
28. Trevisan S, Francioso O, Quaggiotti S, Nardi S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: From environmental aspects to molecular factors. *Plant Signaling & Behavior*. 2010;5(6):635–43. doi:10.4161/psb.5.6.11211

29. Piccolo A. The nature of soil organic matter and innovative soil managements to fight global changes and maintain agricultural productivity. In: Piccolo A, editor. *Carbon Sequestration in Agricultural Soils*. Heidelberg, Germany: Springer; 2012. p. 1–19.
30. Vaccaro S, Ertani A, Nebbioso A, Muscolo A, Quaggiotti S, Piccolo A, et al. Humic substances stimulate maize nitrogen assimilation and amino acid metabolism at physiological and molecular level. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2015;2(1):5. doi:10.1186/s40538-015-0033-5.
31. Hernandez OL, Huelva R, Guridi F, Olivares FL, Canellas LP. Humates isolated from vermicompost as growth promoter in organic lettuce production. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. 2013;22(1):70–5.
32. Canellas LP, Martínez D, Oliveira L, Oliveira N, Campostrini E, Rosa RCC, et al. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*. 2013;366(1–2):119–32. doi:10.1007/s11104-012-1382-5.
33. Jannin L, Arkoun M, Ourry A, Laîné P, Goux D, Garnica M, et al. Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms. *Plant and Soil*. 2012;359(1–2):297–319. doi:10.1007/s11104-012-1191-x.
34. Trevisan S, Botton A, Vaccaro S, Vezzaro A, Quaggiotti S, Nardi S. Humic substances affect *Arabidopsis* physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development. *Environmental and Experimental Botany*. 2011;74:45–55. doi:10.1016/j.envexpbot.2011.04.017
35. Stevenson, I.L., and M. Schnitzer. 1982. Transmission electron microscopy of extracted fulvic and humic acids. *Soil Sci*.
36. Martin F., Estudio de dos Fracciones de Ácidos Fúlvicos de suelos podsólicos, *Comunicación de Edafología y Biología Aplicada* del Cuadro. I. C.
37. Ramírez PR, Zapata RN. 2010. Influencia del tamaño de agregados del suelo, en el crecimiento de zanahoria (*Daucus carota* L.) cultivada en un andisol virgen de maricao. pp. 15.

38. Bronick CJ, Lal R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124: 3-22.
39. Gutschick VP, Simonneau T. 2002. Modelling stomatal conductance of field-grown sunflower under varying soil water content and leaf environment: comparison of three models of stomatal response to leaf environment and coupling with an abscisic acid-based model of stomatal response to soil drying. *Plant Cell Environ.* 25: 1423-1434.
40. Gutierrez. 2000. Efectos de Ácidos Fúlvicos de dos orígenes en la dinámica de crecimiento de la plántula de tomate (*Lycopersicum esculentum*) Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
41. AAPFCO (Association of American Plant Food Control Officials, US.) 1995. Indiana, US. Official Publication No 48: pp. 3-4.
42. Shaviv A, Smadar R, Zaidel E. 2003. Model of diffusion release from polymer coated granular fertilizers. *Envir. Sci. & Tech.* 37:51-56.
43. Trenkel ME. 2010. Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Use Efficiency in Agriculture". IFA, Paris.
44. Hauck RD. 1985. Slow release and bio-inhibitor-amended nitrogen fertilizers. In "Fertilizer technology and use" (O.P. Engelstad, 3rd Ed.) New York, US. pp. 293-322.
45. Shaviv A, Smadar R, Zaidel E. 2003. Model of diffusion release from polymer coated granular fertilizers. *Envir. Sci. & Tech.* 37:51-56.
46. Mikkelsen RL. 1994. Using hydrophilic polymers to control nutrient release. *Fert. Res US.* pp. 53-60.
47. Popplewell LM, Black JM, Norris LM, Porzio M. 1995. Encapsulation system for flavors and colors. *En: Food Technology.* 49 (5): 76-82.
48. Varshosaz J, Alinagari R. 2005. Effect of citric acid as cross-linking agent on insulin loaded chitosan microspheres. *En: Iranian Polymer Journal.* 14 (7): 647-656.
49. Mans C, Castells P. 2011. La nueva cocina científica. *Investigación y Ciencia.* pp. 56-63.

50. Gil HA, Ruiz L. 2010. Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Segunda edición. Ed. Médica Panamericana, México. Tomo II. ISBN: 978-84-9835-347-1; pp. 812.
51. Avendaño G, López A, Palou E. 2013. Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos, 7-1, pp. 87-96.
52. Qiao D, Hongsheng L, Yu L, Bao X, Simon GP, Petinakis E, Chen L. 2016. Preparation and characterization of slow-release fertilizer encapsulated by starch-based superabsorbent polymer. Carbohydrate polymers, 147: 146-154.
53. Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature, 418(6898): 671-677.
54. Azeem BS, KuShaari K, Man ZB, Basit A, Thanh TH. 2014. Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. Journal of Controlled Release, 181: 11-21.
55. Tsai BS. 1986. Continuous spouted bed process for sulphur-coating urea. chemical and biological engineering (Vol. master of applied science). Vancouver: University of British Columbia.
56. Bao X, Ali A, Qiao DI, Liu HS, Chen L, Yu L. 2015. Application of polymer materials in developing slow/control release fertilizer. Acta Polymerica Sinica, 9: 1010-1019.
57. Mulder W, Gosselink R, Vingerhoeds M, Harmsen P, Eastham D. 2011. Lignin based controlled release coatings. Industrial Crops and Products, 34(1): 915–920.
58. Perez JJ, Francois NJ. 2016. Chitosan-starch beads prepared by ionotropic gelation as potential matrices for controlled release of fertilizers. Carbohydrate polymers, 148: 134-142.
59. Valiela I, Foreman K, LaMontagne M, Hersh D, Costa J, Peckol P, *et al.* 1992. Couplings of watersheds and coastal waters: sources and consequences of nutrient enrichment in Waquoit Bay, Massachusetts. Estuaries, 15(4): 443-457.

60. Carpenter S, Caraco N, Correll D, Howarth R, Sharpley A, Smith V. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*, 8(3): 559-568.
61. Shaviv A. 2001. Advances in controlled-release fertilizers. *Advances in Agronomy*, 71: 1-49.
62. Chien SH, Prochnow LI, Cantarella H. 2009. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. *Advances in Agronomy*, 102: 267-322.
63. Rashidzadeh A, Olad A, Salari D, Reyhanitabar A. 2014. On the preparation and swelling properties of hydrogel nanocomposite based on Sodium alginate-g-poly(acrylic acid-co-acrylamide)/Clinoptilolite and its application as slow release fertilizer. *Journal of Polymer Research*, 21(2): 1-15.
64. Zhong K, Lin Z, Zheng X, Jiang G, Fang Y, Mao X, *et al.* 2013. Starch derivative-based superabsorbent with integration of water-retaining and controlled-release fertilizers. *Carbohydrate Polymers*, 92(2): 1367-1376.
65. Diez C, Rodrigo N, Mora ML, Gallardo F. 2001. Efecto de la adición de efluentes de celulosa Kraft sobre la actividad biológica del suelo volcánico. En: *Actas del XV congreso Latinoamericano y V Cubano de las Ciencias del Suelo*, Nov. 2001. Cuba. pp. 74.
66. Olié J, Segura ML, Blanco E, Artero F. 1999. Los fertilizantes de liberación controlada lenta aplicados a la producción de planta forestal de vivero. Efecto de dosis y formulaciones sobre la calidad de *Pinus halepensis* mill. 225-226.

ANEXOS

A.1 ACTIVIDADES A DESARROLLAR

No.	Descripción
1	Determinación de los siguientes parámetros fisicoquímicos en los ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF): Potencial de hidrógeno (pH), Viscosidad (μ), Contenido de Nitrógeno (CN) y Relación de Densidades Ópticas (DO).
2	Estandarización de la formulación adecuada para llevar a cabo el proceso de esferificación a través de una membrana semipermeable conformada por Alginato de Sodio y Cloruro de Calcio.
3	Determinación de los parámetros fisicoquímicos en el producto esferificado: Color, viscosidad, tamaño de la esfera, textura, potencial de hidrógeno, capacidad de retención de agua, densidad aparente, tiempo de Gelificación, determinación de carbohidratos, determinación de lípidos, determinación de proteínas, determinación de cenizas, determinación de humedad, temperatura de ruptura de la membrana, tiempo de ruptura de la membrana, conductividad eléctrica, vida de anaquel, determinación de fibra, estabilidad física y acidez.
4	Evaluación de las siguientes características en plantas de Cunas de moisés (<i>Spathiphyllum wallisii</i>) durante un periodo de 3 meses, tamaño de planta (TP), peso fresco (PFP) y peso seco de planta (PSP), peso fresco (PFR) y seco de raíz (PSR), longitud de raíz (LR) y contenido total de clorofila (CF).
5	Análisis estadístico la información generada a través de utilización del software estadístico SAS®, revisando el análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de las diferentes formulaciones.

A.2 CALENDARIZACIÓN DE ENTREGABLES

No.	Entregable	Fecha
1	Informe técnico sobre la determinación de los siguientes parámetros fisicoquímicos en los ácidos húmicos (AH) y ácidos fúlvicos (AF): Potencial de hidrógeno (pH), Viscosidad (μ), Contenido de Nitrógeno (CN) y Relación de Densidades Ópticas (DO).	ENERO-MARZO/2020
2	Informe técnico de la estandarización de la formulación adecuada para llevar a cabo el proceso de esferificación a través de una membrana semipermeable conformada por Alginato de Sodio y Cloruro de Calcio.	FEBRERO-MARZO/2020
3	Informe técnico de la determinación de los parámetros fisicoquímicos en el producto esferificado: Color, viscosidad, tamaño de la esfera, textura, potencial de hidrógeno, capacidad de retención de agua, densidad aparente, tiempo de Gelificación, determinación de carbohidratos, determinación de lípidos, determinación de proteínas, determinación de cenizas, determinación de humedad, temperatura de ruptura de la membrana, tiempo de ruptura de la membrana, conductividad eléctrica, vida de anaquel, determinación de fibra, estabilidad física y acidez.	MARZO-JUNIO/2020
4	Informe técnico de la evaluación sobre las siguientes características en plantas de Cunas de moisés (<i>Spathiphyllum wallisii</i>) durante un periodo de 6 meses, tamaño de planta (TP), peso fresco (PFP) y peso seco de planta (PSP), peso fresco (PFR) y seco de raíz (PSR), longitud de raíz (LR) y contenido total de clorofila (CF).	JUNIO-NOVIEMBRE/2020
5	Informe técnico del análisis estadístico sobre la información generada a través de utilización del software estadístico SAS®, revisando el análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de las diferentes formulaciones.	NOVIEMBRE-DICIEMBRE/2020