

TRABAJO FIN DE GRADO

BIOTECNOLOGÍA

**LIGNINA KRAFT COMO PRECURSOR DE COMPLEJANTES
DE HIERRO PARA APLICACIONES AGRÍCOLAS**



Clara Gamonal Fernández

Ingeniería Química

Julio/2025



**UNIVERSIDAD DE OVIEDO
FACULTAD DE BIOLOGÍA**



RESUMEN

Este trabajo evalúa el uso de la lignina Kraft, un subproducto de la industria papelera, como precursor de agentes complejantes de hierro para aplicaciones agrícolas sostenibles en suelos alcalinos. La lignina se modificó mediante oxidación húmeda en presencia de KOH (120 min, 70 bar y 170 °C) para mejorar su capacidad de formar complejos estables en disolución con hierro, esenciales para su biodisponibilidad en suelos alcalinos. Se evaluó la capacidad del efluente de la oxidación (EO) para complejar hierro a distintos pH (6-9) y relaciones hierro-carbono (0-1 mg Fe/mg COT), así como la de sus principales componentes: la lignina activada (LA) y la fase deslignificada (FD).

Los resultados mostraron que la EO tiene una alta capacidad de retención, especialmente a pH 8, donde se logra un equilibrio óptimo entre solubilidad y complejación, con una concentración de hierro soluble máxima de 28 mg/L. La LA presente en la EO demostró ser particularmente eficiente a este pH, probablemente debido a la ionización de grupos hidroxilo y carboxilo presentes en su estructura. Por su parte, la FD mostró una capacidad limitada pero relevante a ratios bajos, atribuida a ácidos orgánicos de bajo peso molecular y/o ácidos fúlvicos formados como subproductos de la oxidación de la lignina. El análisis de ultrafiltración y espectrofotometría confirmó que el hierro se mantiene en disolución como complejo y no en forma libre.

En conclusión, los derivados de la lignina Kraft, especialmente EO, representan una alternativa prometedora y renovable a los quelantes sintéticos, con un alto potencial para reducir el impacto ambiental de la fertilización convencional en suelos alcalinos. No obstante, aún quedan aspectos por profundizar, como una caracterización de la composición de los derivados o la realización de pruebas agronómicas.

ABSTRACT

This work evaluates the use of Kraft lignin, a byproduct of the paper industry, as a precursor for iron chelating agents for sustainable agricultural applications in alkaline soils. The lignin was modified by wet oxidation in the presence of KOH (120 min, 70 bar, and 170 °C) to improve its ability to form stable complexes with iron in solution, which is essential for its bioavailability in alkaline soils. The capacity of the oxidation effluent (EO) to chelate iron at different pH levels (6-9) and iron-to-carbon ratios (0-1 mg Fe/mg TOC) was evaluated, as well as that of its main components: activated lignin (LA) and the delignified fraction (FD).

The results showed that the EO has a high retention capacity, especially at pH 8, where an optimal balance between solubility and complexation is achieved, with a maximum soluble iron concentration of 28 mg/L. The LA present in the EO proved to be particularly efficient at this pH, probably due to the ionization of hydroxyl and carboxyl groups in its structure. Meanwhile, the FD exhibited a limited but relevant capacity at low ratios, attributed to the presence of low-molecular-weight organic acids and/or fulvic acids formed as byproducts of lignin oxidation. Ultrafiltration and spectrophotometric analyses confirmed that iron remains dissolved as a complex and not in its free form.

In conclusion, Kraft lignin derivatives, especially EO, represent a promising and renewable alternative to synthetic chelants, with high potential to reduce the environmental impact of conventional fertilization in alkaline soils. However, further aspects need to be explored, such as detailed characterization of the derivatives' composition and agronomic testing.

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Declaro que el trabajo titulado "Lignina Kraft como precursor de complejantes de hierro para aplicaciones agrícolas" ha sido realizado por mí de forma original e independiente. Afirmo que las fuentes utilizadas han sido debidamente citadas y referenciadas, y que no he cometido plagio ni en el uso indebido de trabajos ajenos.

ÍNDICE:

1	Introducción	1
2	Antecedentes	2
2.1	Lignina Kraft	2
2.2	Activación de la lignina	4
2.3	Hierro en plantas	5
3	Material y métodos	7
3.1	Materiales	7
3.2	Oxidación de la lignina Kraft	7
3.3	Ensayos de complejación de hierro	9
3.4	Métodos analíticos	10
4	Resultados y discusión	12
4.1	Efluente oxidado (EO)	12
4.2	Fase deslignificada (FD)	14
4.3	Análisis del reparto de hierro entre las fracciones	15
4.4	Punto óptimo	19
5	Limitaciones y mejoras a futuro	22
6	Conclusiones	24
7	Bibliografía	25
8	ANEXO I: Método del tiocianato	

1 Introducción

En las últimas décadas, la creciente preocupación por la sostenibilidad ambiental ha motivado una transformación en los modelos de producción y consumo, impulsando la transición hacia una economía circular y una bioeconomía basada en el aprovechamiento eficiente de los recursos naturales. Estos cambios han afectado especialmente al sector de los fertilizantes, donde el uso intensivo de fertilizantes sintéticos representa un desafío ambiental importante [1], al estar asociado a problemas como la contaminación de suelos y aguas por lixiviación de nutrientes y a la emisión de gases de efecto invernadero durante su producción y aplicación, entre otros [2]. Esto está motivando la búsqueda de fertilizantes más sostenibles, que reduzcan el daño ecológico sin comprometer la productividad agrícola. En este contexto, se están explorando alternativas que incluyan materiales biodegradables, bioestimulantes, fuentes renovables y/o mecanismos de liberación controlada [1], [3].

Uno de los enfoques más prometedores en esta línea es la utilización de ligninas como agentes complejantes de micronutrientes esenciales, como puede ser el hierro. Este elemento es fundamental para el metabolismo de las plantas, pero su disponibilidad en suelos alcalinos es limitada [3], [4]. La lignina es un biopolímero amorfo de estructura altamente compleja, rico en grupos fenólicos y aromáticos [5], lo que le confiere propiedades químicas interesantes para su uso como precursor de materiales, aditivos funcionales o incluso fertilizantes [6]. Sin embargo, su heterogeneidad estructural y baja reactividad natural han limitado históricamente su aprovechamiento directo. Las ligninas modificadas, normalmente mediante procesos oxidativos, ofrecen ventajas significativas en este ámbito al combinar sus propiedades estructurales mejoradas con su abundancia y bajo coste como subproducto industrial. Al actuar como matriz complejante, no solo facilitan la disponibilidad de nutrientes esenciales, sino que también puede modular su liberación en el tiempo, mejorando la eficiencia agronómica y reduciendo las pérdidas por lixiviación. [3], [7]. Por ello, en los últimos años se han desarrollado múltiples estrategias de modificación química, entre las cuales destacan los tratamientos hidrotermales, orientados a mejorar su solubilidad, funcionalidad y capacidad de interacción con otros compuestos [7], [8].

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de diferentes fracciones derivadas de lignina Kraft para formar complejos estables con hierro en medios acuosos, con el fin de valorar su potencial como matrices complejantes en aplicaciones agrícolas. Para ello, se estudió el comportamiento de la lignina Kraft activada mediante oxidación húmeda y la fase líquida obtenida tras su precipitación ácida. Se analizó la influencia del pH y del ratio Fe:C en la

estabilidad de los complejos formados, así como la evolución del carbono orgánico total y del hierro en solución. Este estudio se enmarca en la búsqueda de alternativas sostenibles a los agentes quelantes sintéticos, aprovechando residuos lignocelulósicos industriales como recurso funcional en la formulación de fertilizantes.

2 Antecedentes

2.1 Lignina Kraft

La industria papelera es una de las principales generadoras de residuos lignocelulósicos, entre los que destaca la lignina. En este contexto, el proceso Kraft (Figura 1) es actualmente la tecnología dominante en la industria papelera para la obtención de pulpa celulósica a partir de biomasa leñosa. Su amplia adopción se debe a su alta eficiencia en la separación de la lignina y la celulosa [9], su capacidad para procesar diferentes tipos de madera y la posibilidad de recuperar productos químicos del licor negro, lo que reduce los costes operativos y mejora la sostenibilidad del proceso. Esta relevancia industrial hace que la lignina Kraft sea el tipo de lignina más disponible a escala comercial, lo que justifica su elección como materia prima para estudios de valorización.

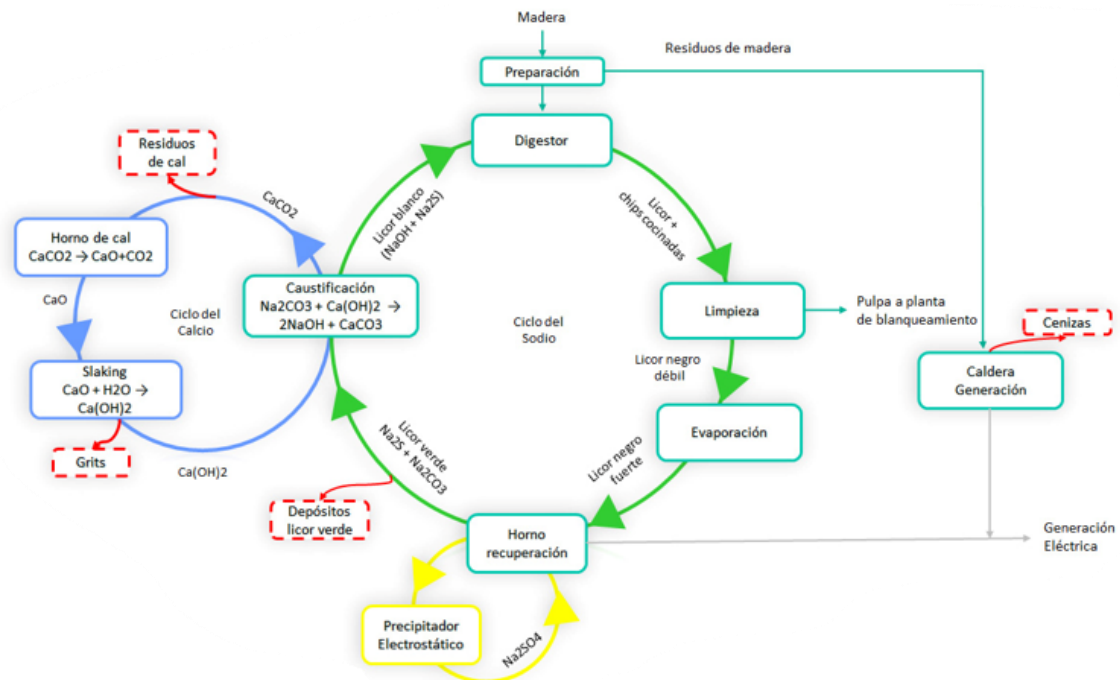


Figura 1: Esquema del proceso Kraft. [10]

Durante el proceso Kraft, la lignina de la madera se fragmenta y solubiliza, generando una solución residual de color oscuro conocida como licor negro que contiene, además de lignina

disuelta, una variedad de compuestos orgánicos derivados de la descomposición térmica y química de la biomasa, además de los reactivos empleados durante una etapa previa de cocción (NaOH y Na₂S) [5], [9]. La gestión de este licor negro Kraft representa un reto técnico y ambiental por su pH altamente alcalino, generalmente superior a 11, y su elevada carga orgánica [11], lo que limita su descarga directa al medio o su tratamiento convencional. Las plantas Kraft suelen recurrir a su concentración mediante evaporadores y posterior incineración en calderas de recuperación, proceso que permite recuperar energía y los reactivos químicos, como el Na₂S y el NaOH. Sin embargo, esta estrategia también genera emisiones contaminantes como óxidos de azufre y emisiones de COV (compuestos orgánicos volátiles), además de implicar elevados costos energéticos y de mantenimiento de los sistemas de recuperación y limitar la productividad de la papelera [11].

Por ello, en los últimos años ha crecido el interés por la recuperación de componentes valiosos del licor negro, con el fin de mejorar la sostenibilidad económica y ambiental del sector, diversificar el aprovechamiento de la biomasa y reducir la dependencia de productos fósiles. Entre los distintos componentes del licor negro, la lignina Kraft destaca por su alto contenido en carbono y su estructura aromática [5], lo que la convierte en una materia prima prometedora para la producción de materiales avanzados, adhesivos, resinas, biocombustibles, etc. [6]. Además, la separación de la lignina Kraft del licor negro es sencilla; se lleva a cabo mediante acidificación controlada, que reduce su solubilidad y permite su precipitación. Este proceso, conocido a nivel industrial como *LignoBoost* o *LignoForce*, permite obtener lignina con propiedades adecuadas para aplicaciones de alto valor añadido [7], [8], [12].

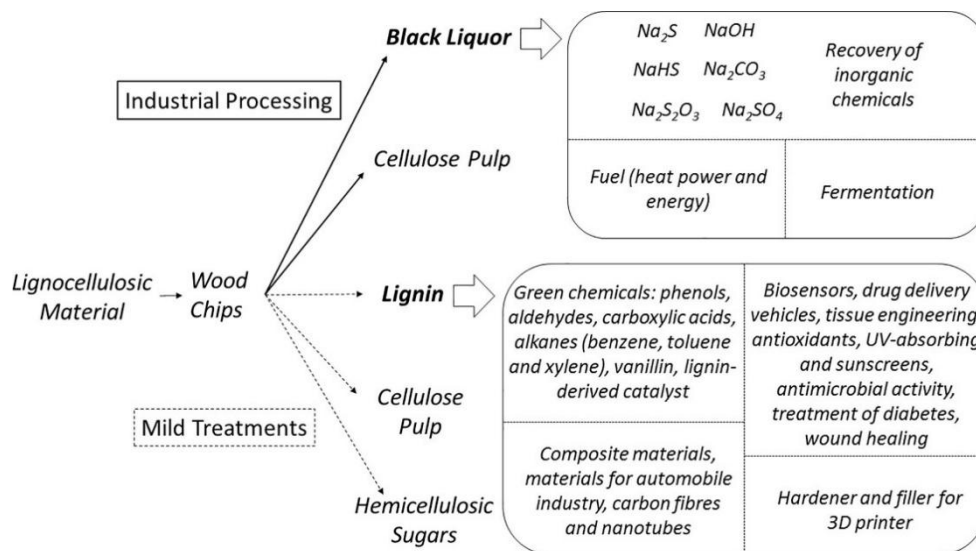


Figura 2: Potenciales usos y valoración de productos obtenidos a partir de tratamientos alcalinos industriales. [5]

2.2 Activación de la lignina

La activación de la lignina consiste en una serie de transformaciones químicas orientadas a incrementar su reactividad y funcionalidad, permitiendo su uso en aplicaciones de mayor valor añadido [8]. Debido a su estructura aromática compleja y su baja solubilidad en agua, la lignina cruda presenta limitaciones para interactuar con otros compuestos. Por ello, se recurre a procesos de activación que permitan incrementar la cantidad de grupos funcionales (como carboxilos y fenoles libres), mejorar su solubilidad y reducir su peso molecular. En este contexto, diversas estrategias han sido estudiadas para modificar estructuralmente la lignina Kraft con el fin de adaptarla a usos específicos.

Entre los distintos métodos de activación, la oxidación húmeda y la hidrólisis hidrotérmica destacan como las más prometedoras para la valorización de lignina [8]. La hidrólisis se orienta principalmente a la ruptura de enlaces estructurales para obtener fracciones de menor peso molecular, lo que mejora la solubilidad del material y facilita su transformación posterior. Sin embargo, este proceso suele generar productos con menor densidad de grupos funcionales específicos. En cambio, la oxidación húmeda, además de reducir parcialmente la estructura de la lignina, permite la incorporación directa de grupos carboxílicos y fenólicos, lo que resulta especialmente útil en aplicaciones que requieren interacciones químicas [8], [9], como la complejación de metales. Este proceso consiste en tratar la lignina en medio acuoso bajo condiciones moderadas de temperatura (120–250 °C) y presión (5–90 bar), en presencia de un agente oxidante como el oxígeno molecular. Frecuentemente se emplea una base fuerte, como KOH, para favorecer las reacciones de apertura de anillos aromáticos. Comparada con otras estrategias, la oxidación húmeda también presenta mejor perfil ambiental [11]. No requiere disolventes tóxicos ni reactivos metálicos y es compatible con residuos industriales líquidos como el licor negro.

El mecanismo general de oxidación húmeda aplicado a la lignina Kraft implica una primera etapa de ruptura de enlaces β -O-4 y C-C, lo que conduce a una reducción del peso molecular y al incremento de grupos ácidos libres [5], [13]. Posteriormente, se produce una oxidación parcial que evita la mineralización completa, preservando así una fracción polimérica funcionalizada que puede ser utilizada como base para aplicaciones agronómicas o medioambientales, además de una mezcla de moléculas de pequeño tamaño, principalmente ácidos orgánicos y sustancias fúlvicas, como subproductos de la oxidación.

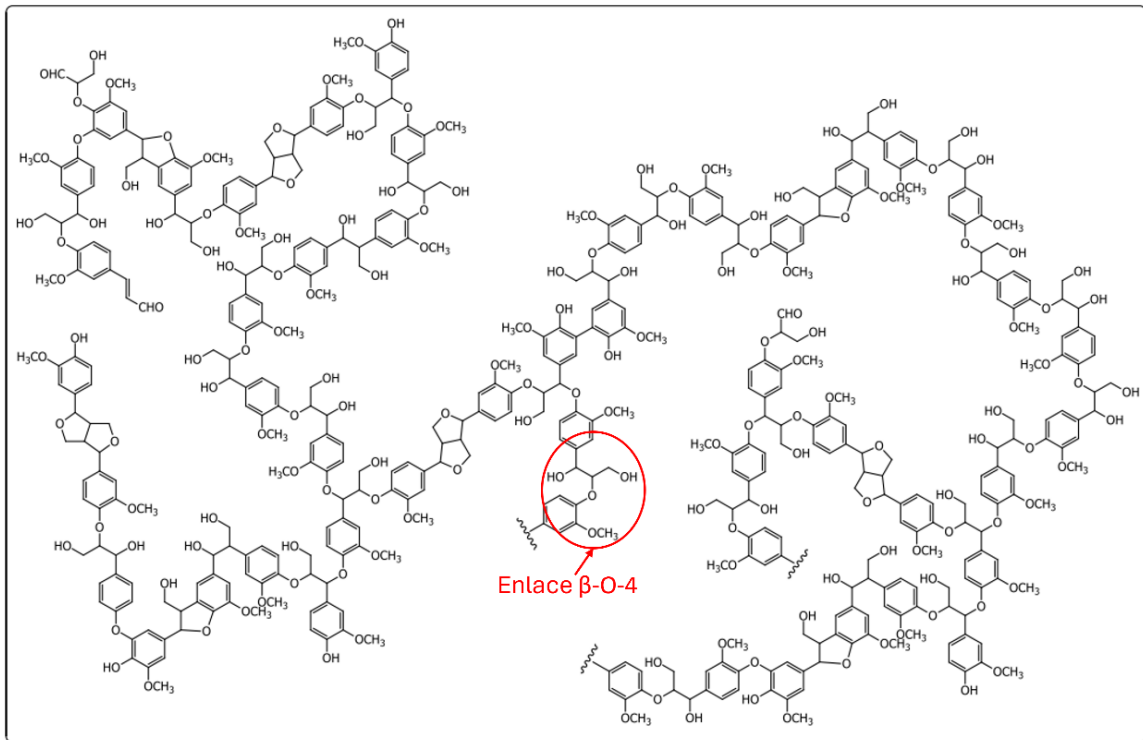


Figura 3: Modelo estructural de la lignina de madera aserrada. Señalado en rojo un enlace β-O-4. [14]

2.3 Hierro en plantas

Los micronutrientes metálicos como el hierro, zinc, manganeso y cobre son esenciales para funciones clave del metabolismo vegetal, como la fotosíntesis, la respiración y la síntesis de fitohormonas, actuando principalmente como cofactores enzimáticos y catalizadores redox [2]. Aunque su requerimiento es bajo, su deficiencia puede limitar gravemente el desarrollo de los cultivos, especialmente en suelos alcalinos donde su biodisponibilidad es reducida debido a la formación de compuestos insolubles [3], [15].

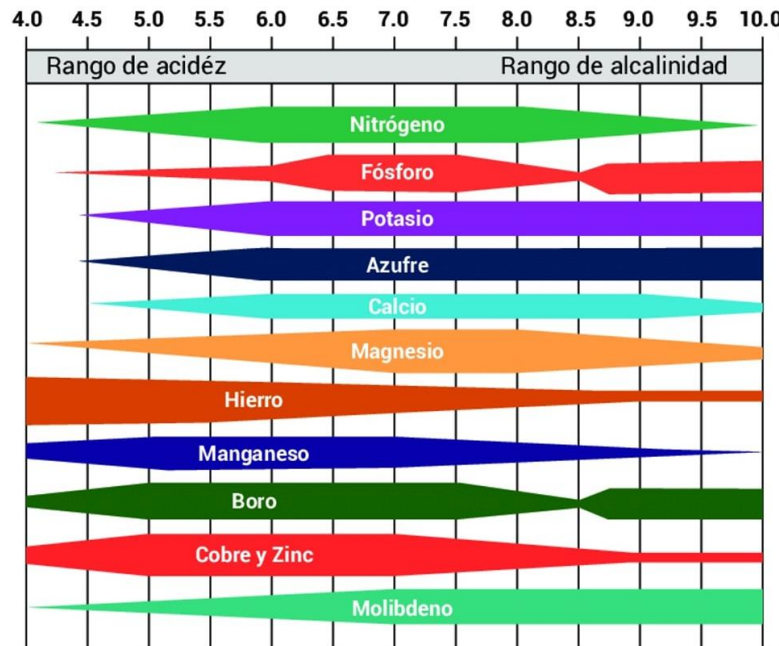


Figura 4: Disponibilidad de nutrientes según el pH del suelo. [16]

En este contexto, la disponibilidad del hierro representa uno de los mayores desafíos en fertilización. En medios acuosos sin compuestos orgánicos, el hierro presenta una baja estabilidad, especialmente en su forma férrica. A pH ácidos, el hierro se encuentra preferentemente como Fe^{2+} , una especie más soluble y estable en condiciones reductoras. Sin embargo, en presencia de oxígeno y conforme aumenta el pH del medio, el Fe^{2+} se oxida fácilmente a Fe^{3+} [17]. Esta forma férrica, poco soluble, tiende a formar complejos hidroxilados e incluso a precipitar como $Fe(OH)_3$ a partir de pH neutro (6–7), reduciendo significativamente su disponibilidad para las plantas, especialmente en suelos calcáreos o alcalinos.

Esto ha impulsado el desarrollo de agentes quelantes que favorezcan su absorción [3], [4], [18], manteniéndolo en solución. Si bien existen quelatos sintéticos (EDTA, DTPA y EDDHA) para este fin que son eficaces en amplios rangos de pH, su persistencia ambiental y escasa biodegradabilidad han generado preocupación [2]. Como alternativa, se han propuesto agentes complejantes naturales como sustancias húmicas, lignosulfonatos o ligninas modificadas, como soluciones más sostenibles sin comprometer la eficiencia agronómica [13], [19]. En el caso del hierro, cuya deficiencia es especialmente común en suelos básicos, compuestos como lignosulfatos han demostrado formar complejos estables y eficaces [20], promoviendo además beneficios adicionales como la estimulación del crecimiento radicular y la mejora en la resistencia al estrés biótico y abiótico [21], [13]. Por ello, profundizar en la evaluación de esta capacidad complejante en condiciones variables de pH resulta fundamental para su aplicación práctica en fertilización.

3 Material y métodos

3.1 Materiales

La lignina Kraft usada (Tabla 1) proviene de madera de *Eucalyptus spp.* y fue proporcionada por la compañía papelera *ENCE Energía y Celulosa S.A.*, localizada en Navia (Asturias, España). Para conservar sus características se almacenó a 4 °C hasta su uso.

Tabla 1: Caracterización de la lignina Kraft bruta y el efluente oxidado.

	Lignina Kraft bruta	Efluente oxidado
Inertes (%)	2,23	11,40
pH	13,23	4,57
Número de color	135	104
COT (g/L)	30,84	17,06
SUVA (cm ⁻¹ ·L/mg)	0,003	0,005

3.2 Oxidación de la lignina Kraft

El tratamiento de oxidación húmeda se llevó a cabo en un reactor semicontinuo de 1 L de acero inoxidable 316 (*Parr Instrument Co.*, Moline, IL). El equipo también estaba provisto de controladores e indicadores de temperatura (170 °C) y presión (70 bar), sistemas de muestreo y una manta de calentamiento. Además, la atmósfera oxidante para la oxidación parcial húmeda se proporcionó mediante una botella de O₂ comprimido. El flujo de gas se saturó previamente con agua utilizando un humidificador de acero inoxidable de 2 L ubicado antes del reactor. Para garantizar la seguridad, tanto el reactor como el humidificador se cargaron aproximadamente al 70 % de su capacidad y se instalaron discos de ruptura para evitar sobrepresiones. La velocidad del agitador y el caudal de gas, que se fijaron en 80 rpm y 1800 mL/min, respectivamente, se mantuvieron constantes durante todo el tiempo de experimentación. Se emplea una disolución del 5 % p/p de lignina Kraft y KOH (30 % del peso de lignina; denominada a partir de ahora como *Lignina Bruta* o "LB"). Las condiciones seleccionadas para llevar a cabo la oxidación húmeda de la LB se basaron en estudios previos realizados por el grupo de investigación, en los que se evaluaron distintas combinaciones de parámetros operativos. A partir de dichos trabajos, se determinó que esta configuración permitía obtener una lignina funcionalizada de forma eficiente, evitando al mismo tiempo problemas técnicos recurrentes como la formación de tortas, obstrucciones en el reactor o dificultades de agitación.

Un esquema del montaje experimental se muestra en la Figura 5:

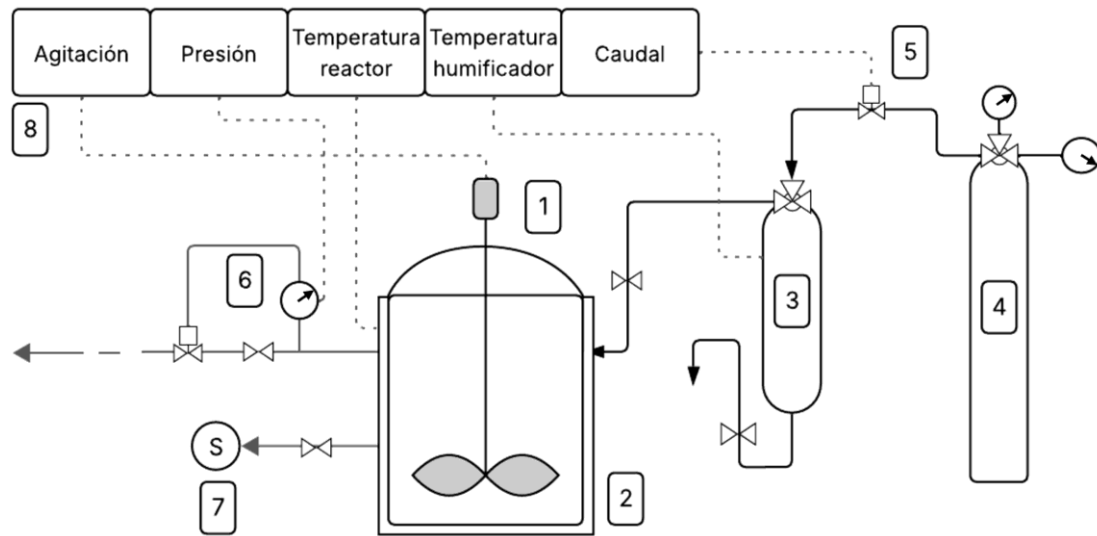


Figura 5: Esquema del montaje experimental. (1) reactor, (2) manta calefactora, (3) humidificador, (4) tanque de gas, (5) electroválvula, (6) válvula de presión, (7) sistema de muestreo y (8) unidad de control del reactor.

Una parte del efluente de la oxidación húmeda de la lignina Kraft (denominado a partir de ahora como *Efluente de Oxidación* o “EO” y cuya caracterización se puede observar en la Tabla 1) se preservó para analizar su capacidad complejante del hierro. La otra parte se sometió a una precipitación ácida (Figura 6) para separar la lignina activada (denominada a partir de ahora *Lignina Activada* o “LA”) del resto de compuestos de degradación de la LB correspondiente a la fase deslignificada (denominada a partir de ahora como *Fase Deslignificada* o “FD”). Para ello, se ajustó el pH de EO a un valor entre 3 y 3,5 (H_2SO_4 25% en peso) y la mezcla se centrifugó (10000 g, 20 minutos), separando así la *Lignina Activada* (LA) como precipitado [12], [22]. La fracción líquida restante, es decir, la *Fase Deslignificada* (FD), compuesta de pequeños productos derivados de la degradación de la LB, se preservó también para evaluar su capacidad complejante del hierro.

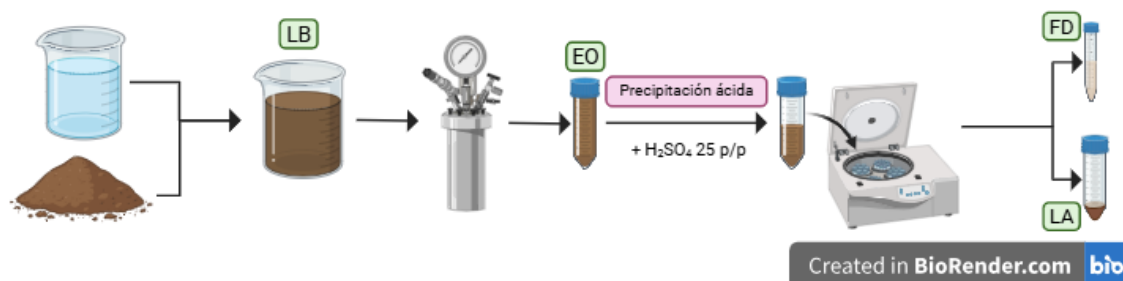


Figura 6: Procedimiento realizado para obtener las diferentes matrices estudiadas. LB: Lignina Kraft bruta. EO: Efluente de la oxidación húmeda de la lignina Kraft formado por la lignina activada y la fase líquida deslignificada. FD: Fase deslignificada. LA: Lignina activada.

3.3 Ensayos de complejación de hierro

Para estudiar la complejación de hierro de las distintas muestras, se siguieron protocolos estándar [18], [19]. Para ello, se prepararon tres stocks (Figura 7).

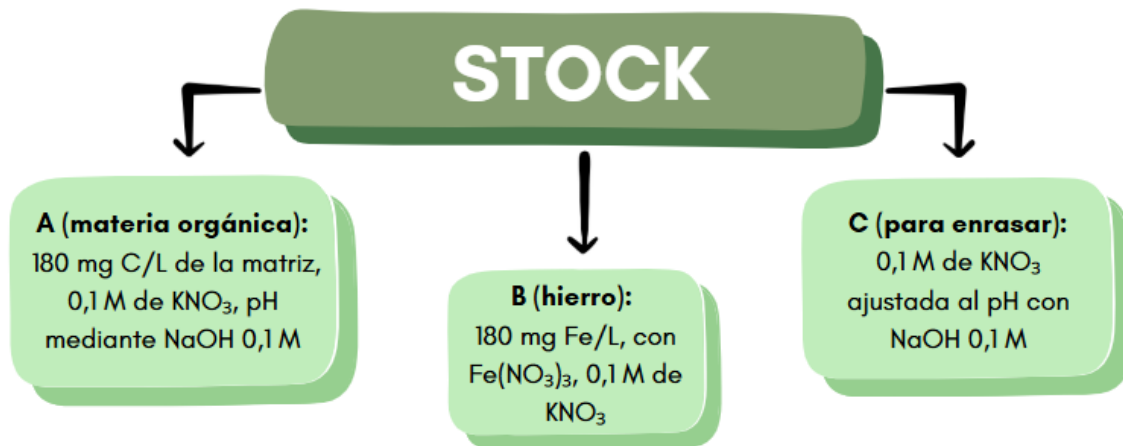


Figura 7: Esquema sobre la composición de los diferentes stocks.

El stock A se corresponde con una disolución de la correspondiente muestra orgánica a la que se le quiere evaluar su capacidad complejante. Su concentración es de 180 mg C/L con una fuerza iónica de 0,1 M (0,1 M KNO₃) y pH ajustado a 6, 7, 8, o 9 con NaOH (0,1 M). Se prepararon dos variantes del Stock A para cada pH estudiado (Figura 6). La primera se corresponde con EO, con el fin de analizar el efecto de la activación. El segundo stock se preparó con FD, cuyo análisis permite evaluar si los subproductos de la oxidación de la LB presentan también capacidad de complejación de hierro o si la actividad reside preferentemente en la fracción lignínica estructural. [8]

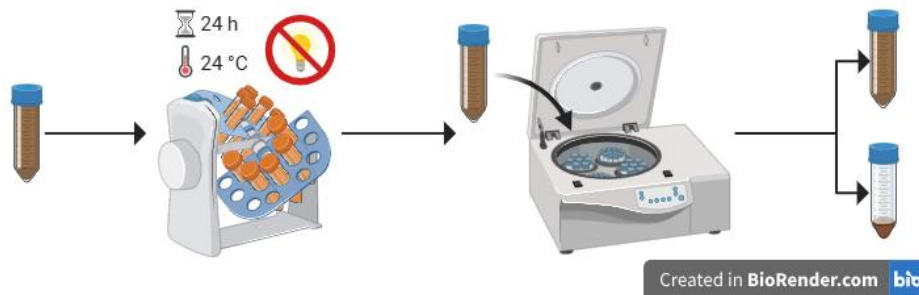
Una vez preparados todos los stocks y ajustados al correspondiente pH, se mezclaron en las proporciones reflejadas en la Tabla 2, con el fin de obtener mezclas finales con ratios Fe: materia orgánica entre 0 y 1 al pH correspondiente. Tras la adición del stock B (fuente de hierro), se verificó el pH de cada muestra, observándose que éste variaba significativamente en función del ratio y requería ser reajustado cuidadosamente con NaOH 0,1 M hasta alcanzar el valor deseado. Se estudiaron valores de pH entre 6 y 9 porque son valores típicos de suelos alcalinos y se sabe que este parámetro influye directamente en la complejación entre la materia orgánica y el hierro, afectando tanto a la solubilidad del complejo como a su estabilidad [18], [20].

Tabla 2: Composición de las diferentes muestras estudiadas. *A la concentración de metal que contiene cada stock se denominará a partir de ahora como "Real".

Stock A (mL)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Stock B (mL)	0	1,25	3,125	5	6,875	8,75	10,625	12,5	18,75	25
Stock C (mL)	25	23,75	21,875	20	18,125	16,25	14,375	12,5	6,25	0
Metal (mg Fe/L)	0	4,5	11,25	18	24,75	31,5	38,25	45	67,5	90
Ratio (g Fe/g C)	0	0,05	0,125	0,2	0,275	0,35	0,425	0,5	0,75	1

Finalizado el tiempo de incubación (24 h a 180 rpm), las muestras fueron centrifugadas (10000 g, 30 minutos) para separar las dos fases. El sobrenadante se analizó para determinar el carbono orgánico total disuelto y el hierro libre y, por diferencia, la posible precipitación de materia orgánica y hierro. La Figura 8 resume el procedimiento de complejación.

Para separar los complejos solubles de hierro de la fracción libre de hierro en disolución, algunas de las muestras finales fueron sometidas a ultrafiltración con membranas de corte molecular de 3 kDa, empleando centrifugación a 4000 g durante 45 minutos [18], [19]. El permeado obtenido fue nuevamente analizado para cuantificar hierro libre.

Figura 8: Protocolo de complejación del Fe³⁺.

3.4 Métodos analíticos

El pH se determinó a temperatura ambiente utilizando un pH-metro *Basic 20* (Crison).

Las diferentes fracciones de carbono soluble (carbono total, inorgánico y orgánico, COT) se midieron utilizando un analizador *TOC-V CSH* (Shimadzu).

El contenido de hierro en la solución se determinó utilizando un espectrómetro (Agilent 7900 ICP-MS) con celda de colisión/reacción, empleando escandio (⁴⁵Sc) como patrón interno.

La cuantificación de hierro libre en las muestras se llevó a cabo mediante un método espectrofotométrico basado en la formación del complejo Fe³⁺-tiocianato [23], [24]. La absorbancia se midió a 480 nm utilizando un espectrofotómetro (*Thermo electron corporation*). Para tratar de cuantificar el hierro total (Fe²⁺ + Fe³⁺), se añadió previamente una disolución saturada de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) y se repitió el protocolo anterior. Dado que la lignina

y otros compuestos orgánicos presentes (especialmente aquellos con estructuras aromáticas) también absorben a longitudes de onda similares a la utilizada, se realizó una corrección de fondo para todas las mediciones. Se incluye el calibrado en el ANEXO I: Método del tiocianato.

El número de color es una medida utilizada para cuantificar la intensidad de color de una disolución, calculado como:

Ecuación 1: Cálculo para el número de color. [11]

$$N. C. = \frac{(ABS_{436}^2 + ABS_{525}^2 + ABS_{620}^2)}{(ABS_{436} + ABS_{525} + ABS_{620})}$$

La Absorbancia Específica a 254 nm (SUVA) es un parámetro que se usa para evaluar la fracción aromática de la materia orgánica disuelta en el agua. Se calcula dividiendo la absorbancia a 254 nm entre la concentración de COT. [25]

4 Resultados y discusión

4.1 Efluente oxidado (EO)

Se comenzó analizando la capacidad de complejación del hierro por el efluente oxidado (EO), proveniente de LB tras ser sometida a un proceso de oxidación húmeda a 170 °C y 70 bar por 120 minutos.

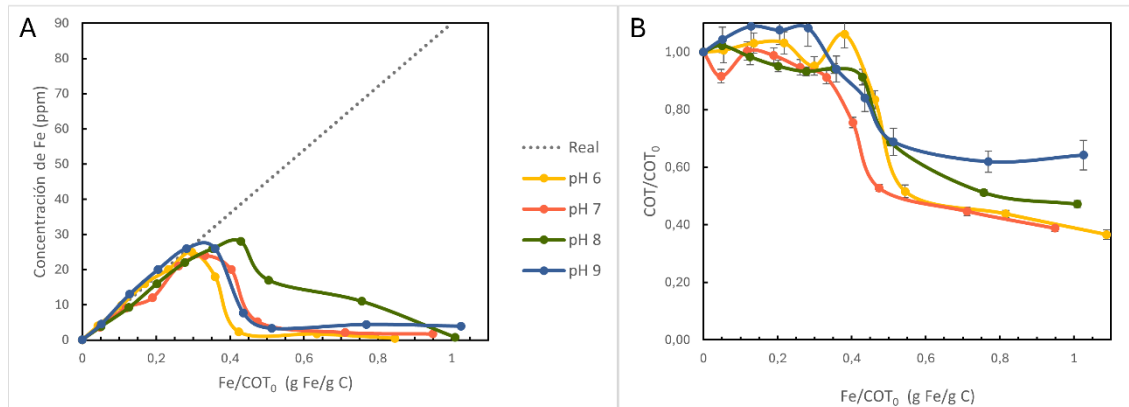


Figura 9: Evolución del hierro (A) y del COT (B) disueltos para los distintos ratios Fe/COT y valores de pH estudiados, usando como matriz EO. * El error de las medidas del hierro es siempre <0,5 ppm.

Como se puede observar (Figura 9.A), el comportamiento del hierro total en disolución muestra una evolución característica en función del ratio Fe:C orgánico empleado, con leves diferencias para los valores de pH estudiados. Así, el hierro permanece casi completamente en disolución cuando se parte de ratios iniciales Fe/COT bajos, pero se observa una fuerte insolubilización de éste a medida que se emplean relaciones iniciales más concentradas en hierro. Esta primera etapa, en la que la mayor parte del hierro añadido permanece en disolución, sugiere la existencia de mecanismos activos de complejación del hierro con grupos funcionales presentes en EO, que protegen al primero de formar hidróxidos y precipitar. De esta manera, el hierro permanecería biodisponible para las plantas en terrenos alcalinos. En este sentido, *Merdy et al* [26] demostraron por espectrofotometría que Fe^{3+} forma mono-complejos muy estables con sitios fenolato y carboxilato de compuestos modelo de lignina en medios acuosos, confirmando una fuerte coordinación que garantiza la solubilidad del hierro. Esta fase inicial de completa solubilización del hierro se mantiene hasta un ratio Fe/COT inicial máximo, que varía entre 0,4 y 0,5 mg Fe/mg COT dependiendo del pH empleado. Este punto marcaría también la capacidad de complejación máxima de EO, es decir, la máxima masa de hierro que puede ser mantenida en disolución por unidad de masa de EO.

Más allá de este punto óptimo, la concentración de hierro que se mantiene en solución comienza a disminuir bruscamente, lo que sugiere que el sistema ha alcanzado su máximo de solubilidad y que un aumento del hierro añadido tiene un efecto negativo en su biodisponibilidad. Se pueden proponer dos posibles mecanismos no excluyentes entre sí para explicar este comportamiento. Por un lado, la formación de complejos demasiado grandes e insolubles, en los que el hierro llegaría a actuar como agente coagulante. Por otro lado, la aparición de especies insolubles como $\text{Fe}(\text{OH})_3$. En ambos casos, se produciría un arrastre del hierro fuera de la fase soluble, bien por la precipitación directa de hidróxidos, bien por el colapso de complejos organometálicos de alto peso molecular.

Estos mecanismos se pueden contrastar con los resultados obtenidos relativos a la cantidad de EO que permanece en disolución para los distintos ratios iniciales Fe/COT y valores de pH ensayados (Figura 9.B). Así se encontró que todo el carbono orgánico se mantiene disuelto a medida que se incrementa la relación Fe:C, lo que indica que la solubilidad de EO no se ve afectada por la presencia de concentraciones moderadas de hierro ligado. Sin embargo, a partir de ratios Fe/COT entre 0,4 y 0,5, coincidentes con la reducción del hierro disuelto previamente discutida, se observa también una disminución marcada en la cantidad de EO que permanece en disolución. Por lo tanto, el acoplamiento de ambos comportamientos sugiere que, al menos, una fracción de EO está participando activamente en la formación de complejos organometálicos que, al alcanzar cierto tamaño o estructura, pierden solubilidad y precipita. Es interesante también señalar que, tras esta fase inicial de caída en la solubilidad de EO, el COT disuelto sí tiende a estabilizarse en valores en torno a 50 % del inicial, mientras que el porcentaje de hierro en disolución sigue disminuyendo. Este COT disuelto remanente está probablemente asociado a la formación de productos de pequeño tamaño durante la oxidación térmica de LB, tales como ácidos orgánicos o compuestos fúlvicos [11]. Por lo tanto, se concluye que la diferencia en la evolución entre el hierro y el COT sugiere que el mecanismo dominante de precipitación a relaciones elevadas de Fe/COT termina siendo la formación de especies inorgánicas [27].

Centrando ahora la discusión en el efecto del pH sobre la presencia de hierro y COT en la fase líquida, se deduce de la Figura 9.A que la biodisponibilidad de hierro se mejora en medios ligeramente alcalinos para todas los ratios Fe/COT ensayados, alcanzando un valor óptimo a pH 8. En estas condiciones, se mantiene la mayor cantidad de hierro en disolución, con un máximo de 28 mg Fe/L para un ratio inicial de 0,425 mg Fe/mg COT, lo que representa una biodisponibilidad del 73% respecto al hierro inicialmente añadido. Esta máxima solubilidad del hierro a valores de pH en torno a 8 parece estar asociada con una desprotonación óptima de los

sitios ligados de EO, sin todavía promover en exceso la formación de hidróxidos de hierro. Por un lado, los grupos carboxílicos ($-\text{COOH}$, $\text{pK}_a \approx 4-5$) ya están completamente desprotonados por encima de pH 6, y una fracción creciente de los fenólicos ($-\text{OH}$, $\text{pK}_a \approx 7,4-11,3$) comienza a desprotonarse alrededor de pH 8, lo que multiplica los sitios disponibles para coordinar iones hierro como fenolatos y carboxilatos en EO [12]. Por otro lado, a valores de pH superiores a 8, la hidrólisis de Fe^{3+} (formación de $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$) conduce al inicio de la precipitación, explicando así la caída de solubilidad observada más allá de este punto [26]. Como consecuencia de la captación de iones OH^- por parte del Fe^{3+} durante la formación de complejos, debería observarse una disminución del pH con respecto al valor inicial del medio. Efectivamente, este descenso de pH solo se registró en los ensayos de complejación iniciados a pH 9, lo que confirma que, en estas condiciones, el hierro consume hidroxilos y desplaza el equilibrio ácido-base, tal y como se ha descrito anteriormente.

4.2 Fase deslignificada (FD)

La Figura 10 muestra los resultados relativos a las solubilidades de hierro y de materia orgánica para los distintos ratios Fe/COT y pH estudiados previamente, pero empleando ahora la fase del FD como complejante.

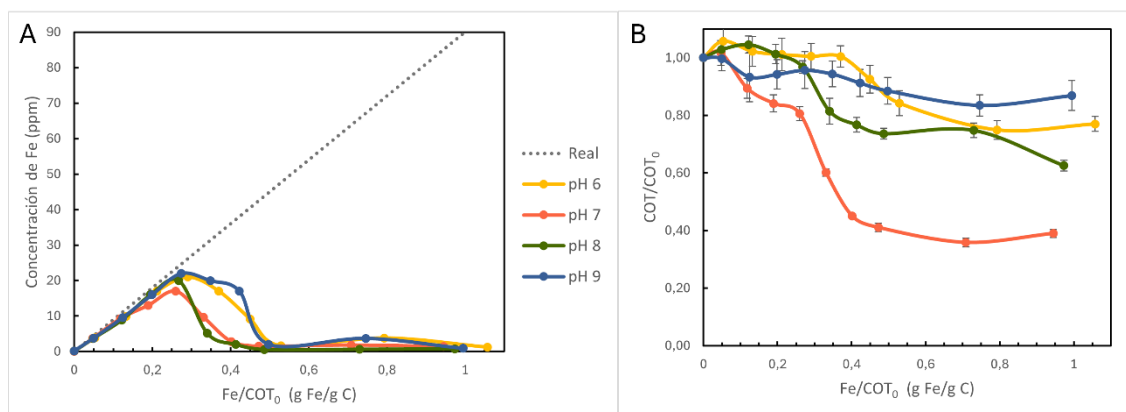


Figura 10: Evolución del hierro (A) y del COT (B) disueltos para los distintos ratios Fe/COT y valores de pH estudiados, usando como matriz FD. * El error de las medidas del hierro es siempre <0,5 ppm.

Como se observa claramente, la evolución del hierro total en solución muestra una tendencia similar a la observada con la EO (Figura 9.A), pero con una menor estabilidad del hierro. Así, a medida que aumenta el ratio Fe:C, la concentración de hierro disuelto también se incrementa inicialmente, para luego decrecer de forma acusada. Sin embargo, el ratio Fe/COT al que se alcanza la máxima concentración de hierro disuelto se sitúa entre 0,2 y 0,3 g Fe/g C, dependiendo del pH. Cabe recordar que, para EO, este ratio era entre 0,4 y 0,5 g Fe/g C. Esto sugiere que la arquitectura polimérica y la densidad de grupos funcionales en la lignina estructural

desempeñan un papel clave en la formación de complejos estables con el hierro. No obstante, es destacable que FD sí logra mantener parte del hierro en solución en los primeros tramos del ensayo, especialmente en condiciones ligeramente ácidas o neutras. Este comportamiento resulta coherente con la composición de la FD; al estar formada por compuestos de bajo peso molecular y fragmentos oxidados no polimerizados, posee menos sitios capaces de estabilizar el hierro en solución. Así, una vez se supera la capacidad de interacción de estos compuestos, el hierro añadido precipita rápidamente. Diversos estudios, como el de *Pérez et al.* [28], han destacado la relevancia de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular como ligandos efectivos para el hierro. Entre ellos, destacan el ácido cítrico, que puede formar complejos mono- o tridentados dependiendo del estado de oxidación del hierro y del pH, así como otros como el ácido fumárico, glucónico, malato, oxálico o láctico. Su presencia en la FD del sistema estudiado puede justificar, al menos en parte, la capacidad temprana de retención de hierro observada en ausencia de LA. Además, los ácidos fúlvicos [1] poseen una capacidad intrínseca para complejar metales debido a su abundancia de grupos funcionales oxigenados. Sin embargo, su eficacia para aumentar la disponibilidad de hierro en el suelo puede variar significativamente y, en ciertos escenarios, los complejos de Fe-ácidos fúlvicos pueden mostrar baja solubilidad o estabilidad.

Con respecto a la evolución del COT en la fase líquida (Figura 10.B) para FD, se observa una mayor solubilidad en comparación con EO, independientemente del ratio y del valor de pH ensayado. En general, el COT disuelto se mantiene elevado en la mayoría de las condiciones experimentales, lo que indica una notable estabilidad de esta FD. Este comportamiento sugiere que, aunque los compuestos presentes tienen cierta capacidad para interactuar con el hierro, no forman complejos de gran tamaño ni precipitados con la misma facilidad que el EO. Además, el hecho de que el COT se mantenga próximo a su valor inicial incluso cuando disminuye la concentración de hierro, sugiere que el hierro precipita sin arrastrar de forma significativa la materia orgánica soluble, a diferencia de lo que se observa con EO. Solo en los ensayos realizados a pH 7 se detectó una disminución más marcada del COT, un comportamiento anómalo que se considera posiblemente atribuible a algún error experimental. No obstante, debido a las limitaciones de tiempo en la entrega de este trabajo, queda pendiente la repetición de este experimento para confirmar dicha tendencia.

4.3 Análisis del reparto de hierro entre las fracciones

Con el objetivo de profundizar en el comportamiento del hierro dentro del sistema y comprender mejor cómo se distribuye éste entre las diferentes fracciones orgánicas, se llevó a cabo un

análisis adicional a partir de los datos experimentales. Para ello, se calculó el aporte relativo de FD y de LA al total de hierro soluble en cada muestra del EO.

El procedimiento consistió en determinar el ratio entre el COT de la FD y el COT total del EO, lo que permitió estimar qué fracción del carbono presente correspondía a FD y cuál a LA. A continuación, se multiplicó este ratio por la concentración de Fe medida en la FD, normalizada por su propio COT, y a su vez por el COT del EO, obteniendo así el contenido de hierro en el reactor atribuible a la fase designificada que contiene (FD2). El hierro correspondiente a la LA se calculó de forma indirecta, restando del hierro total medido en el EO la cantidad atribuida a la FD2. Se expone a continuación un resumen de las operaciones realizadas:

Ecuación 2: Operaciones realizadas para el análisis del reparto de hierro del EO entre las fracciones FD2 y LA.

$$\frac{Fe_{FD}}{COT_{FD}} \cdot \frac{COT_{FD}}{COT_{EO}} \cdot COT_{EO} = Fe_{FD2}$$

$$Fe_{EO} - Fe_{FD2} = Fe_{LA}$$

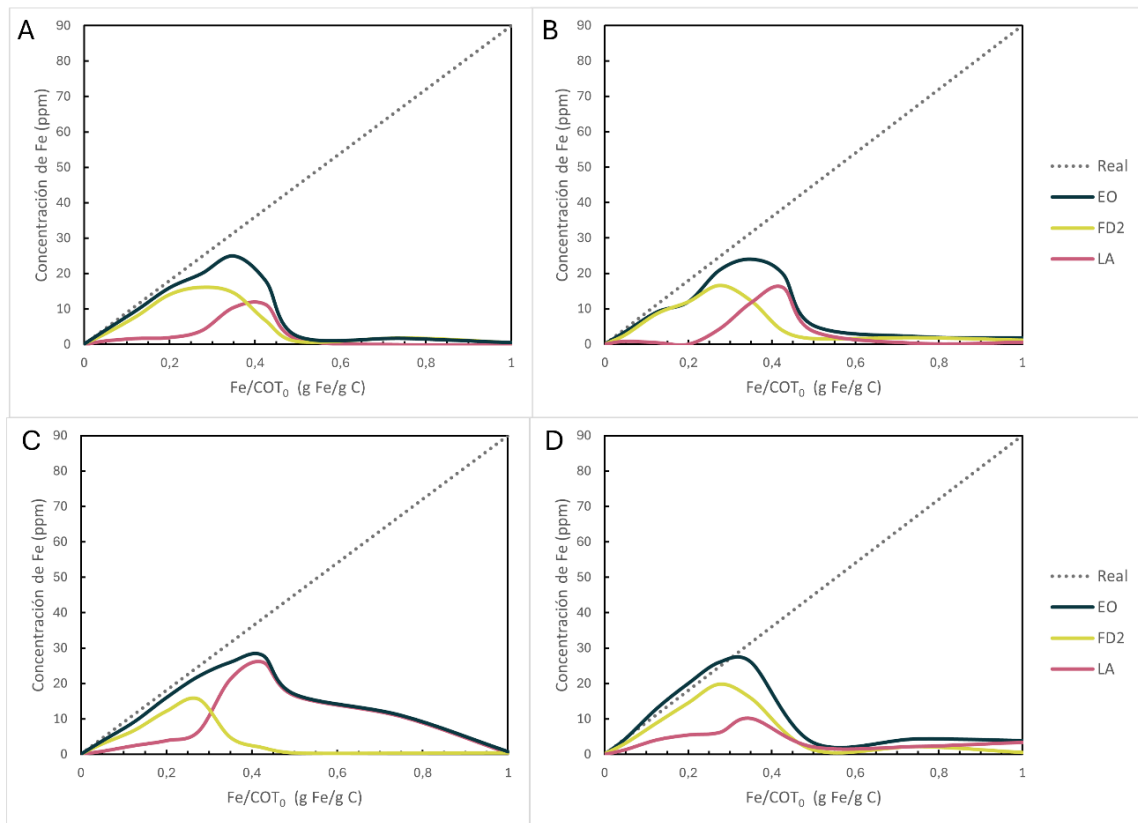


Figura 11: Evolución del hierro disuelto para los distintos ratios Fe/COT para EO y su distribución entre LA y FD, para los distintos valores de pH estudiados: A. pH 6 B. pH 7 C. pH 8 D. pH 9.

Los resultados se presentan en la Figura 11 (A-D). De este análisis se desprende un patrón común en todas las condiciones: en las primeras etapas del incremento del ratio Fe/COT₀ empleado EO, la retención de hierro se debe principalmente a las especies presentes en FD, que muestra una

capacidad temprana de complejación. Sin embargo, una vez que esta fracción alcanza su saturación, se observa cómo es la LA quien comienza a asumir el papel principal en la retención de hierro, contribuyendo cada vez más al contenido total de Fe en solución. Además, se aprecia una tendencia relacionada con el pH empleado para la complejación. En la condición más ácida, pH 6, la FD2 es la principal responsable de la retención de hierro, mientras que la contribución de la LA es limitada en todo el intervalo de Fe/COT estudiado. Esto sugiere que, a pH bajos, la LA tiene una menor capacidad de coordinación, posiblemente por una ionización insuficiente de sus grupos funcionales, como se comentó anteriormente. En cambio, a pH más alcalinos, el comportamiento varía y la contribución de la LA a la solubilización del hierro se hace más acusada. Así, a los pH alcalinos intermedios, sobre todo pH 8, se observa que, una vez saturada la FD2, la LA pasa a ser la fracción dominante en la retención de hierro, alcanzando valores superiores al resto de condiciones. Esto indica una eficiencia óptima de la LA a este pH, donde sus grupos ácidos están en gran parte ionizados, favoreciendo así la formación de complejos con Fe^{3+} . Por el contrario, en el pH 9, aunque se mantiene la contribución inicial de la FD2, LA apenas incrementa su participación, lo que apunta que, bajo estas condiciones más alcalinas, podrían producirse efectos de desestabilización que limitan su eficacia.

Este comportamiento escalonado refuerza la idea de que ambas fracciones actúan de forma complementaria dentro del sistema. La FD2, rica en compuestos solubles de bajo peso molecular, actúa como primer ligando rápido de hierro, mientras que la LA, con su estructura más compleja y densa en sitios de coordinación, entra en acción posteriormente, reteniendo el hierro que la fracción soluble ya no puede estabilizar. Este análisis permite comprender mejor la evolución del sistema y el papel que desempeña cada componente en la formación y mantenimiento de los complejos hierro-orgánico.

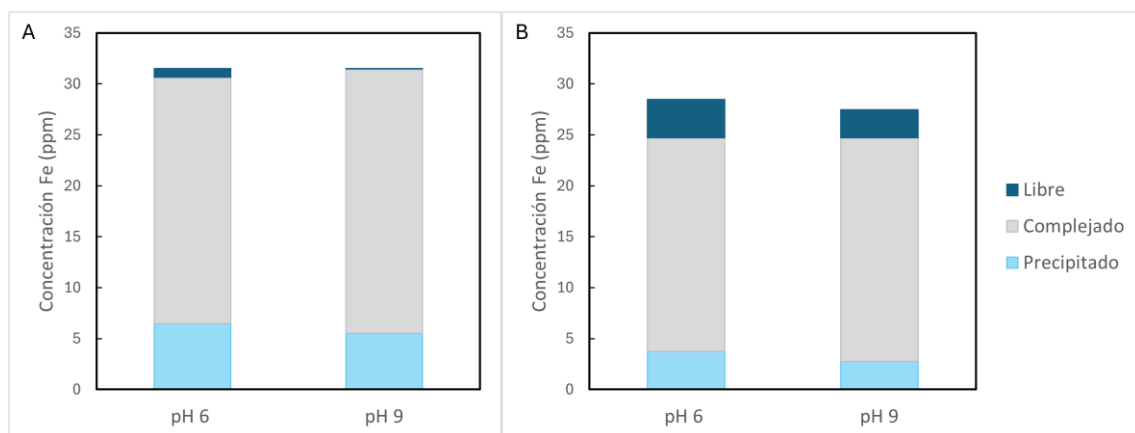


Figura 12: Distribución del hierro en las muestras ultrafiltradas del EO (A) y de la FD (B).

Con el fin de seguir profundizando en los mecanismos involucrados en la complejación del hierro por los distintos componentes del efluente de oxidación (EO), se llevaron a cabo pruebas de ultrafiltración de las fases líquidas de EO y FD tras la complejación con el fin de obtener información adicional sobre el tamaño de los complejos presentes en las disoluciones y/o la presencia de hierro libre (Figura 12). Según indica la bibliografía [1], [18], las masas moleculares de los componentes de la matriz han mostrado que el peso molecular promedio de los compuestos orgánicos más pequeños presentes (ácidos tipo fúlvicos) se sitúa en torno a un 1 kDa. Aunque lo ideal habría sido trabajar con filtros de 1 kDa, por cuestiones de disponibilidad sólo se contaba con membranas con umbral de corte de 3 kDa, lo que obligó a realizar una aproximación experimental con ciertas limitaciones, ya que los complejos más pequeños podrían atravesar la membrana. Aun así, se consideró que el análisis permitiría diferenciar, al menos aproximadamente, entre hierro libre y formas complejadas o agregadas de mayor tamaño. Además, debido al número limitado de filtros disponibles (cuatro), se seleccionaron condiciones representativas de ambas muestras (EO y FD). Se eligieron los pH extremos (6 y 9) y se trabajó con los ratios Fe/COT correspondientes al punto de máxima retención de hierro.

Los resultados mostraron que la concentración de hierro en el permeado fue muy baja en todos los casos en los que se empleó EO lo que es razonable ya que, como se comentó anteriormente, a los ratios empleados la mayor parte del hierro soluble está ligado a la LA, de gran tamaño. En el caso de los experimentos con FD, si se observa una mayor concentración de hierro en el permeado, en torno al 13 % del hierro soluble. Cabe recordar que, a diferencia de EO, en la FD ya no está presente la fracción polimérica de LA, lo que implica que los complejos formados se establecen principalmente con ácidos orgánicos y fragmentos de menor peso molecular, como ácidos fúlvicos, generados durante la oxidación. Dado que muchos de estos compuestos solubles tienen masas moleculares inferiores al umbral de corte del filtro, es posible que algunos complejos organometálicos estén pasando al permeado, lo que explicaría los resultados obtenidos. Aun así, la mayor parte del hierro quedó retenido por la membrana de 3 kDa, sugiriendo que el Fe en la FD está complejando principalmente con ácidos tipo fúlvicos, ya que son sustancias de un tamaño próximo al corte del filtro (hasta 2 kDa) [29]. En cualquier caso, serían necesarias pruebas complementarias para poder identificar los compuestos complejantes.

Lamentablemente, no fue posible analizar la evolución del COT en el permeado tras la ultrafiltración. Esto se debe a que los filtros empleados estaban fabricados con materiales recubiertos de celulosa, que interfieren directamente con la medición del carbono. La presencia

de este material liberó compuestos de carbono durante el proceso de filtración y provocó lecturas erróneas en el análisis, afectando la fiabilidad de los datos. Por tanto, se descartó esta medición para evitar interpretaciones incorrectas.

Todo lo anterior se corroboró mediante espectrofotometría, mediante el método del tiocianato para cuantificar Fe^{3+} en disolución (ANEXO I: Método del tiocianato). Como cabría esperar, los resultados confirmaron concentraciones de Fe^{3+} libre en solución muy bajas en todas las condiciones estudiadas, independientemente del pH o del ratio Fe:C empleado. Esta baja presencia de Fe^{3+} libre cuadra con los dos procesos previamente expuestos: la complejación efectiva por parte de EO y, en condiciones de exceso de hierro, la precipitación del Fe^{3+} como especies insolubles. Es interesante señalar que, al repetir el método espectrofotométrico, pero añadiendo previamente un oxidante para cuantificar hierro libre total (Fe^{2+} y Fe^{3+}), los resultados sí mostraron cantidades significativas. A priori, esto parece indicar la presencia de concentraciones de Fe^{2+} en disolución, algo que no parece razonable dada la conocida inestabilidad de esta forma a pH básico. Aunque ciertos compuestos fenólicos y fragmentos aromáticos parcialmente oxidados presentes podrían actuar como donantes de electrones, reduciendo parcialmente el Fe^{3+} a Fe^{2+} [17], [20], la explicación más factible para este comportamiento es que el agente oxidante rompe los complejos del Fe^{3+} , única especie presente. Este Fe^{3+} liberado pasaría a ser detectado por el método espectrofotométrico convencional empleado.

4.4 Punto óptimo

A modo de resumen, la Figura 13 recoge, para los distintos valores de pH y muestras orgánicas empleadas, la concentración máxima de Fe retenido en solución frente al correspondiente ratio Fe/COT al que se alcanzó. Esta visualización permite valorar no solo cuánto hierro puede mantener cada sistema, sino también cuánta materia orgánica es necesaria para lograrlo, así como la eficiencia de cada muestra como matriz complejante de hierro.

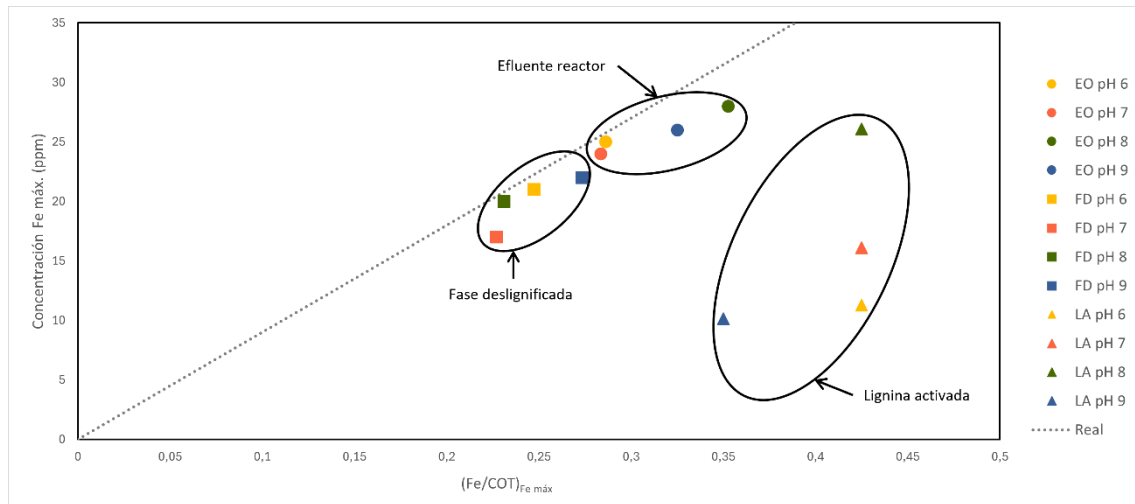


Figura 13: Máximas concentraciones de hierro en disolución y ratios Fe /COT a los que se alcanzaron para los distintos valores de pH y muestras orgánicas empleadas.

Dado que el EO representa la suma de las contribuciones de LA y FD, su comportamiento combina las propiedades de ambas. Como se comentó anteriormente, se observa que presenta los valores más altos de hierro retenido en solución, especialmente a pH 8, lo que sugiere una acción combinada entre FD y LA. Al separar las fracciones, se evidencia que la LA (triángulos) es la principal responsable del buen rendimiento del sistema en pH 8, alcanzando concentraciones similares al EO pero a ratios Fe/COT más altos. A pH más bajos, su capacidad sigue presente pero más limitada, mientras que a pH 9 se observa una ligera caída en eficacia, probablemente debido a la formación de hidróxidos de hierro. La FD (cuadrados), por su parte, muestra valores intermedios en todos los casos. Aunque no alcanza la eficiencia ni del EO ni de la LA, sí demuestra cierta capacidad complejante, atribuida a ácidos carboxílicos y fragmentos solubles generados durante la oxidación.

El efecto del pH sigue una tendencia coherente con la química de la complejación férrica: a medida que aumenta el pH, los grupos funcionales como carboxilos y fenoles se desprotonan, lo que favorece la coordinación con Fe^{3+} y mejora la capacidad de retención. No obstante, a pH demasiado alcalino (pH 9), la precipitación del hierro como $Fe(OH)_3$ y la posible agregación de las matrices orgánicas limitan la eficiencia general del sistema. El comportamiento óptimo se da generalmente en torno a pH 8, donde se observa el mayor equilibrio entre eficiencia de complejación, estabilidad coloidal y retención total de hierro, especialmente en el caso de LA.

La LA a pH 8 destaca como la condición más eficiente para la complejación de hierro, con alta retención y buena eficiencia por unidad de carbono. El EO, al combinar ambas fases, logra la mayor capacidad total de retención, lo que lo convierte en una opción sólida en términos

prácticos. A pH 6–7 la eficiencia baja, y a pH 9 puede verse afectada por la precipitación. En general, pH 8 es el punto óptimo global para las matrices estudiadas.

5 Limitaciones y mejoras a futuro

A lo largo de este trabajo se han obtenido resultados relevantes sobre la capacidad de complejación de hierro por parte de diferentes fracciones derivadas de LB. No obstante, es importante señalar algunas limitaciones metodológicas que han condicionado el alcance del estudio y que podrían abordarse en trabajos futuros para profundizar en la comprensión del sistema.

- En primer lugar, el método analítico empleado para la cuantificación total de hierro (ICP-MS) no permite diferenciar entre Fe^{2+} y Fe^{3+} , por lo que no es posible conocer el estado de oxidación del hierro. Esta información sería de gran interés, especialmente para entender los mecanismos redox asociados a las interacciones con la materia orgánica.
- Por otro lado, no se llevó a cabo la caracterización del precipitado generado tras la sobresaturación del sistema, lo que impide conocer su naturaleza química, si está compuesto por hidróxidos férricos, complejos insolubles o agregados mixtos con materia orgánica. Analizar esta fase sólida aportaría información clave sobre los límites del sistema y la evolución de sus productos no solubles.
- Tampoco se analizó la composición química de la FD, dado que esta fracción muestra cierta capacidad de complejación, especialmente en etapas iniciales, sería muy interesante en trabajos futuros caracterizar sus componentes mediante técnicas como HPLC. Esto permitiría identificar de forma precisa qué ácidos orgánicos, compuestos fenólicos u otras sustancias solubles están contribuyendo a la retención de hierro. Conocer su perfil molecular ayudaría a explicar mejor los mecanismos implicados y podría ayudar a optimizar esta fracción.
- Asimismo, no se ha evaluado la eficacia del sistema en condiciones reales, como suelos o soluciones nutritivas, lo que limita su aplicabilidad directa. La validación en sistemas reales sería esencial para valorar su comportamiento frente a otros componentes del medio, procesos de adsorción y movilidad real del hierro.
- En cuanto a los ensayos de ultrafiltración, una mejora clara sería el uso de membranas con menor umbral de corte (1 kDa), lo que permitiría retener y analizar complejos más pequeños, ajustándose mejor al rango de tamaños reportado para sustancias húmicas. Igualmente, sería importante que los filtros empleados no estuvieran fabricados con celulosa, ya que esto impidió la determinación fiable del carbono orgánico total (COT) en el permeado, limitando el análisis completo del comportamiento de la materia orgánica durante la separación.

- Finalmente, una mejora clave para estudios futuros sería incluir cationes competidores como Ca^{2+} , que están presentes en concentraciones elevadas en la mayoría de los suelos agrícolas. El calcio compite directamente con el hierro por los sitios de unión en la materia orgánica, por lo que su presencia puede influir notablemente en la eficacia real del sistema de complejación. Algún estudio como el de *M. Fuentes et al.* [19] ya estudió la estabilidad de diferentes complejos en presencia de calcio.

En conjunto, estos aspectos abren múltiples líneas de trabajo futuras, centradas en la mejora metodológica, el análisis funcional en condiciones reales y el estudio de factores ambientales clave, que permitirían obtener una visión más completa y aplicable del sistema hierro- derivados de la lignina en entornos agrícolas o ambientales.

6 Conclusiones

Este trabajo ha permitido evaluar con detalle la capacidad de diferentes fracciones derivadas de la oxidación húmeda de lignina Kraft para formar complejos estables con hierro en medio acuoso, con el objetivo de avanzar hacia fertilizantes más sostenibles y funcionales para suelos alcalinos. Se han comparado las capacidades complejantes de hierro de dos matrices orgánicas: el efluente de la oxidación húmeda de la lignina Kraft (EO) y la correspondiente fase deslignificada (FD), analizando el comportamiento de ambas en función del pH y del ratio Fe:C.

Los resultados indican que la EO es la fracción más eficiente, destacando especialmente a pH 8, donde logra la mayor retención de hierro y una alta eficiencia de complejación por unidad de carbono. Esto se atribuyó probablemente a la ionización de grupos hidroxilo y carboxilo presentes en su estructura. Por su parte, la FD mostró una capacidad más limitada, relacionada con su contenido en compuestos solubles de bajo peso molecular generados durante el proceso de oxidación húmeda y que tienen gran afinidad por el hierro, especialmente a ratios Fe/COT bajos.

El análisis de la distribución del hierro dentro de los componentes del EO reveló un comportamiento complementario entre ambas fases: la FD capta inicialmente el hierro, y una vez saturada, la EO asume el papel principal en la retención. A relaciones Fe/COT superiores a aproximadamente 0,5 mg Fe/mg COT, se observa una fuerte insolubilización del hierro, atribuida a la precipitación de complejos orgánicos de hierro de gran tamaño, así como a la formación de hidróxidos de hierro insolubles. A nivel práctico, el EO resultó ser el sistema con mayor capacidad total de retención de hierro, lo que pone en valor su posible uso sin fraccionamiento previo.

Las pruebas de ultrafiltración confirmaron que la mayoría del hierro presente se encuentra formando complejos de tamaño considerable, y no como especie libre, reforzando la eficacia de los sistemas evaluados. Sin embargo, se identificaron también limitaciones técnicas y metodológicas que abren la puerta a futuros estudios, como la caracterización del precipitado o la evaluación en condiciones reales de suelo.

En conjunto, los resultados obtenidos confirman que EO, especialmente a pH 8, representa una alternativa prometedora a los quelantes sintéticos de hierro, tanto por su rendimiento como por su origen renovable.

7 Bibliografía

- [1] J. G. Lee, H. Y. Yoon, J.-Y. Cha, W.-Y. Kim, P. J. Kim, y J.-R. Jeon, «Artificial humification of lignin architecture: Top-down and bottom-up approaches», *Biotechnol. Adv.*, vol. 37, n.º 8, p. 107416, dic. 2019, doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.107416.
- [2] S. Rajabi Hamedani, M. Cardarelli, Y. Roupael, P. Bonini, A. Colantoni, y G. Colla, «Comparative Environmental Assessment of the Iron Fertilisers' Production: Fe-Biochelate versus Fe-EDDHA», *Sustainability*, vol. 15, n.º 9, p. 7488, ene. 2023, doi: 10.3390/su15097488.
- [3] J. Abadía *et al.*, «Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis», *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 49, n.º 5, pp. 471-482, may 2011, doi: 10.1016/j.plaphy.2011.01.026.
- [4] J. J. Lucena, «Synthetic Iron Chelates to Correct Iron Deficiency in Plants», en *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*, 2006, pp. 103-128. doi: 10.1007/1-4020-4743-6_5.
- [5] A. Lorenci Woiciechowski *et al.*, «Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances», *Bioresour. Technol.*, vol. 304, p. 122848, may 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122848.
- [6] S. Sutradhar, N. Alam, L. P. Christopher, y P. Fatehi, «KOH catalyzed oxidation of kraft lignin to produce green fertilizer», *Catal. Today*, vol. 404, pp. 49-62, nov. 2022, doi: 10.1016/j.cattod.2022.08.007.
- [7] D. S. Bajwa, G. Pourhashem, Al Habib Ullah, y S. Bajwa, «A concise review of current lignin production, applications, products and their environment impact», *Ind. Crops Prod.*, vol. 139, ene. 2019, doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111526.
- [8] L. Pola, S. Collado, P. Oulego, y M. Díaz, «Kraft black liquor as a renewable source of value-added chemicals», *Chem. Eng. J.*, vol. 448, p. 137728, nov. 2022, doi: 10.1016/j.cej.2022.137728.
- [9] L. Reyes, C. Nikitine, L. Vilcoq, y P. Fongarland, «Green is the new black – a review of technologies for carboxylic acid recovery from black liquor», *Green Chem.*, vol. 22, pp. 8097-8115, oct. 2020, doi: 10.1039/d0gc02627a.
- [10] «Medición de caudal de licor blanco, negro y verde», Lana Sarrate. Accedido: 16 de abril de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.lanasarrate.es/solucion/medicion-de-caudal-de-licor-blanco-negro-y-verde/>
- [11] L. Pola, S. Collado, P. Oulego, P. Á. Calvo, y M. Díaz, «Characterisation of the wet oxidation of black liquor for its integration in Kraft paper mills», *Chem. Eng. J.*, vol. 405, p. 126610, feb. 2021, doi: 10.1016/j.cej.2020.126610.
- [12] M. Hubbe, R. Alén, R. Paleologou, M. Kannangara, y J. Kihlman, «Lignin recovery from spent alkaline pulping liquors using acidification, membrane separation, and related processing steps: A review», *BioResources*, vol. 14, pp. 2300-2351, 2019, doi: 10.15376/biores.14.1.2300-2351.
- [13] D. Savy *et al.*, «Humic-like bioactivity on emergence and early growth of maize (*Zea mays* L.) of water-soluble lignins isolated from biomass for energy», *Plant Soil*, vol. 402, n.º 1, pp. 221-233, may 2016, doi: 10.1007/s11104-015-2780-2.

- [14] M. Chávez Sifontes y M. E. Domine, «Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial», *Av. En Cienc. E Ing.*, vol. 4, n.º 4, pp. 15-46, 2013.
- [15] M. Villén, J. J. Lucena, M. C. Cartagena, R. Bravo, J. García-Mina, y M. I. M. de la Hinojosa, «Comparison of two analytical methods for the evaluation of the complexed metal in fertilizers and the complexing capacity of complexing agents», *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, n.º 14, pp. 5746-5753, jul. 2007, doi: 10.1021/jf070422t.
- [16] R. Lizcano, D. Olivera, D. Saavedra, y L. Machado, *Muestreo de suelos, técnicas de laboratorio e interpretación de análisis de suelos*. Centro de Formación Agroindustrial La Angostura, Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) y Sistema de Investigación: Desarrollo Tecnológico e Innovación (SENNOVA), 2017.
- [17] K. D. Welch, T. Z. Davis, y S. D. Aust, «Iron Autoxidation and Free Radical Generation: Effects of Buffers, Ligands, and Chelators», *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 397, n.º 2, pp. 360-369, ene. 2002, doi: 10.1006/abbi.2001.2694.
- [18] J. M. García-Mina, M. C. Antolín, y M. Sanchez-Diaz, «Metal-humic complexes and plant micronutrient uptake: a study based on different plant species cultivated in diverse soil types», *Plant Soil*, vol. 258, n.º 1, pp. 57-68, ene. 2004, doi: 10.1023/B:PLSO.0000016509.56780.40.
- [19] M. Fuentes *et al.*, «Supramolecular Arrangement of Lignosulfonate-Based Iron Heteromolecular Complexes and Consequences of Their Interaction with Ca²⁺ at Alkaline pH and Fe Plant Root Uptake Mechanisms», *J. Agric. Food Chem.*, vol. 71, n.º 30, pp. 11404-11417, ago. 2023, doi: 10.1021/acs.jafc.3c03474.
- [20] J. Carrasco *et al.*, «Influence of pH, Iron Source, and Fe/Ligand Ratio on Iron Speciation in Lignosulfonate Complexes Studied Using Mössbauer Spectroscopy. Implications on Their Fertilizer Properties», *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, n.º 13, pp. 3331-3340, abr. 2012, doi: 10.1021/jf204913s.
- [21] L. P. Canellas *et al.*, «Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture», *Sci. Hortic.*, vol. 196, pp. 15-27, nov. 2015, doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.013.
- [22] T. V. Lourençon, F. A. Hansel, T. A. da Silva, L. P. Ramos, G. I. B. de Muniz, y W. L. E. Magalhães, «Hardwood and softwood kraft lignins fractionation by simple sequential acid precipitation», *Sep. Purif. Technol.*, vol. 154, pp. 82-88, nov. 2015, doi: 10.1016/j.seppur.2015.09.015.
- [23] APHA, AWWA, WEF, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, APHA, Washington, D.C., 2005.
- [24] B. V. Mohite, «Iron Determination - A Review of Analytical Methods», *Asian J. Res. Chem.*, vol. 4, n.º 3, pp. 348-361, mar. 2011.
- [25] Potter, B. B. and J. Wimsatt., «Method 415.3, Rev. 1.2: Determination of Total Organic Carbon and Specific UV Absorbance at 254 nm in Source Water and Drinking Water», *Water US Environ. Prot. Agency Wash. DC*, 2009.
- [26] P. Merdy, E. Guillon, M. Aplincourt, y J. Duomonceau, «Interaction of metallic cations with lignins. Part 1: Stability of iron (III), manganese (II) and copper (II) complexes with phenolic lignin model compounds: Coumaric, ferulic and sinapic acids and coniferyl alcohol», *J. Chem. Res.*, vol. 2000, n.º 2, pp. 76-77, feb. 2000, doi: 10.3184/030823400103166427.
- [27] P. Boguta, V. D'Orazio, N. Senesi, Z. Sokołowska, y K. Szewczuk-Karpisz, «Insight into the interaction mechanism of iron ions with soil humic acids. The effect of the pH and chemical

properties of humic acids», *J. Environ. Manage.*, vol. 245, pp. 367-374, sep. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.05.098.

- [28] L. J. Perez M y G. Tobón, «Compuestos de hierro para suplementación oral: principios y avances -revisión sistemática», *Vitae*, vol. 13, n.º 1, pp. 85-95, mar. 2006.
- [29] E. M. Thurman, R. L. Wershaw, R. L. Malcolm, y D. J. Pinckney, «Molecular size of aquatic humic substances», *Org. Geochem.*, vol. 4, n.º 1, pp. 27-35, mar. 1982, doi: 10.1016/0146-6380(82)90005-5.

8 ANEXO I: Método del tiocianato

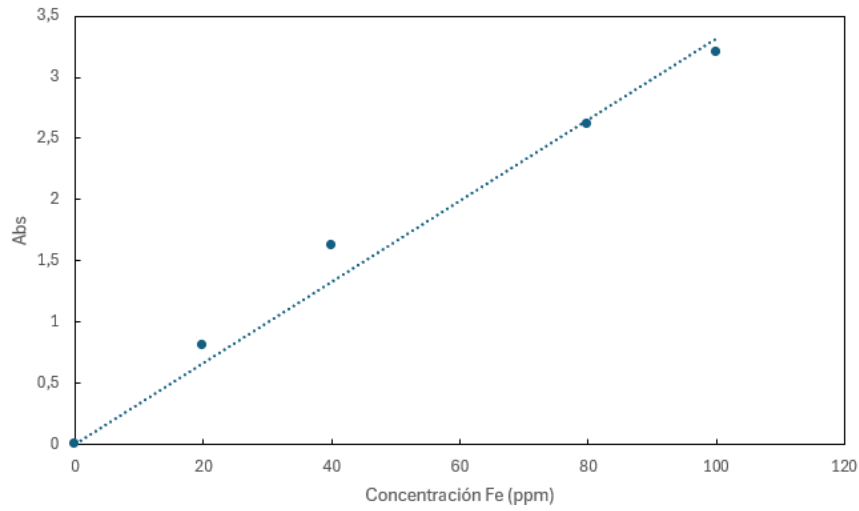


Figura 14: Recta de calibrado obtenida para la determinación espectrofotométrica de Fe^{3+} libre. La pendiente de la recta es $0,033 \text{ ppm}^{-1}$, con un coeficiente de determinación $R^2=0,993$, lo que indica una excelente linealidad en el rango de concentraciones analizado.

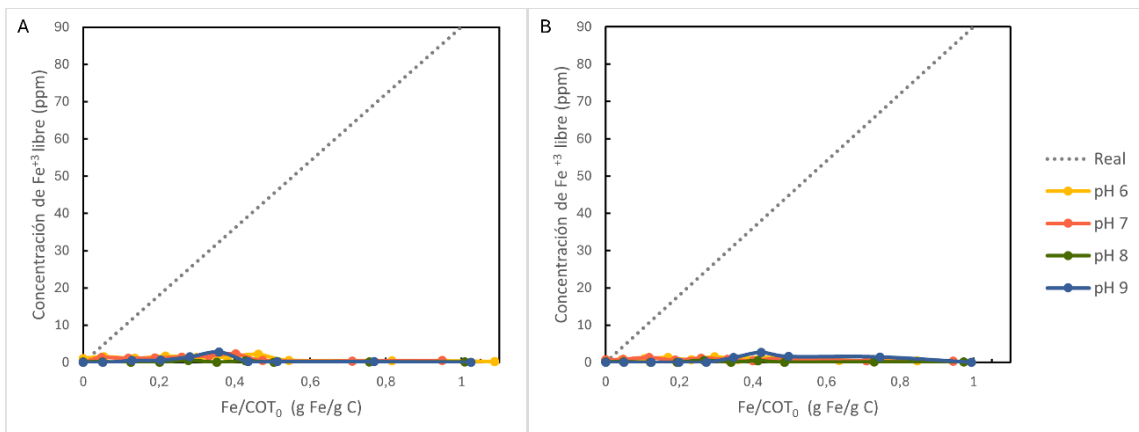


Figura 15: Evolución del hierro III libre para los distintos ratios Fe/COT para EO (A) y FD (B) para los distintos valores de pH estudiados.