



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE LIRIO ACUÁTICO**

*(Eichhornia crassipes)*

**TESIS**

Presentada por:

**M.C. JULIO CÉSAR JACUINDE RUÍZ**

Para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**Directora: D. C. Ma. del Carmen Chávez Parga**

**Co-Director: D. C. José Apolinar Cortés**

Morelia, Michoacán

Junio de 2022.

---

## DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a personas muy especiales, que en todo momento han estado de manera incondicional apoyándome y dando lo mejor, para que siga desarrollándome como persona y como profesionalista.

A **Dios** quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A **Marlen**, mi esposa con todo mi amor y cariño, por tu apoyo incondicional en todo momento. Siempre tuviste palabras de aliento y una sonrisa para las situaciones que me preocupaban. Gracias por todo Amor, Te amo.

A **Mis Padres** por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles. Me han dado todo lo que soy como persona, valores, principios, carácter, empeño, perseverancia y coraje para conseguir mis objetivos.

A **Erick, Doña Pitis, Don Raúl, Brandon**; fueron parte importante de este proceso desde que inicie, motivándome y alentándome a que todo saldría de la mejor manera.

A **Mis Hermanos** por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar.

---

---

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** quien me guio y me dio esperanza y fuerza para continuar con este proyecto y lograr culminarlo.

A **Marlen** mi esposa quien siempre estuvo apoyándome incondicionalmente. Si no hubieras estado este proceso hubiera sido muy difícil de lograr. Gracias amor. Te amo.

A la **Dra. Ma. Del Carmen Chávez Parga** y el **Dr. José Apolinar Cortés** que me permitieron trabajar junto a ellos y me dieron la oportunidad de obtener los conocimientos y habilidades para poder culminar este proyecto de tesis.

A los **Doctores Rafael Maya Yescas** y **Ricardo Miguel Pérez Munguía**, por sus aportes en cada seminario para poder mejorar el trabajo de tesis.

Al **Dr. Juan Carlos González Hernández** quien me dio la oportunidad de iniciar en este camino de la investigación científica.

A **Iris, Diana, Israel, Aura, Hiram y Luis**, quienes me apoyaron al desarrollo de la parte experimental de la tesis, sin su apoyo este proyecto no se hubiera culminado en el tiempo programado.

A todos los catedráticos que me impartieron clases durante el doctorado , permitiéndome aprender un poco de lo que ellos transmiten.

A todas las personas que me facilitaron equipos y/o reactivos para poder continuar con el desarrollo de la tesis, he interpretación de pruebas y resultados.

Al **Posgrado de Ingeniería Química y la Universidad Michoacán de San Nicolás de Hidalgo**, por darme la oportunidad de superarme profesionalmente y lugar donde conocí personas con quienes mantengo una amistad.

Al **Conacyt** por la beca otorgada (No. 610719) durante el periodo Marzo 2018 a Febrero 2022.

Al **Programa de Investigación 2018 de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH** por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo del proyecto.

---

---

## RESUMEN

### Producción de metano a partir de lirio acuático (*Eichhornia Crassipes*)

Julio César Jacuinde Ruíz, Julio 2022.

Dirigida por: D. C. Ma. del Carmen Chávez Parga

Co-dirigida por: D. C. José Apolinar Cortés

División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química

El lirio acuático (WH) es una planta invasora que genera efectos adversos en los cuerpos de agua, que, al ser eliminado, se convierte en un residuo lignocelulósico que puede ser utilizado para la producción de metano. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el aumento de la producción de metano cuando se aplican y combinan los pretratamientos: molienda, química (ajuste de pH), térmica (control de temperatura) y control de concentración, en digestión anaeróbica (AD) a través de la prueba de potencial bioquímico de metano (BMP), desarrollada y basada en una disposición ortogonal Taguchi  $L_8$ . Los resultados obtenidos de este estudio revelaron que el pretratamiento combinado tiene un efecto positivo en el aumento de la producción de metano, respecto con el control de WH sin pretratar, logrando un aumento del 260% a las mejores condiciones (concentración de 30 g DQO  $L^{-1}$ , pH de 8.5, molienda con molino de disco, temperatura de 40° C, durante 30 min). La constante cinética de degradación para las mejores condiciones de pretratamiento en función del tiempo de consumo de sólidos volátiles (SV) fue de 0.0032  $d^{-1}$ , y la constante cinética de producción de  $CH_4$  fue de 0.17  $d^{-1}$ , rindiendo 111 NmL  $CH_4$  g  $SV^{-1}$  (equivalente a 0.028 kg  $CH_4$  kg  $WH^{-1}$ ), y potencial de generación de 5,712 kg  $CH_4$  ha $^{-1}$  año $^{-1}$ . De ello se concluye que el WH es una fuente potencial de energía renovable, y su uso favorece el control de su presencia y la reducción de impactos ambientales, sociales y económicos.

**Palabras clave:** digestión anaerobia; diseño experimental; residuo lignocelulósico; óxido de calcio; rendimiento de metano

---

---

## ABSTRACT

### **Methane production from water hyacinth (*Eichhornia Crassipes*)**

Julio César Jacuinde Ruíz, July 2022

Supervised by PhD Ma. del Carmen Chávez Parga

Guided by PhD José Apolinar Cortés

División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química

Water hyacinth (WH) is an invasive plant that generates adverse effects in water bodies, which, when removed, becomes a lignocellulosic residue that would use for methane production. The present investigation aimed to assess the increase in methane production when are applied and combined the pretreatments: grinding, chemical (pH adjust), thermal (temperature control), and concentration control, in anaerobic digestion (AD) through the biochemical methane potential (BMP) test, developed and based on a Taguchi  $L_8$  orthogonal. The results obtained from BMP test revealed that combined pretreatment has a positive effect on increasing methane production, concerning test control of WH chopped unpretreated, and achieving an increase of 260% to the better conditions (concentration of 30 g CODL<sup>-1</sup>, pH of 8.5, grinding with a disc mill, and a temperature of 40° C, for 30 min). The degradation kinetic constant for the best combination of pretreatments shows higher degradation capacity of total volatile solids (TVS) in short time, and the methane production kinetic constant was 0.17 day<sup>-1</sup>, which was higher respect other researches, also a yield of 111 NmL CH<sub>4</sub> g TVS<sup>-1</sup> (equivalent to 0.02856 kg CH<sub>4</sub> kg WH<sup>-1</sup>) was achieved, which has a generation potential of 5,712 kg of CH<sub>4</sub> ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>. From this, it concluded that WH is a potential renewable energy source, and its use favors the control of its presence and the reduction of environmental, social, and economic impacts.

---

---

## Índice general

Índice de Tablas	i
Índice de Figuras	ii
Abreviaturas	iii

### Capítulo I

#### Introducción

1.1 Generalidades	2
1.2 Importancia de los lagos	2
1.3 Funciones y servicios de los lagos	3
1.4 Los lagos en México	4
1.5 Lago de Pátzcuaro	6
1.5.1 Rasgos socioeconómicos del lago de Pátzcuaro	9
1.5.2 Problemas ambientales del lago de Pátzcuaro	10

### Capítulo II

#### Marco Teórico

2.1 Lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> )	13
2.1.1 Morfología	14
2.1.2 Reproducción	14
2.1.3 Composición del lirio acuático	14
2.1.4 Problemática ambiental	17
2.1.5 Métodos de control	18
2.1.6 Usos y aplicaciones del lirio	20
2.1.7 Situación del lirio acuático en México	21
2.2 Anaerobiosis	22
2.2.1 Etapas de la anaerobiosis	23
2.2.2 Factores que afectan la anaerobiosis	24
2.2.3 Inóculo anaerobio	27
2.3 Prueba de potencial bioquímico de metano	27
2.3.1 Sustrato	28
2.3.2 Inóculo	28
2.3.3 Prueba BMP	30
2.3.4 Recopilación y análisis de datos	31
2.4 Pretratamientos	31
2.5.1 Pretratamiento físico	32
2.4.2 Pretratamiento químico	32

---

---

2.4.2.1 Pretratamiento ácido	32
2.4.2.2 Pretratamiento alcalino	33
2.5 Antecedentes	34
2.6 Justificación	36
2.7 Planteamiento del problema	36
2.8 Hipótesis	37
2.9 Objetivos	37
2.9.1 Objetivo general	37
2.9.2 Objetivos específicos	37
<b>Capítulo III</b>	
<b>Metodología</b>	
3.1 Generalidades	39
3.2 Selección de inóculo	39
3.3 Caracterización de lirio acuático (WH)	40
3.4 Prueba BMP	41
3.4.1 Diseño experimental Taguchi L8	42
3.4.2 Pretratamiento combinado	43
3.4.3 Análisis estadístico	44
3.4.4 Análisis de sensibilidad y cinética química	44
<b>Capítulo IV</b>	
<b>Resultados y Discusión</b>	
4.1 Análisis y selección del inóculo	47
4.2 Caracterización de lirio acuático	48
4.3 Prueba BMP	49
4.3.1 Caracterización fisicoquímica de las mezclas de Inóculo-WH pretratado	49
4.3.2 Producción de metano	50
4.3.3 Evaluación del efecto de los niveles de cada factor	54
4.3.4 Análisis de sensibilidad y cinética de primer orden	56
4.3.5 Efecto del pretratamiento combinado en la producción de metano	58
<b>Capítulo V</b>	
<b>Conclusiones</b>	
5.1 Conclusiones	61
5.2 Recomendaciones	61

---



---

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Descripción de los tipos de servicios eco-sistémicos y su relación con los lagos.	<b>4</b>
<b>Tabla 2.</b> Parámetros fisicoquímicos del agua del lago de Pátzcuaro.	<b>7</b>
<b>Tabla 3.</b> Clasificación taxonómica de lirio acuático (Luna, 2011).	<b>13</b>
<b>Tabla 4.</b> Composición química de lirio acuático (Luna, 2011).	<b>15</b>
<b>Tabla 5.</b> Estados de madurez del lirio y sus características (Luna, 2011).	<b>16</b>
<b>Tabla 6.</b> Humedad y sólidos totales para distintos estados de madurez del lirio (Luna, 2011).	<b>16</b>
<b>Tabla 7.</b> Composición del lirio en función del estado de madures y parte analizada (Luna, 2011).	<b>17</b>
<b>Tabla 8.</b> Mecanismos de control de lirio acuático (Malik, 2007).	<b>19</b>
<b>Tabla 9.</b> Intervalos de temperatura.	<b>25</b>
<b>Tabla 10.</b> Parámetros fisicoquímicos evaluados.	<b>40</b>
<b>Tabla 11.</b> Factores y niveles a evaluar mediante el diseño experimental Taguchi L <sub>8</sub> .	<b>42</b>
<b>Tabla 12.</b> Combinación de pretratamientos para el diseño ortogonal Taguchi L <sub>8</sub> .	<b>43</b>
<b>Tabla 13.</b> Resultados de la evaluación fisicoquímica de inóculos.	<b>48</b>
<b>Tabla 14.</b> Resultados de la caracterización fisicoquímica de WH.	<b>49</b>
<b>Tabla 15.</b> Caracterización fisicoquímica de las mezclas de Inóculo-WH pretratado.	<b>50</b>
<b>Tabla 16.</b> Metano generado en relación con el tipo de pretratamiento combinado en la prueba BMP.	<b>52</b>
<b>Tabla 17.</b> Análisis de varianza (ANOVA).	<b>54</b>
<b>Tabla 18.</b> Prueba de Tukey.	<b>55</b>
<b>Tabla 19.</b> Comparación de concentración observada de SVT en el efluente respecto a lo predicho.	<b>56</b>
<b>Tabla 20.</b> Resultados de la aplicación del modelo cinético de primer orden.	<b>57</b>

---

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Lagos de México.	5
<b>Figura 2.</b> Vista panorámica del lago de Pátzcuaro.	6
<b>Figura 3.</b> Vegetación hidrófila y acuática en el humedal sur de Pátzcuaro.	7
<b>Figura 4.</b> Actividades socioeconómicas del lago de Pátzcuaro.	9
<b>Figura 5.</b> Presencia de lirio acuático en el lago de Pátzcuaro.	10
<b>Figura 6.</b> Lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> ).	13
<b>Figura 7.</b> Obstaculización del lirio para la navegación en cuerpos de agua.	17
<b>Figura 8.</b> Invasión de lirio del lago de Pátzcuaro.	18
<b>Figura 9.</b> Extracción de lirio de cuerpo de agua infestado.	19
<b>Figura 10.</b> Etapas del proceso anaerobio.	22
<b>Figura 11.</b> Diagrama del reactor batch en la prueba BMP.	28
<b>Figura 12.</b> Estructura de la materia lignocelulósica sin pretratamiento y con pretratamiento.	31
<b>Figura 13.</b> Analizador elemental LECO Series 628.	41
<b>Figura 14.</b> Microscopio electrónico de barrido.	41
<b>Figura 15.</b> Cromatógrafo de gases Buick Scientific 910 GS.	42
<b>Figura 16.</b> Pretratamiento de WH y prueba BMP	44
<b>Figura 17.</b> Producción acumulada de metano durante 30 días.	51
<b>Figura 18.</b> Volumen y composición de biogás para cada prueba BMP.	52
<b>Figura 19.</b> Impacto de la aplicación de pretratamientos en las fases anaeróbicas.	53
<b>Figura 20.</b> Gráfico de efectos principales diseño Taguchi L <sub>8</sub> .	54
<b>Figura 21.</b> Comparación de la concentración predicha y observada para el efluente.	57

## Abreviaturas

Símbolo	Significado	Símbolo	Significado
<b>km<sup>2</sup></b>	Kilómetro cuadrado	<b>THR</b>	Tiempo de residencia hidráulico
<b>col.</b>	Colaboradores	<b>Ec.</b>	Ecuación
<b>etc.</b>	Etcétera	<b>M. O.</b>	Microorganismos
<b>C</b>	Carbono	<b>H<sub>2</sub>S</b>	Ácido sulfhídrico
<b>P</b>	Fósforo	<b>AGV's</b>	Ácidos grasos volátiles
<b>N</b>	Nitrógeno	<b>SSV</b>	Sólidos suspendidos volátiles
<b>K</b>	Potasio	<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>Figura</b>	Figura	<b>Fe</b>	Hierro
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar	<b>Na</b>	Sodio
<b>° C</b>	Grados celcius	<b>Cl</b>	Cloro
<b>mm</b>	Milímetros	<b>Zn</b>	Zinc
<b>m<sup>3</sup></b>	Metro cubico	<b>Se</b>	Selenio
<b>m</b>	Metro	<b>Cu</b>	Cobre
<b>cm</b>	Centímetro	<b>Ni</b>	Níquel
<b>μ</b>	Micro	<b>W</b>	Tungsteno
<b>mg</b>	Miligramo	<b>C/N</b>	Relación carbono-nitrógeno
<b>L</b>	Litro		
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	Carbonato de calcio	<b>h</b>	Hora
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno	<b>α</b>	Alfa
<b>Mg</b>	Magnesio	<b>&gt;</b>	Mayor que
<b>Ca</b>	Calcio	<b>&lt;</b>	Menor que
<b>WH</b>	Lirio acuático		Sólidos volátiles totales
<b>ha</b>	Hectárea	<b>BMP</b>	Potencial bioquímico de metano
<b>mL</b>	Mililitro	<b>K</b>	Grado Kelvin
<b>CH<sub>4</sub></b>	Metano	<b>k</b>	Kilo
<b>G</b>	gramo	<b>Pa</b>	Pascales
<b>SV</b>	Sólidos volátiles	<b>C/N/P</b>	Hidróxido de calcio
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido sulfúrico		Relación carbono-nitrógeno-fosforo
<b>H</b>	Hidrógeno	<b>NmL</b>	Mililitros normalizados
<b>Ton</b>	Tonelada	<b>NL</b>	Litros Normalizados
<b>kg</b>	Kilogramo	<b>ST</b>	Sólidos totales
<b>MO</b>	Materia orgánica		Mili Siemens
<b>S</b>	Azufre	<b>GJ</b>	Caballo de potencia
<b>DBO</b>			

# Capítulo I

# Introducción

## 1.1 Generalidades

Durante los últimos años, debido al crecimiento acelerado de la población, la demanda de bienes y servicios se ha incrementado de manera considerable, lo que ha impactado en el ambiente. En México, la descarga de aguas residuales es un tema de gran importancia debido al impacto que genera en el medio donde son descargadas, así como también los problemas de salud pública que conlleva, particularmente para aquellas poblaciones ubicadas alrededor de los cuerpos de agua superficiales (Ramírez Alcocer, Bernal-Brooks, 2010).

De manera particular, en el Estado de Michoacán se encuentra el Lago de Pátzcuaro, con área de 92 km<sup>2</sup>, el cual es considerado uno de los lagos más importantes y emblemáticos del país. Sin embargo, este lago tiene graves problemas de contaminación debido al aporte de aguas residuales generadas por las actividades antropogénicas de las comunidades ubicadas en su rivera y sus islas. Con la finalidad de controlar y mitigar este daño, se han implementado diversas estrategias enfocadas principalmente al tratamiento y control de las aguas residuales que son descargadas (Teniza y col., 2015).

Derivado de las condiciones que prevalecen en el lago, por décadas, éste se ha visto impactado por el crecimiento de *Eichhornia crassipes* (Lirio acuático) en su superficie, lo que ha alterado sus condiciones naturales, impactando a la flora, la fauna y la economía de la región. Debido a su acelerado desarrollo y reproducción en cuerpos de agua, el lirio se considera una plaga, problema que puede resolverse mediante su aprovechamiento, como fuente potencial de energía renovable produciendo biogás (Valderrama y col., 1987).

## 1.2 Importancia de los lagos

Los lagos son cuerpos de agua superficiales que albergan ecosistemas complejos y de vital importancia, debido a la interacción entre los factores físicos, químicos y biológicos coexistentes, lo cual permite regular los ciclos biogeoquímicos de la región y el desarrollo de la biodiversidad de flora y fauna (Ortiz, 2015; Kainthola, 2019). También permiten el desarrollo social y económico de las poblaciones cercanas a estos cuerpos de agua (Ortiz, 2015; Hortelano y col., 2017; Robles, 2017).

Se estima que aproximadamente entre el 4 y el 8% de la superficie terrestre está cubierta por lagos (Kainthola, 2019; Torres y col., 2012), sin embargo, esta superficie se ha reducido hasta en 50%, a causa del cambio de uso de suelo (agricultura, ganadería y desarrollo urbano), descargas de aguas residuales (agrícolas, urbanos e industriales) que causan la eutrofización de los lagos, y por la modificación de las redes hídricas (canales artificiales y presas) (Ortiz, 2015; Gregorich y col., 2006); debido a esto, durante los últimos años, diversos grupos políticos, sociales y académicos, han tratado de implementar medidas para lograr el uso racional y sustentable de los lagos con la finalidad de reducir y controlar los efectos causados adversos ocasionados (Ortiz, 2015).

### 1.3 Funciones y servicios de los lagos

Los lagos aportan gran cantidad de beneficios a la sociedad debido a las diversas funciones que realizan, ya que permiten el mantenimiento y la integridad del ecosistema que los rodea (Blackwell, Pilgrim, 2011; Borja y col., 2012; Ten y col., 2013; Camacho-Valdez y col., 2014). Entre las principales funciones de los lagos se encuentran la regulación de caudales de carga y descarga, amortiguamiento de clima por evapotranspiración, retención y estabilización de materia orgánica, provisión de hábitat para especies, y conservación de la biodiversidad (Blackwell, Pilgrim, 2011; McLaughlin, Cohen, 2013; Camacho-Valdez y col., 2014). La pérdida o disminución de alguna de estas funciones podría comprometer la estructura del ecosistema (MEA, 2005; Paré y col., 2008; Borja y col., 2012; McInnes, 2013), lo que ocasionaría la disminución de la cantidad y la calidad del agua, reducción de la producción de alimentos, aumento de enfermedades y disminución del desarrollo económico de las regiones cercanas (Costanza y col., 1998; Ricaurte y col., 2013; Ten y col., 2013). Existen lagos con alto grado de conservación, con hábitats de alta calidad que favorecen el desarrollo de la biodiversidad; sin embargo, se minimiza su función como filtro ecológico, debido a que el transporte de contaminantes es bajo y los nutrientes son consumidos por la vegetación; por el contrario, aquellos lagos que han sufrido alteraciones favorecen el tratamiento de aguas logrando la degradación de nutrientes (C, N, P, K) y otros contaminantes, compensando así la pérdida de calidad del hábitat para la biodiversidad (Blackwell, Pilgrim, 2011; McLaughlin, Cohen, 2013; Doherty y col., 2014).

Los servicios de los ecosistemas (Tabla 1) se pueden agrupar en tres tipos:

- 1) De abastecimiento, vitales para el ser humano, debido a que permiten el suministro de agua potable (consumo directo y riego), la producción de alimentos (agricultura y pesca) y la obtención de materias primas (fibra, madera, etc.).
- 2) De regulación, aunque poco observables para la población humana son esenciales, ya que mantienen la calidad del ambiente, regulando los ciclos biogeoquímicos que permiten la transformación de materia orgánica y la captura de nutrientes (C, P, N, y K) y la regulación hídrica que reduce el riesgo de inundaciones y sequías (Pérez-Olmedilla, Rojo, 2000; Zedler, Kercher, 2005; Borja y col., 2012; Doherty y col. 2014). La capacidad de los lagos como filtro ecológico permite reducir los costos en los tratamientos de aguas residuales, la concentración de contaminantes y patógenos; sin embargo, si se sobrepasan los límites de contaminantes, el excedente no podría ser procesado de manera natural y sufriría una alteración significativa en su entorno (MEA, 2005, Borja y col., 2012).
- 3) Culturales, forman parte de la identidad cultural de una comunidad, por lo que se ejecutan estrategias para la preservación del ecosistema y para incentivar la economía de la región, mediante actividades como pesca, caza, deportes acuáticos y eco-turismo, además de servir como herramienta didáctica para la educación ambiental y como casos de estudio para la investigación científica (MEA, 2005, Borja y col., 2012; Zedler, Kercher, 2005; Doherty y col., 2014).

**Tabla 1.** Descripción de los tipos de servicios eco-sistémicos y su relación con los lagos.

Tipo	Servicios	Función
Abastecimiento	Alimento	Biodiversidad
	Suministro de agua	Hidrológica
	Suministro de energía	Productividad
	Extracción bioquímica	Procesos biogeoquímicos
	Material genético	Biodiversidad
Regulación	Mantenimiento de costas	Hidrológica
	Control de inundaciones y sequías	Hidrológica
	Ciclo de nutrientes	Transformación de compuestos
	Acumulación de materia orgánica	Transformación de compuestos
	Formación de suelo	Transporte de sólidos
	Filtro ecológico	Retención de nutrientes
	Estabilidad climática	Patrones climáticos e hidrológicos y sumideros de carbono
Culturales	Espiritual y estético	Paisaje
	Recreación	Biodiversidad
	Educación ambiental y científica	Todas

A pesar de la relevancia en los servicios que proveen estos ecosistemas, se ha dado mayor atención a aquellos que están desprotegidos y con mayor daño, en los cuales los servicios de abastecimiento y de regulación tienden a un proceso de degradación, lo cual puede causar la pérdida de humedales como reguladores hídricos, climáticos y de la diversidad biológica (MEA, 2005; Ten y col., 2013).

#### 1.4 Los lagos en México

La ubicación geográfica de México favorece la presencia de gran diversidad climática y topográfica que va desde áreas totalmente áridas hasta zonas tropicales, los lagos (Figura 1), particularmente, se encuentran

distribuidos a lo largo y ancho del territorio nacional, presentando gran variedad de modelos hidrológicos y de biodiversidad (Carabias y Landa, 2008; Paré y col., 2008; Alcocer y Brooks, 2010).



**Figura 1.** Lagos de México. a) Lago de Cuitzeo; b) Lago de Pátzcuaro; c) Lago de Zirahuén; d) Lago de Chapala.

Aunque el área que cubre estos ecosistemas no ha sido determinada con exactitud, se estima que los lagos mexicanos ocupan entre el 0.6% y el 3% de la superficie terrestre mundial, y contribuyen aproximadamente con el 40% de los servicios ambientales en el territorio mexicano. Estos lagos no están exentos de sufrir algún desgaste, por lo que aproximadamente el 62.1% de ellos enfrenta algún grado de deterioro, atribuido principalmente a la deforestación que causa la pérdida de hábitats, suelo y biodiversidad (Contreras-Espinosa, Warner, 2004; Cervantes, 2007; Hernández, 2010; Ortiz, 2015).

En México el 89% del agua utilizada para uso doméstico es extraída principalmente de los acuíferos, por lo que existe claramente una sobre explotación de los recursos hídricos. Claramente, las actividades agropecuarias y el abastecimiento público afectan de manera considerable el régimen hídrico de los lagos, teniendo como consecuencia su desecación temporal y la disminución o pérdida de ecosistemas (Cervantes, 2007; Hernández, 2010; Ortiz, 2015).

Actualmente, en México el 45.2% de los lagos han sido protegidos y nombrados reservas federales o estatales, mientras que algunos otros lagos o cuerpos de agua superficiales en zonas tropicales o subtropicales logran y ostentan algún grado de protección (Ortiz, 2015).

Los lagos en México presentan gran biodiversidad y son sistemas altamente productivos; sin embargo, esto no es aplicable a todos los lagos. Así, los estudios de los lagos en el interior del país son muy pocos en comparación con los realizados en los ubicados en las cercanías a las costas, estos últimos se encuentran en un grave estrés hídrico, ya que han sido utilizados como suministro de agua potable, sitio para verter desechos de las comunidades de los alrededores, así como también para desarrollar gran diversidad de actividades antropogénicas. Todas estas actividades afectan el mantenimiento de la integridad ecológica de los lagos y, en muchos de los casos, la pérdida de los ecosistemas (Abarca y Cervantes, 1996; Carrera y col., 2003).

Se han desarrollado diversas líneas de investigación con la finalidad de comprender y ayudar a mitigar los efectos que se generan por las actividades antropogénicas, algunas de las líneas de trabajo van enfocadas a mecanismos de tratamientos de aguas para reducir la cantidad de nutrientes mediante plantas, estudios de balance hídrico y preservación de ecosistemas, por mencionar algunas (Rivera, 2001; Rojas y Vidal, 2008).

La implementación de indicadores ha permitido la detección de variaciones en el régimen hídrico y la contaminación por exceso de nutrientes, que son medidas de evaluación del grado de degradación de los lagos (Arcos y col., 2002; Travieso y col., 2005). Sin embargo, existen diversas problemáticas que no han sido abordadas debido a la complejidad y a la gran cantidad de trabajo que demanda la búsqueda de soluciones, lo cual tiene como consecuencia que se continúen causando daños sobre este tipo de ecosistemas (Warner y col., 2005; Magaña y col., 2011, Andrade, 2013).

### 1.5 Lago de Pátzcuaro

El lago de Pátzcuaro (Figura 2) está localizado en el altiplano mexicano, en el estado de Michoacán de Ocampo, a 63 km al oeste de la ciudad de Morelia, con latitud  $19^{\circ} 45' N$ , longitud  $101^{\circ} 54' O$  y altitud de 2,035 msnm, y área de  $107 \text{ km}^2$ . Debido a su ubicación geográfica, es clasificado como una cuenca endorreica (cerrada), abastecida principalmente de agua de lluvia infiltrada, escorrentías superficiales y manantiales en los alrededores, la altura de su columna de agua es regulada mediante la evaporación e infiltración del agua por el subsuelo (Vargas, Guzmán, 2009).

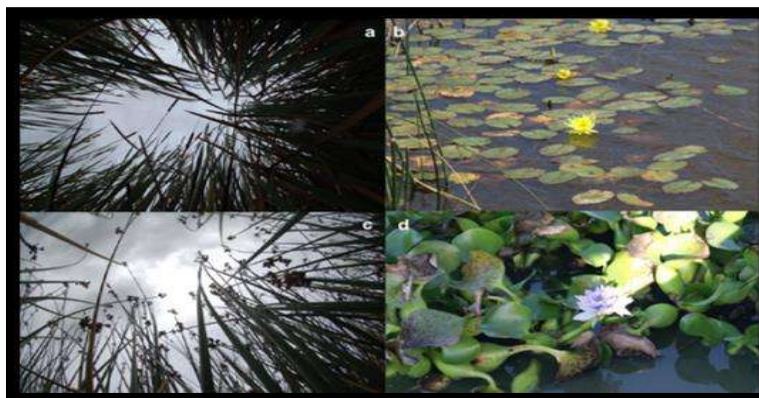


**Figura 2.** Vista panorámica del lago de Pátzcuaro.

El clima en la región del lago es templado sub húmedo, con periodo de lluvias entre los meses de mayo a octubre, con precipitación anual de 900 mm a 1400 mm durante el verano, temperaturas entre  $5^{\circ} C$  y  $37^{\circ} C$ , y evaporación anual promedio de 1450 mm (Ayala y col., 2010; González y col., 2012). El tipo de suelo en la región del lago, por su origen volcánico y la topografía de la zona, facilitan la infiltración de agua en los alrededores del lago, lo cual favorece la recarga de los acuíferos asociados al lago, los cuales mantienen el

equilibrio de la columna de agua durante el ciclo hidrológico (Brooks y col., 2002). Se estima que, aproximadamente, del 8% al 25% del agua que entra al lago lo hace por la vía subterránea, mediante manantiales en el fondo del lago, los cuales aportan hasta 2.8 millones de m<sup>3</sup> anuales (Bischoff, 2004, Arqueta y Castilleja, 2008; Oseguera, 2011). La profundidad promedio del lago es de 4.9 m, sin embargo, existen zonas con profundidad de hasta 12.3 m; cabe hacer mención que la profundidad en el lago ha disminuido significativamente durante las últimas décadas, atribuido a la sobreexplotación y los sedimentos arrastrados por la lluvia durante el verano a causa de la deforestación de los bosques cercanos al lago (Ortiz, 2015).

La vegetación terrestre presente en la cuenca del lago de Pátzcuaro es diversa, bosques de coníferas constituidos principalmente por pino y oyamel, bosques de encino, zonas de vegetación secundarias, pastizales y áreas de cultivo (Zamudio, 1992; Chacón, 1993), también existe una gran diversidad de vegetación acuática (Figura 3), compuesta principalmente por hidrófitas flotantes (*Eichhornia crassipes* (lirio acuático)), enraizadas (*Nymphae amexicana* y *Spirodela polyrriza*), y en zonas con mayor profundidad hay presencia de hidrófitas sumergidas (*Potamogeton illionesis*, *P. pectinatus* y *Utricularia vulgaris*). En particular, el lirio acuático es una especie introducida, la cual ha persistido debido a diversos factores que permiten su desarrollo y proliferación (Alcocer y Brocks, 2010).



**Figura 3.** Vegetación hidrófila y acuática en el humedal sur de Pátzcuaro. a) *Typha domingensis*; b) *Nymphae amexicana*; c) *Schoenoplectus spp.*; d) *Eichhornia crassipes*.

Debido a que el uso del suelo en la cuenca del lago no ha sido el apropiado, se han generado problemas para la preservación de la vegetación por la erosión y la pérdida de suelo boscoso fértil para llevar a cabo actividades como la ganadería y agricultura, las cuales ocasionan efectos adversos que han disminuido la calidad del agua (Bravo-Espinoza, 2004). Durante 2015, CONABIO, monitoreó las condiciones físicoquímicas del agua en el lago de Pátzcuaro (Tabla 2), evaluando diversos parámetros, los cuales son indicadores de la situación del lago.

**Tabla 2.** Parámetros fisicoquímicos del agua del lago de Pátzcuaro.

Parámetro	Intervalo
pH	8.9 a 9.1
Conductividad ( $\mu\text{Ohms/cm}$ )	800
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	15 a 25
Alcalinidad ( $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ )	2,500
Dureza ( $\text{mg L}^{-1}$ )	125 a 187
Oxígeno disuelto ( $\text{mg L}^{-1}$ )	4 a 7.3
Visibilidad (m)	0.2 a 0.5
Estado	Hipereutrofizado

Fuente: CONABIO, 2015.

Actualmente, el agua del lago es alcalina, presentando valores de pH entre 8.9 y 9.1; esto es atribuido a la erosión del suelo de los alrededores del lago a causa de la deforestación, el suelo erosionado es azolvado en el lago y las sales presentes en el son disueltas en el agua, lo cual ocasiona alcalinización e incrementó del valor de pH. Por otro lado, la descarga de aguas residuales puede contribuir a causar la variación de este parámetro. La conductividad en el agua del lago es aproximadamente de 800  $\mu\text{Ohms/cm}$ , a causa de los sólidos disueltos en el agua por la erosión del suelo, que puede causar el desarrollo de organismos ajenos al ecosistema como plantas y/o animales de origen acuático. La alcalinidad del agua fue de 2,500  $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ , no existen referencias sobre límites máximos permisibles de alcalinidad en el agua, sin embargo, una concentración elevada de  $\text{CaCO}_3$  puede incrementar la turbidez, dureza y reducir la capacidad de desarrollo de vida acuática. El contenido dureza del agua es alto (entre 125 a 187  $\text{mg L}^{-1}$ ) lo que podría afectar los parámetros de pH y conductividad, así como ocasionar la disminución de la concentración de oxígeno disuelto en el agua. La concentración de oxígeno disuelto oscila entre 4 a 7.5  $\text{mg O}_2 \text{L}^{-1}$ , esta concentración favorece el desarrollo de la vida en agua, sin embargo, esto se puede ver impactado por la presencia de contaminantes que podrían causar la reducción del oxígeno disuelto al ser oxidados. La temperatura del agua del lago es normal, encontrándose entre 15° C y 25° C; sin embargo, si continúa el deterioro de este lago, la temperatura podría incrementarse, reduciendo el oxígeno disuelto en el agua, afectando la biota acuática. La visibilidad dentro del agua en el lago de Pátzcuaro se ha disminuido a causa de la coloración marrón que ha adquirido, la cual se atribuye al azolvamiento del lago, suspensión de partículas coloides, sustancias que causan coloración del agua, descarga de aguas residuales, especies de peces que vuelven a suspender partículas sólidas al buscar su alimento en las profundidades, entre otras; esto ocasiona la reducción de la incidencia de la luz solar a través del agua limitando la actividad fotosintética de las plantas acuáticas y reduciendo el oxígeno disuelto. Actualmente, el lago de Pátzcuaro se encuentra en un estado de hipereutrofización debido al elevado contenido de nutrientes (C, N, P, K, Mg, Ca); este estado ha sido causado por actividades antropogénicas tales como descarga de aguas residuales

sin tratamiento y erosión del suelo. Una de las consecuencias es la proliferación de la especie de planta hidrófita conocida como lirio acuático (WH), para la cual el ambiente y las condiciones del lago son las propicias para su desarrollo, causando nuevos problemas sobre el lago como la disminución de la columna de agua por evapotranspiración, interfiere en la incidencia de la luz solar y la reducción del oxígeno disuelto, lo que favorece el desarrollo de especies acuáticas no endémicas (Ortiz, 2015).

### 1.5.1 Rasgos socioeconómicos del lago de Pátzcuaro

El lago de Pátzcuaro ha sido territorio de asentamientos humanos desde hace aproximadamente 30 siglos; actualmente forma parte de una de las cuatro áreas de la región Purépecha, cuyos indígenas son los últimos representantes de las culturas lacustres que florecieron en la antigua Mesoamérica, reconociendo su existencia desde el siglo XII. Debido a esto es considerado como patrimonio nacional de gran valor histórico, social y cultural. Actualmente, se estima que el 17% de la población situada en los alrededores del lago es de origen purépecha (Arqueta y Castilleja, 2008). Las civilizaciones del imperio tarasco y actualmente los asentamientos purépechas, se han ubicado en las islas del lago, conservando gran variedad de costumbres y tradiciones, las cuales han logrado incentivar la actividad económica, social y cultural de la región. Entre las actividades con mayor demanda económica son la tradicional pesca de charales y pez blanco, ambas especies endémicas del lago. El aprovechamiento de recursos naturales tales como el tule, la madera y la palma, entre otras, para la creación de artesanías ha permitido a los pobladores tener una fuente de ingresos mediante su trabajo (García-Huerto y col., 2014). Las actividades turísticas en el lago (Figura 4), al recorrer sus islas, es una gran fuente de recursos económicos que permiten a los lugareños mantener una economía por el consumo de diversos servicios ofrecidos a los visitantes. La producción agrícola y ganadera de la región, han sido fuente de ingreso de diversos pobladores de la región. Finalmente, el aprovechamiento de los recursos forestales de la zona cercana al lago ha fomentado el crecimiento económico y de la sociedad (Ortiz, 2015). Sin embargo, el desmedido uso de los recursos naturales ha causado graves efectos sobre el ecosistema del lago de Pátzcuaro, alterando considerablemente las condiciones ambientales propias del sitio, afectando flora, fauna, agua y suelo.



Figura 4. Actividades socioeconómicas del lago de Pátzcuaro.

### 1.5.2 Problemas ambientales del lago de Pátzcuaro

El lago de Pátzcuaro ha sido dañado significativamente desde hace más de 4,000 años, sin embargo, durante los últimos 40 años los daños ecológicos ocasionados por la deforestación, la pesca, la descarga de aguas residuales y el crecimiento demográfico, han reducido la capacidad de captación de agua e incrementado la erosión del suelo. Se calcula que se han depositado hasta 100,000 m<sup>3</sup> de sedimentos, que causan la reducción de la profundidad del lago y cambios en parámetros fisicoquímicos del agua. Esto ha causado un grave problema de contaminación por la acumulación de nutrientes orgánicos e inorgánicos que han llevado al lago a una condición hipertrófica, la cual es ideal para el desarrollo de lirio acuático, que trae consigo nuevos problemas como la disminución de la columna de agua por evapotranspiración, efecto que ocasionó la pérdida de una tercera parte de la superficie del lago (aproximadamente 30 km<sup>2</sup>) que en combinación con las actividades antropogénicas ha reducido la profundidad de 12.3 m a 5.0 m, además de disminuir la visibilidad a través del agua, ya que en los años 30 esta era de hasta 4 m y en el 2010 únicamente de 30 cm (Vargas y col., 2009; Herrejón, 2013; Almanza y col., 2016).

En el lago de Pátzcuaro se han introducido especies de peces exóticos, tales como: lobina, carpa común, carpa herbívora, mojarra y guatapote; sin embargo, el efecto por su inserción ha sido perjudicial, ya que compiten por alimento con las especies endémicas del lago, así como el tipo de alimentación de estas, obteniendo su alimento del fondo del lago suspendiendo partículas que causan turbidez en el agua (Herrejón, 2013). La condición hipertrófica del lago ha propiciado el desarrollo de lirio acuático (Figura5) (*Eichornia crassipes*), la cual es una planta originaria de Sudamérica, que al no ser endémica no enfrenta mecanismos naturales de control ambiental o biológico que regulen su presencia, lo que ha ocasionado impactos ambientales, sociales y económicos desde hace varias décadas. Sin embargo, existen dos aspectos de mayor preocupación ante su proliferación en el lago, la primera es la evapotranspiración (disminución de la columna de agua) y la segunda su ciclo de vida natural (al morir incrementa la cantidad de materia orgánica, sedimentos en el lago y disminuye el oxígeno disuelto); a causa de esto su control y erradicación es compleja y costosa (González y col., 2010; Herrejón, 2013).



Figura 5. Presencia de lirio acuático en el lago de Pátzcuaro.

El lago de Pátzcuaro se encuentra en un proceso de degradación avanzado, por lo que ha perdido una gran cantidad de procesos ecológicos y evolutivos, lo cual será una actividad compleja de revertir y que llevará varias décadas para poder observar los primeros cambios notables, debido a esta grave problemática las especies endémicas están en un riesgo inminente de extinción, además de limitar los servicios eco-sistémicos del lago que actualmente soporta a los sectores económico, cultural y social, que podrían ser impactados seriamente en los próximos 20 a 30 años. Las acciones de manejo y conservación del lago son una tarea urgente y de suma importancia, para lo cual es necesario el trabajo en conjunto de diversas disciplinas académicas, y actores políticos, culturales y sociales para lograr su preservación (González y col., 2010; Herrejón, 2013).

# Capítulo II

# Marco Teórico

**2.1 Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)**

El lirio acuático (Figura 6) es una planta hidrófita libre, flotadora, que pertenece a la familia de las *Pontederiaceae* (Malik, 2018), en la Tabla 3 se describe su clasificación taxonómica.



**Figura 6.** Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*).

**Tabla 3.** Clasificación taxonómica de WH (Luna, 2011).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Commelinales
Familia	Pontederiaceae
Género	<i>Eichhornia</i>
Especie	<i>Eichhornia crassipes</i>

Es originaria de Sudamérica, específicamente de la zona amazónica en Brasil, al ser endémica de esta región, existen factores ambientales y biológicos que permiten la regulación de su población (Lindsey, Hirt, 2000); sin embargo, a causa del hombre esta se ha esparcido por diversas zonas tropicales a nivel mundial (Gunnarsson, Mattsson, 2007). Debido a su acelerado desarrollo se ha registrado una densidad de hasta 200 Ton ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> catalogándola como maleza nociva, lo cual ha atraído la atención a nivel mundial por el impacto ambiental, social y económico que ocasiona (Malik, 2018). Los intentos por controlarla acuática son costosos y temporales debido a su gran desarrollo (Gunnarsson, Mattsson, 2007); sin embargo, esta planta, permite la eliminación de contaminantes del agua y también puede ser utilizado como materia prima de diversas aplicaciones, entre ellas: alimentos funcionales, producción de biocombustibles, restauración de medio

ambiente (bio y fito-remediación), entre otras (Gunnarsson, Mattsson, 2007; Malik, 2018). Se desarrolla en cuerpos de agua con elevados niveles de nutrientes, así como también en suelos con una elevada humedad, es tolerante a elevados niveles de nutrientes en el agua y a variaciones de temperatura y pH; las condiciones ideales para su desarrollo son a pH de 6 a 8, temperatura de 1° C a 40° C (siendo su óptimo de 25° C a 27.5° C) y altas concentraciones de N<sub>2</sub>, sin embargo, elevados niveles de salinidad inhiben su crecimiento y humedad ambiental menor al 15% o mayor a 40% pueden limitar su desarrollo (Gokwavu, 2007).

### **2.1.1 Morfología**

El WH, es una planta perene de hojas verde brillante, flotadora, flores color violeta o amarillo y una raíz fibrosa que puede medir hasta 3 m de largo (Linddey, Hirt, 2000; Gokwavu, 2007), esta hidrófita está constituida por peciolos (tallos de hojas y estolones) los cuales favorecen su flotabilidad debido a que están llenos de aire y a partir de ellos se pueden generar nuevas plantas, contiene entre 8 y 15 flores y sus frutos son pequeñas cápsulas que en el interior almacenan hasta 450 semillas, su raíz fibrosa funcionan como una red para captar y absorber nutrientes y partículas suspendidas que aunado con el eficiente aprovechamiento de la luz solar, le proveen una elevada capacidad de desarrollo (Lindsey y Hirt, 2000). Las plantas jóvenes crecen cercanas a las orillas de los cuerpos de agua y se sujetan al suelo mediante su raíz; pero debido a su desarrollo y tamaño son desplazadas por el viento y puede agruparse formando balsas con extensión de hasta 45 ha (Linsey y Hirt, 2000).

### **2.1.2 Reproducción**

Su capacidad de reproducción puede ser asexual a partir de fragmentos de tallo y mediante estolones y/o sexual por el esparcimiento de sus semillas las cuales pueden permanecer viables para su germinación hasta por 20 años, dichos mecanismos dificultan el control de su desarrollo debido a la facilidad con la que se pueden realizar (Gunnarsson y Mattsson, 2007; Malik, 2018), su crecimiento es inicialmente de manera horizontal, hasta que la superficie del cuerpo de agua es cubierta y posteriormente tiene un crecimiento vertical alcanzando los 1.2 m desde la inflorescencia hasta la raíz, si las condiciones de un tiempo de duplicación entre 6 a 18 días en condiciones ideales de temperatura, humedad y nutrientes son ideales, tiene un tiempo de duplicación de entre 6 a 18 días, creciendo hasta 60 cm por mes y una producción de 200 Ton ha año<sup>-1</sup> base húmeda (Gakwavu, 2007).

### **2.1.3 Composición del lirio acuático**

La composición del WH (Tabla 4) ha sido estudiada durante los últimos 30 años, la cual depende de factores como edad de la planta, tamaño, estación y condiciones ambientales (temperatura, humedad, nutrientes, etc.),

además de las técnicas analíticas empleadas (Girisuta y col., 2008); su estructura está constituida principalmente por tres elementos los cuales se describen a continuación:

**Tabla 4.** Composición química de WH (Luna, 2011).

Muestra	C (%)	HM (%)	L (%)	C+H+L (%)	A (%)	E(%)
P. C.	21.5	33.9	6.0	61.4	11.1	27.5
T. y H.	31	22	7	60	15	25
P. C.	17.8	43.4	7.8	69	20.2	10.8
H	18	34	26.3	78.3	-	21.7
T. y H.	32	21	6.7	59.7	18.4	15.7
T. y H.	35	18.3	4.6	58	15.1	27
T. y H.	25.2	23.1	9.7	58	-	-
T. y H.	32	21	14	67	20	-
P. C.	18.2	48.7	3.5	70.4	-	-
P. C.	21.1	25.9	12	59	16.3	24.7
H	18.1	25	13.3	56.4	16.5	27.1
H	46.7	-	27.7	74.4	18.2	7.4
H	19.7	27.1	-	-	-	-
T. y H.	27.4	27.4	11.5	66.3	12.7	21
T. y H.	25	35	10	70	20	-

T: Tallo; H: Hoja; P.C.: Planta completa; C: Celulosa; HM: Hemicelulosa; L: Lignina; A: Azúcares; E: Extractables.

- 1) **Lignina:** Es un polímero aromático, amorfo, hidrófobo y de estructura tridimensional, compuesto por enlaces C-O-C y C-C; constituida por un complejo arreglo de unidades fenólicas, principalmente fenilpropano; su función es mantener las fibras unidas, dar rigidez y protección contra agentes externos (Rowell y col., 2005).
- 2) **Hemicelulosa:** es una serie de polisacáridos de bajo grado de polimerización y está conformado por D-glucosa, D-manosa, D-galactosa, D-xilosa, L-arabinosa, L-ramnosa y otros azúcares, además de ácido D-glucurónico, 4-O-metil-D-glucurónico y D-galacturónico; está ligada a la celulosa y actúa como compuesto estructural para la planta. (Sjöström, 1993; Ebringerová y col., 2005; Rowell y col., 2005).
- 3) **Celulosa:** es el componente orgánico de mayor abundancia a nivel mundial; está conformado por un polímero de glucanos constituido por unidades de glucosa unidas entre sí por enlaces glicosídicos; sin embargo, la unidad fundamental de la celulosa es la celobiosa, debido a que este se repite, está compuesta por moléculas de celobiosa y las fibras están orientadas de una forma aleatoria por lo que pueden formar puentes de hidrógeno intra e intermoleculares; debido a esta conformación se han observado diversos tipos de celulosa denominada como cristalina la cual está disponible y la no cristalina se encuentra cubierta por hemicelulosa y lignina limitando el acceso a los microorganismos; existen también las denominadas accesibles y no accesibles que hacen referencia a la facilidad con la que puede ser degradada por microorganismos (Rowell y col., 2005).

La composición del WH, tiene variaciones en su contenido lignocelulósico, en general la hemicelulosa presente es de  $28.0 \pm 9.5\%$  en base seca, siendo el polímero de mayor presencia, seguido por celulosa con un  $25.0 \pm 6.2\%$  en base seca y lignina  $11.5 \pm 7.4\%$  base seca; la variabilidad de los datos mostrados en la Tabla 5 se atribuye a la aplicación de distintos métodos analíticos, ubicación del cuerpo de agua, temporada de muestreo, parte analizada y estado de madurez. Las características físicas del WH están en función del estado de madurez, lo cual es poco reportado, debido a que se presentan variaciones en la porción de tallos, raíces y hojas, así como distribución del material lignocelulósico en cada una estas (Luna, 2011), en la Tabla 5 se muestran los distintos estados de madurez del lirio, así como sus características.

**Tabla 5.** Estados de madurez del lirio y sus características (Luna, 2011).

Madurez	Edad (meses)	Tamaño (cm)	Características
Joven	0 a 4	30 a 35	Tallo pequeño, hojas color verde claro de 5 a 6 cm.
Mediano	4 a 7	40 a 45	Tallo grueso y largo, hojas color verde intenso de 8 a 10 cm.
Maduro	7 a 11	60 a 70	Tallo delgado y largo, hojas color verde intenso grande de 12 a 15 cm.

**Tabla 6.** Humedad y sólidos totales para distintos estados de madurez del lirio (Luna, 2011).

Madurez	Parte	Sólidos totales (%)	Humedad (%)
Joven	Tallo	$9.84 \pm 0.4$	$90.16 \pm 0.40$
Mediano	Tallo	$8.89 \pm 0.2$	$91.11 \pm 0.20$
Maduro	Tallo	$3.78 \pm 0.16$	$96.22 \pm 0.16$
Joven	Hoja	$8.85 \pm 0.22$	$91.16 \pm 0.22$
Mediano	Hoja	$7.98 \pm 0.18$	$92.02 \pm 0.18$
Maduro	Hoja	$4.12 \pm 0.23$	$95.88 \pm 0.23$

El WH tiene hasta 95% de humedad, por lo que su secado permite conservarlo y evita la proliferación de patógenos, debido a que su composición de materia seca tiene elevado contenido de material lignocelulósico puede ser aprovechado para la obtención de biogás ((Alzamora y col., 2004; Guzmán y col., 2006; Sluiter y col., 2008). La composición lignocelulósica del lirio en función del estado de madurez es distinta, como se muestra en la Tabla 7, donde se observan variaciones considerables en las proporciones de sus componentes elementales (Luna, 2011).

Tabla 7. Composición del lirio en función del estado de madurez y parte analizada (Luna, 2011).

Madurez	Lignina (%)		Hemicelulosa (%)		Celulosa (%)		Cenizas (%)		Azúcares totales (%)	
	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo
Joven	6.75	2.43	18.18	25.68	33.55	20.93	13.87	21.13	16.6	18.06
Mediano	11.5	2.52	24.08	25.14	22.3	17.1	13.28	24.71	16.33	9.89
Maduro	17.16	7.53	22.87	27.91	19.93	14.63	11.46	18.08	19.94	35.73

2.1.4 Problemática ambiental

La tasa de desarrollo del WH es elevada (Figura 7), atribuido principalmente a la eutrofización de los cuerpos de agua, aunado a la ausencia de depredadores naturales y mecanismos de regulación ambiental, contribuye a su rápido esparcimiento (Charudattan,1997), el cual se considera una de las plantas con mayor producción en el mundo, así como de las peores plagas acuáticas, debido a que por su elevada densidad de desarrollo interfiere con diversas actividades humanas como: la navegación, recreación, irrigación y producción de energía, etc. (Labrada, 1996).



Figura 7. Obstaculización del lirio para la navegación en cuerpos de agua.

La presencia de WH impacta severamente actividades económicas como la pesca, debido a la disminución en la población de peces, dificulta el acceso a diversas zonas de los cuerpos de agua, daña instrumentos de trabajo y dificulta el traslado de barcos y lanchas incrementando el consumo de combustible; este problema tiene mayor preocupación en países donde solo existen cuerpos de agua continentales utilizados como fuente importante para desarrollo de alimentos (Charudattan, 1997); además de esto reduce la capacidad de auto regeneración de los cuerpos de agua al reducir la cantidad de luz disponible para la vegetación acuática limitando se llevan a cabo procesos fotosintéticos y la disminución oxígeno disuelto para la degradación de la materia orgánica y desarrollo de flora y fauna acuática (Gunnarsson, Mattsson, 2007).

Finalmente, debido a su actividad metabólica se acelera la evaporación, lo que ocasiona la disminución de la columna de agua. En México la Comisión Federal de Electricidad (CFE) ha desarrollado investigaciones enfocadas sobre los efectos del lirio y la relación existente con la evapotranspiración de los cuerpos de agua en comparación con aquellos no infestados; concluyendo que los cuerpos infestados tienen tres veces más pérdida por evapotranspiración a causa del WH respecto a aquellos desprovistos de esta maleza (Saldaña, Guadiana, 1976).



**Figura 8.** Invasión de lirio del lago de Pátzcuaro.

La presencia de WH en cuerpos de agua (Figura 8) se ha convertido en una problemática ambiental en diversas partes del mundo (Malik, 2018), afectando las poblaciones cercanas, debido a la facilidad con que pueden ser transportadas por el viento y pueden llegar a ser vectores de enfermedades como la malaria y esquistosomiasis; además de poder resguardar gran variedad de animales e insectos que pueden llegar a ser venenosos (Gunnarsson, Mattsson, 2007); por lo que es de suma importancia desarrollar estrategias que permitan controlar su desarrollo (Malik, 2018).

### 2.1.5 Métodos de control

En la zona del Amazonas, de donde es originario y es controlado mediante depredadores naturales y mecanismos ambientales de control, sin embargo, en el resto de países en donde ha sido esparcido, no se ha podido encontrar una solución eficaz para el control de su desarrollo (Lindsey, Hirt, 2000); de acuerdo a estas afirmaciones se puede decir que es una maleza compleja de erradicar, pero si puede ser controlado su desarrollo (Gutiérrez y col, 1997).



Figura 9. Extracción de lirio de cuerpo de agua infestado.

Tabla 8. Mecanismos de control de WH (Malik, 2018).

Método de control	Agente	Limitaciones
Físicos	Drenaje permanente del área afectada.	No siempre es factible
	Remoción manual o con redes.	Labor difícil, cansada y riesgos a la salud.
	Podadoras o cosechadoras acuáticas y dragas.	Alto costo, se requiere de equipo, vehículos y herramientas para la cosecha y el transporte.
Químicos	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético,	Alto costo, no son capaces de controlar infestaciones masivas y a largo plazo, provocan efectos secundarios.
	Complejo de cobre (2,4-D)	
	Aspersión de Amina 2,4-D	
	Endotal	
	Glifosfato	
Biológicos	Control clásico por insectos:	Control insuficiente y regeneración de WH y se encuentra en etapa de desarrollo.
	Plantas alelopáticas:	
	Polvo de Cassytha	
	Hongos patógenos:	

Se han implementado diversos tipos de métodos de control (Figura 9) entre los que destacan los métodos físicos, químicos y biológicos; actualmente la extracción manual o mecánica (Figura 8) y su posterior trituración son los métodos de control físico de mayor aplicación en México, sin embargo, el costo por hectárea puede ser

de hasta \$70,000. Durante los últimos años se ha tratado de emplear controles biológicos para el control de esta planta mediante la inserción de insectos, peces o microorganismos que puedan alimentarse a partir del lirio, pero el impacto que puede ocasionar esta acción no se ha sido estudiado de manera integral. Finalmente, los tratamientos químicos tienen mayor efectividad sobre el control de desarrollo del lirio, pero su aplicación causa efectos adversos sobre los ecosistemas donde son aplicados, al grado de llegar a ser prohibidos (Malik, 2018); en la Tabla 8, se muestran los tipos de tratamientos para el control de lirio y las limitantes de estos.

### 2.1.6 Usos y aplicaciones del lirio

A pesar de que se considera el WH como una plaga que solo causa efectos adversos en cuerpos de agua, se han buscado alternativas para su aprovechamiento, por lo que puede ser una fuente de biomasa y proteína para diversos procesos (Lindsey, Hirt, 2000; Malik, 2018).

- 1) **Agente de biorremediación:** la capacidad de desarrollo del WH en aguas con altos niveles de contaminación, puede favorecer la absorción y transformación de materia orgánica en el agua, además de adsorber metales pesados mediante sus raíces incorporándolos en sus sistemas enzimáticos; diversas investigaciones se han enfocado a la remoción de materia orgánica en aguas residuales de origen doméstico a través del WH obteniendo resultados positivos, aplicación que se ha extrapolado para su implementación en granjas e industrias logrando resultados alentadores (Malik, 2018; Gakwavu, 2007).
- 2) **Producción de bioetanol:** el incremento del costo en los combustibles fósiles y al ser un recurso energético finito y no renovable, ha surgido la necesidad de buscar fuentes alternas de energía eficientes y efectivas que permitan contribuir en satisfacer la demanda energética actual; en los últimos años los materiales lignocelulósicos han sido considerados como componentes que pueden ser transformados a etanol, particularmente debido al alto contenido celulosa en el WH ha sido considerado como una fuente de energía alterna, lo cual puede lograrse mediante un proceso de hidrólisis para la obtención de azúcares los cuales posteriormente son fermentados y finalmente el caldo resultante es destilado para la obtención del bioetanol (Nigam, 2002).
- 3) **Producción de composta:** otra alternativa de uso es el composteo, mediante la descomposición aerobia, lo cual se lleva a cabo mediante la descomposición biológica y a su vez la estabilización de los sustratos bajo condiciones apropiadas de pH, temperatura y humedad que permitan el desarrollo de los consorcios microbianos encargados de la degradación. El producto final debe ser estable, libre de patógenos, semillas, plantas y con un efecto benéfico al ser aplicado en la tierra (Gunnarsson, Mattsson, 2007).
- 4) **Producción de biogás:** el biogás es un combustible con una composición entre 50% y 70% de metano y el resto está constituido por dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno y agua entre otros componentes traza; el cual se produce naturalmente en los estómagos de rumiantes, en el fondo de los pantanos por la descomposición de materia orgánica y de igual forma en los vertederos de basura (Lindsey, Hirt, 2000); la producción de biogás se da bajo condiciones de anaerobiosis, la cual consiste en la degradación de la materia

orgánica ausencia de oxígeno y el biogás producido por este proceso puede ser empleado como recurso energético para uso doméstico y generación de energía eléctrica, transporte entre otros (Gunnarsson, Mattsson, 2007). El uso de biogás como recurso energético ocasiona un impacto ambiental y social menor respecto a los combustibles fósiles, además de la problemática actual sobre la disponibilidad de estos recursos energéticos, se ha considerado a la digestión anaerobia como una alternativa viable y eficiente para la producción de energía, por lo que debido a esto ha surgido la necesidad mejorar la eficiencia de este proceso (Gunnarsson, Mattsson, 2007). Particularmente para el WH, se han reportados altos rendimientos en la producción de metano al ser mezclado principalmente con desechos de animales, además de obtener un residuo con alto contenido de nutrientes que puede ser utilizado como biofertilizante (Malik, 2018).

Se han desarrollado diversas investigaciones con la finalidad de incrementar la producción de biogás a partir de WH mediante la estimulación de los consorcios microbianos, a través de la modificación de las condiciones de operación que incrementan la producción de biogás (Gunnarsson, Mattsson, 2007). Sin embargo, se tienen limitantes para el aprovechamiento del lirio; algunos de estas son el tamaño de los equipos, la baja eficiencia atribuido a su alto contenido de humedad y a las condiciones de pretratamiento críticas que requiere para modificar las fibras de lignina y hemicelulosa de la planta (Malik, 2018).

### 2.1.7 Situación del lirio acuático en México

La presencia de WH en México data desde aproximadamente la década de los años 80 la cual era una especie acuática común en la región del lago de Xochimilco; a inicio del año 2,000 se estimó que la superficie cubierta por lirio era de 150,00 ha, siendo los estados de Veracruz, Jalisco, Tabasco e Hidalgo, donde se tenía mayor presencia de esta planta al cubrir una superficie de hasta 75,000 ha (Gutiérrez y col. 1997; Gómez-Meléndez y col. 2000); actualmente se ha reportado la presencia de esta planta en 27 entidades de México entre ellas Michoacán; atribuido a la rapidez con que se desarrolla, su adaptabilidad a los hábitats dulceacuícolas localizados desde el nivel del mar hasta los 2250 m msnm, y al aporte de nutrientes contenido en los cuerpos de agua provenientes de aguas residuales urbanas e industriales y la erosión de los suelos de las cuencas (Gutiérrez y col., 1997; Rangel, 1997; Miranda, Lot, 1999). Su presencia en los cuerpos de agua mexicanos se encuentra entre 11 a 51 kg m<sup>-2</sup> equivalente a 0.62 a 2.87 kg m<sup>-2</sup> en peso seco, con tiempo de duplicación entre 7.4 y 46.5 días, debido a la problemática que ocasiona su presencia se creó el Programa de Control de Malezas Acuáticas (principalmente lirio y tule) el cual hace referencia al manejo y operación de la infraestructura hidráulica en presas, lagos, ríos y drenes, con un enfoque para erradicarlo y evitar la reinfestación de los cuerpos de agua por esta planta (Gutiérrez y col., 1997; Rangel, 1997); sin embargo, debido a los escasos resultados obtenidos por la implementación de este programa, en 2010 se creó la “Estrategia Nacional Sobre Especies Invasoras en México”, la cual tuvo una visión de 10 años para consolidar sistemas de prevención, control y erradicación, así como coordinar la participación y el trabajo de diversas instituciones para lograr el objetivo,

sin embargo, esto no ha sido posible por diversas causas entre la que destaca la falta de recurso económico para la adquisición de maquinaria para su recolección y procesamiento (CANEI, 2010).

## 2.2 Anaerobiosis

La anaerobiosis (Figura 10) es un proceso de degradación natural de la materia orgánica (MO) mediante consorcios microbianos en ausencia de oxígeno, teniendo como aceptores de electrones del metabolismo nitratos, sulfatos o compuestos orgánicos, (Rodríguez, 2013), durante este proceso la materia orgánica se utiliza como sustrato (biomasa) y se transforma en biogás y microorganismos; en la última década la implementación de este proceso como tecnología para el tratamiento de aguas residuales ha sido mayor en comparación con otros procesos de tratamiento fisicoquímico o biológico (aerobio), el resultado de su implementación es la producción de biogás, el cual es útil como recurso energético y así como el lodo biológico generado es empleado como biofertilizante, debido a su alto contenido de fósforo, nitrógeno, potasio, entre otros elementos traza (S, Ca, Mg, etc.) (Bermúdez y col. 2003), a partir de la implementación de este proceso se pueden tratar aguas residuales o MO con elevada carga orgánica que puede ser tratados eficientemente por métodos convencionales (aerobios) debido al elevado costo (Nguyen y col., 2021); para poder lograr la degradación eficiente de la MO se deben controlar ciertos factores, como parámetros fisicoquímicos, temperatura y tiempo de residencia hidráulico (THR por sus siglas en inglés) (Menardo y col., 2011).

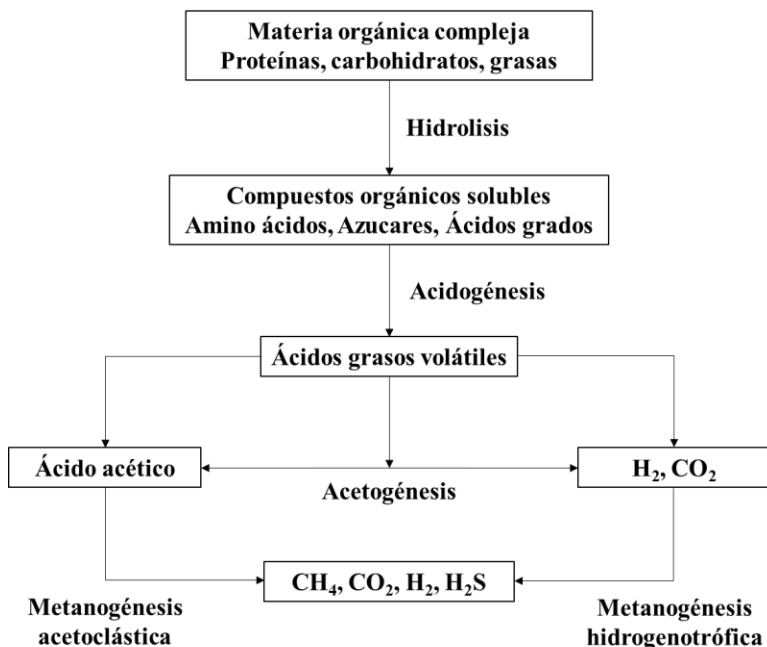
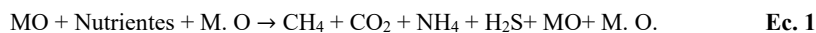


Figura 10. Etapas del proceso anaerobio.

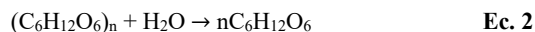
Esta tecnología tiene diversas ventajas entre las que destacan: no se requiere el suministro de oxígeno, disminución del consumo energético, bajo volumen de lodos generados (0.1 a 0.4 kg Biomasa kg DBO<sup>-1</sup><sub>consumida</sub>), recuperación de energía mediante la producción de biogás con alto contenido de metano, bajos costos de mantenimiento y operación; sin embargo, se presentan las siguientes desventajas: contenido de ácido sulfhídrico en el biogás, equipos con grandes dimensiones, THR prolongados y alta inversión inicial (Terreros y col., 2009); cabe hacer mención que el prolongado THR es atribuido al proceso de degradación de MO compleja hasta metano debido a que se realiza mediante un consorcio bacteriano constituido por una cadena trófica compleja y equilibrada (Ec. 1).



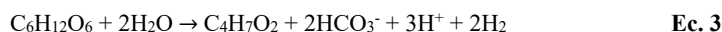
### 2.2.1 Etapas de la anaerobiosis

Diversos autores hacen referencia que el proceso anaerobio se constituye de tres etapas consecutivas al considerar como una sola etapa la acidogénesis y acetogénesis, pero visto de un modo más detallado, este proceso biológico está comprendido mediante cuatro etapas (Figura 9) (Gerardi, 2003) que se describen a continuación:

**1) Hidrólisis:** se desarrolla mediante un consorcio de bacterias anaerobias que hidrolizan la materia orgánica compleja (proteínas, carbohidratos, lípidos) hasta monómeros solubles (aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, glicerol), los cuales son utilizados por el siguiente grupo trófico; esta fase es relativamente lenta y puede ser la etapa limitante de la digestión anaerobia (Ec. 2) (ej. *Clostridiud*, *Staphylococcus* y *Bacteroides*).



**2) Acidogénesis:** es la conversión de los monómeros en ácidos orgánicos (ácidos grasos volátiles) (láctico, succínico, etc.), alcoholes, cetonas (metanol, etanol, glicerol, acetona), CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> (Ec. 3).

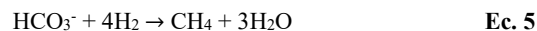


**3) Acetogénesis:** en esta etapa se convierten los ácidos grasos, alcoholes y cetonas en acetatos, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>, que posteriormente son utilizados por el consorcio metanogénico; este grupo requiere presiones parciales de H<sub>2</sub> para lograr la conversión de los ácidos grasos volátiles (AGV's) (Ec. 4); cuando la presión es relativamente alta, la formación de acetato se reduce y los AGV's son transformados a etanol.



**4) Metanogénesis:** las arqueobacterias metanogénicas son las más sensibles a la presencia de O<sub>2</sub>; estas no son capaces de degradar MO compleja y su metabolismo energético está dirigido a la producción de CH<sub>4</sub> como único producto; su desarrollo es lento con tiempos de generación desde 3 días a 35° C hasta 50 días a 10° C; estas se subdividen en dos categorías:

a) Metanogénicas hidrogenotróficas (Ec. 5) (1/3 del CH<sub>4</sub>). *Methanobacterium*, *Methanospirillum*.



- b) Metanogénicas acetotróficas o acetoclásticas (Ec. 6) (2/3 del CH<sub>4</sub>). *Methanosarcina*, *Methanosaeta*.



5) **Sulfato-reductoras:** compiten con las metanogénicas por el sustrato con cinéticas de consumo más eficiente, lo cual ocasiona la disminución en el rendimiento de producción de CH<sub>4</sub> e incrementa el contenido de H<sub>2</sub>S en el biogás (Jönsson, 2016).

### 2.2.2 Factores que afectan la anaerobiosis

El proceso de anaerobio tiene una naturaleza biológica tal que el mecanismo de transformación se ve afectado por factores que reducen su eficiencia, debido a la inhibición parcial o total de los consorcios microbianos, los factores que mayor impacto tienen son los siguientes:

- a) **Oxígeno:** la mayoría de los consorcios bacterianos del proceso anaerobio son anaerobios facultativos, por lo que no se ven afectados en presencia de O<sub>2</sub>; sin embargo, las bacterias metanogénicas son anaerobias estrictas, cuya actividad es inhibida con cantidades mínimas de O<sub>2</sub>, no obstante, cuando el lodo anaerobio se encuentra granulado estas se pueden ubicar en el centro del gránulo y esto evita se vean afectada por la presencia de O<sub>2</sub> (Jönsson, 2016).
- b) **pH:** La gran mayoría de las bacterias tienen la capacidad de desarrollarse en un pH de 3, sin embargo, el pH óptimo para su desarrollo está entre pH de 6.5 a 7.5; para las bacterias metanogénicas son el valor óptimo de pH es próximo a la neutralidad y ligeramente alcalino. En cada etapa del proceso los microorganismos presentan una actividad máxima en un intervalo de pH diferenciado: bacterias hidrolíticas y acidogénicas entre 6.5 y 7.8; bacterias acetogénicas entre 6.8 y 7.8 y bacterias metanogénicas entre 7.0 y 7.8. (Wills, 2005; Mirmohamadsadeghi y col., 2019).
- c) **Temperatura:** Es un factor que puede afectar de manera considerable el proceso, debido a que puede favorecer o reducir la actividad bacteriana y su tiempo de reproducción. Se tienen clasificados tres intervalos de temperatura (Tabla 9) los cuales tienen efectos sobre cada grupo bacteriano; Pueden ser considerados tres intervalos de temperatura:

Tabla 9. Intervalos de temperatura.

Tipo	Temperatura (°C)
Psicrófilo	5 a 20
Mesófilo	20 a 45
Termófilo	45 a 65

El aumento de la temperatura incrementa considerablemente la tasa de hidrólisis, la velocidad de crecimiento bacteriano y la producción de biogás. El mantener la temperatura en un intervalo de trabajo termófilo se asegura la destrucción de patógenos; sin embargo, este intervalo de temperatura tiene sus ventajas, pero a su vez se requiere un mayor control y seguimiento del proceso, debido a que el nitrógeno amoniacal contenido en el medio se comporta como un inhibidor (Chacón, 2007). El intervalo psicrófilo ha sido poco estudiado, y en general se considera poco viable debido al gran tamaño del reactor que sería utilizado; sin embargo, presenta menores problemas de estabilidad que en los otros intervalos de operación. El intervalo de temperatura mesofílico es el más utilizado, su aplicación incrementa la velocidad del proceso (aumento en la degradación de MO y la producción de biogás) así como una mejor eliminación organismos patógenos de manera eficiente (Wills, 2005; Mirmohamadsadeghi y col., 2019).

- d) Sustancias tóxicas:** el proceso de digestión anaerobia puede ser inhibido en mayor o menor grado por sustancias tóxicas presentes en el proceso, como por la acumulación de productos intermedios del metabolismo bacteriano,  $H_2$ ,  $H_2S$ ,  $NH_3$ , sustancias contenidas en el sustrato alimentado o adicionadas accidentalmente al proceso (detergentes, desinfectantes, antibióticos, agentes químicos, etc.).
- e) AGV's:** el proceso anaerobio puede desestabilizar cuando se incrementa la concentración de AGV's en cortos lapsos de tiempo, lo podría inhibir totalmente la actividad metanogénica por la acidificación del medio a causa de estos compuestos orgánicos; por lo que la concentración de AGV's del proceso debe mantenerse en niveles bajos, debido a su incremento por encima de la capacidad amortiguadora del sistema tiene un efecto inhibidor de algunos grupos bacterianos anaerobios; Díaz y col., (2016) mencionan que la concentración debe ser menor a  $250 \text{ mg L}^{-1}$ , sin embargo, Tchobanoglous y col., (1994), consideran que para el proceso de digestión anaerobia de aguas residuales el valor máximo debe ser de  $700 \text{ mg L}^{-1}$ .
- f) Alcalinidad:** el contenido de alcalinidad en el proceso anaerobio es de gran importancia, ya que evita la acidificación del medio, lo cual favorece el metabolismo bacteriano; el consorcio acidogénico tienen un metabolismo más rápido que el consorcio metanogénico, lo cual puede ocasionar la acidificación del medio y reduce la producción de biogás (Terry y col., 2008). La alcalinidad se mide en  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  debida a la presencia de iones bicarbonato en el medio de reacción (Caicedo, 2006); Sandoval y col., (2007) reportaron que la concentración de alcalinidad puede estar entre  $12,000\text{-}18,000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  sin ocasionar desequilibrios en el sistema.

- g) Carga orgánica:** es contenido de MO suministrada al proceso anaerobio, esta puede ser cuantificada mediante la Demanda Química de Oxígeno (DQO) la cual es una estimación indirecta de la MO y se determina a través del consumo de oxígeno requerido para la oxidación de MO e inorgánica por medio de un agente oxidante fuerte. En condiciones controladas del proceso anaerobio, la remoción de DQO puede relacionarse con la cantidad de biogás producido, es decir, a mayor disminución de DQO mayor generación de biogás. (Caicedo, Marín, 2006; Metcalf, Eddy, 2003; Mirmohamadsadeghi y col., 2019). Se han desarrollado trabajos para la degradación anaerobia de aguas residuales en los cuales se recomiendan cargas de DQO iniciales a partir de 0.3 a 0.5 kg DQO Kg SSV<sup>-1</sup> y para un proceso estable se puede alcanzar hasta 2.0 kg DQO kg SSV<sup>-1</sup> (Muñoz, Chaparro, 2014).
- h) Composición del sustrato:** la presencia de nutrientes y micronutrientes puede favorecer el metabolismo y reproducción de los consorcios microbianos, entre los nutrientes inorgánicos esenciales se encuentra N, S, P, K, Mg, Ca, Fe, Na y Cl, además de Zn, Mn, Se, Co, Cu, Ni, W como micronutrientes; estos últimos pueden estimular el crecimiento, sin embargo, su exceso puede inhibir el metabolismo bacteriano. La relación carbono-nitrógeno (C/N) permite mantener un equilibrio entre los nutrientes de mayor requerimiento por el consorcio anaerobio, la relación óptima recomendada es de 20 a 35, debido a que los microorganismos consumen de 15 a 30 veces más carbono que nitrógeno; si la relación C/N es alta (mayor de 35) la biodegradación se verá limitada por la carencia de nitrógeno debido a que será consumido rápidamente y a su vez se reduce la producción de biogás; si la relación es baja (menor de 5) el nitrógeno excedente es liberado como amoníaco y puede inhibir el metabolismo microbiano a causa del incremento de pH, cabe mencionar que esté en baja concentración favorece el proceso anaerobio, debido a que es un nutriente necesario y cuando la concentración es alta inhíbelo etapa de metanogénesis; la concentración recomendada de nitrógeno amoniacal debe estar entre 600 a 900 mg L<sup>-1</sup>, la cual contribuye en mantener la alcalinidad y estabilidad del proceso, por lo contrario, si la concentración excede los 1,500 mg L<sup>-1</sup>, puede inhibir el metabolismo microbiano a causa del incremento de pH y detener la producción de biogás debido a que es tóxico para los microorganismo metanogénicos (Tchobanoglous y col., 1994; Caicedo, Marín, 2006; Mirmohamadsadeghi y col., 2019).
- i) Relación C/P:** el uso de fósforo en el consorcio microbiano permite que su metabolismo se lleve a cabo, además de contribuir en la reproducción celular; este nutriente es consumido como fosfato; sin embargo, al ser un nutriente limitante y tener baja solubilidad no puede ser consumido fácilmente y su disponibilidad mediante la relación de carbono- fósforo (C/P) debe estar entre 100 a 150 Tchobanoglous y col., 1994; Caicedo, Marín, 2006).

La naturaleza y composición del sustrato influyen sobre la constitución de la población bacteriana y establece un equilibrio, el cual puede ser alterado fácilmente cuando un agente tóxico está presente e inhiba el desarrollo de los microorganismos; particularmente en las fases de hidrólisis y acidogénesis los microorganismos son anaerobios facultativos y para las fases acetogénesis y metanogénesis son anaerobios estrictos, además de tener tasas de crecimiento 5 veces menor, por lo tanto, se debe tener especial cuidado

debido a que se puede ocasionar la inhibición parcial o total de su metabolismo y consecuentemente la producción de biogás ante la presencia de agentes tóxicos.

### **2.2.3 Inóculo anaerobio**

Las características de cada inóculo son particulares y son definidas por el tipo de proceso y sustrato; se han implementado una gran variedad de inóculos en diversos procesos anaerobios utilizando sustratos como: estiércol de ganado, residuos de la industria azucarera, cervecera o papelera principalmente; si el inóculo tiene una capacidad metanogénica específica alta, el proceso podrá estabilizarse en un corto periodo de tiempo y la eficiencia de remoción y producción de biogás incrementaría, además de mejorar la calidad del inóculo y su diversidad microbiana (De Zeeuw, 1984). Existe una relación simbiótica equilibrada entre los distintos consorcios bacteriano presente en el inóculo y que puede ser alterada por la presencia de microorganismos competitivos o por fallas operacionales del proceso (toxicidad, sobrecarga de MO, deficiencia de nutrientes, etc.) (Castro, Foster, 2020); sin embargo, las bacterias anaerobias poseen la facultad de agruparse en gránulos, formando una estructura compacta y porosa durante la etapa de arranque y estabilización como mecanismo de protección ante agentes externos químico, físicos o biológicos (Sponza, 2001; Mirmohamadsadeghi y col., 2019); en estos microambientes cohabitan diversas especies de bacterias anaerobias de diversos morfo tipos, los cuales llevan a cabo la transformación de la MO, estas estructuras tienen un tamaño aproximado de 1 a 3 mm de diámetro, de forma semiesférica constituida por tres capas, la primera ubicada en el centro del gránulo se encuentran las bacterias metanogénicas siendo su principal rol la creación de un ambiente anaerobio, en la capa intermedia se ubican las bacterias acetogénicas y finalmente en la capa superficial las bacterias hidrolíticas y acidogénicas las cuales son facultativas, en los espacios localizados entre cada una de las etapas son ocupados principalmente por sustancias poliméricas extracelulares (EPS), que ayudan a mantener la unión entre las bacterias; de manera conjunta los consorcios bacterianos forman gránulos que posean una alta actividad biológica, así como una elevada velocidad de sedimentación (Metcalf, Eddy, 2003; Castro, Foster, 2020; Mirmohamadsadeghi y col., 2019).

### **2.3 Prueba de potencial bioquímico de metano**

La prueba de potencial bioquímico de metano (BMP por sus siglas en inglés) (Figura 11) es un ensayo tipo batch, mediante el cual se evalúa la viabilidad de degradación anaerobia de un sustrato para la producción de biogás bajo condiciones controladas de operación; existen lineamientos específicos establecidos por Angelidaki y col., (2009).

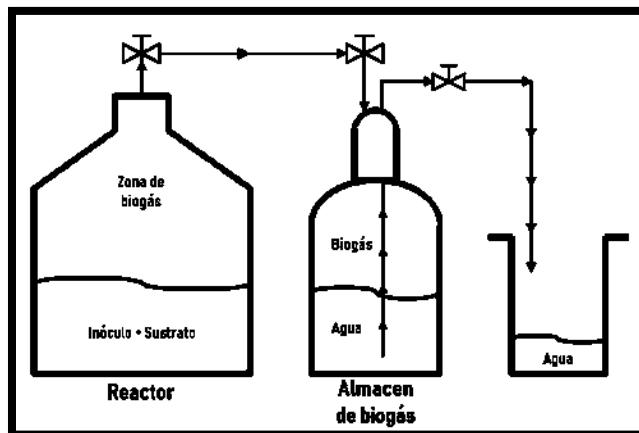


Figura 11. Diagrama del reactor batch en la prueba BMP.

### 2.3.1 Sustrato

La muestra de sustrato a evaluar deberá ser representativo de la zona donde se toma y se deberá mostrar la evidencia necesaria para demostrar su representatividad, se recomienda evitar su almacenamiento y es ampliamente recomendado su uso inmediato para evitar la alteración de sus propiedades; si el material contiene material indeseable (plástico, madera, arena, etc.) se recomienda su remoción así como su traslado y almacenamiento temporal a temperatura de al menos 40° C, pero no menores a -20° C; si el sustrato requiere un proceso de pretratamiento deberá ser detallado paso por paso, con la finalidad de que las condiciones del sustrato en la prueba BMP puedan ser replicadas.

La caracterización deberá ser minuciosa mediante la evaluación de los parámetros fisicoquímicos de pH, conductividad, alcalinidad, relación  $\alpha$ , AGV's, nitrógeno total, fósforo total, contenido de sólidos totales (ST), sólidos volátiles totales (SVT) y demanda química de oxígeno (DQO); para el caso de un sustrato lignocelulósico es importante conocer el contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa particularmente para sustratos provenientes de cultivos energéticos y de ser posible un análisis de la composición elemental (C, H, O, N, S, P, K) del sustrato. El tamaño de partícula del sustrato es un parámetro relevante en la velocidad de producción de biogás, por lo que es recomendable estandarizar el tamaño de partícula del sustrato, además de facilitar la reproducibilidad de la prueba (Angelidaki, 2009; Pérez y col., 2009; Pabon-Pereira y col., 2009).

### 2.3.2 Inóculo

El inóculo debe ser “fresco” y proveniente de un reactor anaerobio activo, en el cual se trate un sustrato similar al que se desea probar, deberá ser contar con una composición microbiana diversa para asegurar que tenga la capacidad de poder degradar el sustrato a evaluar; en caso de que el inóculo sea de baja calidad, puede

ser mezclado con estiércol u otro tipo de inóculo para enriquecer su diversidad microbiana; también es recomendable que esté adaptado a regímenes de operación mesófilo o termófilo para asegurar su actividad metabólica y en función a la temperatura que se desarrollara la prueba BMP. La calidad del inóculo deberá ser verificada mediante pruebas fisicoquímicas de pH, alcalinidad, AGV's, nitrógeno y fósforo, los valores recomendados para cada parámetro son los siguientes:

pH: > 7.0 y < 8.5

AGV's: > 1.0 g CH<sub>3</sub>COOH L<sup>-1</sup>

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: < 2.5 g N-NH<sub>4</sub> L<sup>-1</sup>

Alcalinidad: > 3.0 gCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>

El inóculo deberá ser degasificado mediante su preincubación, con la finalidad de agotar la MO residual que pueda contener, se recomienda que sea a la temperatura del proceso donde fue obtenido, se recomienda mantener en estas condiciones en un periodo entre 2 a 5 días, además de favorecer su degasificación y reducir la probabilidad de error en la medición de biogás posterior, finalmente se recomienda que no sea lavado para la remoción de sustrato residual o materia orgánica e inorgánica (Holliger, 2016).

Finalmente, se deberá cuantificar la capacidad metanogénica endógena a partir del consumo de acetato y celulosa y será aceptado para la prueba BMP si su producción máxima es de 0.1 g CH<sub>4</sub> g SSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> y 0.3 g CH<sub>4</sub> g SSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> respectivamente. El volumen a utilizar de inóculo es relativo y puede variar, esto dependerá de la actividad microbiológica, concentración del inóculo y sustrato y su biodegradabilidad (Neves y col., 2004; Angelidaki, 2009), el volumen de inóculo a utilizar puede ser determinado mediante la Ec. 8:

$$V_{inóculo} = \frac{X_{SS}V_{ww}k_h}{SSV_{inóculo} \cdot SMA_{inóculo}} \quad \text{Ec. 8}$$

Donde:

X<sub>SS</sub> es la concentración de sustrato hidrolizable (g L<sup>-1</sup>); V<sub>ww</sub> es el volumen de agua en la prueba (L); k<sub>h</sub> es la constante de hidrólisis de primer orden (d<sup>-1</sup>); SSV<sub>inóculo</sub> es el contenido de SSV del inóculo (g SSV L<sup>-1</sup>) y SMA<sub>inóculo</sub> es la actividad específica del inóculo (g CH<sub>4</sub> g SSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>).

Ocasionalmente, la adición de nutrientes, micronutrientes y vitaminas son necesarias para la óptima función de los microorganismos anaerobios; esto es comúnmente utilizado para distintos tipos de sustratos sólidos y cultivos energéticos, los cuales pueden tener deficiencia en algunos micronutrientes. El medio básico para el proceso anaerobio es descrito por Angelidaki y col., (2009) en el artículo "Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays"

### 2.3.3 Prueba BMP

Los recipientes que se utilicen como reactores BMP (Figura 11) deberán tener la capacidad volumétrica que permita la homogeneización del sustrato y el inóculo además de mantener un volumen superior suficiente para la captura de biogás, cuando el sustrato es homogéneo se puede llevar a cabo la prueba BMP en recipientes con un volumen menor a 100 mL y si el sustrato es heterogéneo el volumen recomendado es de >500 mL y < 2,000 mL; el volumen de trabajo para este último tipo de sustrato deberá ser entre 400 y 500 mL y por lo menos del reactor batch deberá tener el doble del volumen de trabajo, también deberán poder ser sellados herméticamente y únicamente podrán tener una conexión en la parte superior que permita la salida del biogás generado y enviarlo hacia el sistema de captación y cuantificación por desplazamiento de líquido; se recomienda que para el desarrollo de la prueba BMP se tenga el menor contacto posible con una atmósfera de aire o en su defecto realizar una purga con una mezcla de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> (20-40% CO<sub>2</sub>, y el resto de N<sub>2</sub>; v/v) con la finalidad de evitar variaciones en el balance de carbono (Holliger y col., 2016).

El contenido de SV debe estar entre 20 a 60 g SVT L<sup>-1</sup> en todos los reactores, si es necesario realizar la dilución del inóculo o sustrato se debe utilizar agua desionizada y el contenido de SVT en el inóculo debe ser mayor respecto al sustrato, para reducir la probabilidad de acidificación del medio o inhibición del proceso. Para la validación de la prueba BMP se deberá colocar un control positivo, el cual permitirá validar la actividad metanogénica con un sustrato estandarizado como celulosa microcristalina o tributirina.

La prueba BMP podrá ser desarrollada bajo condiciones mesófilas o termófilas, de manera tal que las variaciones de temperatura no tengan influencia sobre la prueba; sin embargo, el almacenamiento del biogás puede llevarse a cabo a distinta temperatura; los reactores BMP deben ser incubados a una temperatura controlada con variación máxima de  $\pm 2^\circ \text{C}$ , y se debe evitar los cambios de temperatura para la medición de biogás; los intervalos recomendados para llevar a cabo la prueba son de  $37^\circ \text{C}$  (mesofílico) y  $55^\circ \text{C}$  (termofílico), los reactores batch deben agitarse manual o mecánicamente de manera moderada, para incrementar el contacto entre el inóculo y el sustrato además de permitir la liberación del biogás contenido en la mezcla.

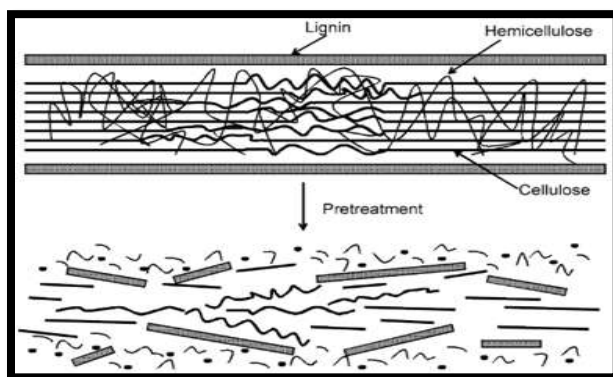
La producción de biogás puede ser medida por diferentes técnicas, por ejemplo: volumetría, manométrica o cromatografía de gases; las primeras dos técnicas deberá ser cuantificada la composición del biogás mediante cromatografía de gases con detección de conductividad térmica; este método de evaluación de la composición puede ser omitida cuando en el sistema de captación es utilizada una solución alcalina para la remoción de CO<sub>2</sub>, donde solo se cuantificará el volumen de metano generado; finalmente para mantener la homogeneidad los datos de biogás producido se recomienda tomar la presión y temperatura al momento de realizar la medición, que posteriormente será ajustada a condiciones estándar de operación (273.15 K y 101.33 kPa) (Angelidaki y col., 2009; Holliger y col., 2016).

### 2.3.4 Recopilación y análisis de datos

El reporte de los datos debe ser lo más detallado posible, en el cual se debe incluir una descripción detallada de las condiciones fisicoquímicas del sustrato y del inóculo, las condiciones de desarrollo de la prueba y el gráfico de producción de metano en la prueba BMP, el control positivo y el control negativo, los volúmenes de metano deberá ser reportado en condiciones estándar de operación ( $\text{NmL CH}_4 \text{ g SVT}^{-1}$ ) y es recomendable realizar una evaluación estadística para determinar las mejores condiciones en que se produce el mayor volumen de metano; finalmente los resultados obtenidos se recomiendan comparar con trabajos similares para poder observar las variaciones existentes entre cada prueba y posteriormente estos resultados pueden ser reportados en revistas de aporte científico (Holliger y col., 2016).

## 2.4 Pretratamientos

Los pretratamientos (Figura 12) son una herramienta de gran utilidad para el acondicionamiento y mejoramiento de la materia orgánica, particularmente para aquellos residuos de composición lignocelulósica y materiales recalcitrantes; su aplicación favorece la mejora la producción de biocombustibles a partir de bioprocesos, debido a la aplicación de estos pretratamientos se hidroliza la materia orgánica ocasionando el aumento de la biodisponibilidad de los nutrientes para ser consumidos por microorganismos o enzimas (Seidl, Goulart, 2016; Amin y col., 2017). Los pretratamientos se clasifican en físicos, químicos, térmico y biológico, sin embargo, se ha reportado que su aplicación es costosa por el gran consumo de energía, además de que debido a las condiciones críticas en las que se llevan a cabo requieren equipos especializados los cuales resultan ser costos, así como también los tiempos prolongados de pretratamientos son algunas de las desventajas que tiene su aplicación, por lo que en los últimos años se ha buscado el desarrollo de procesos de pretratamientos que sean económicos y de corto tiempo de aplicación, sin comprometer la eficiencia de su aplicación (Rabemanolontsoa, Saka, 2016; Amith y col., 2020).



**Figura 13.** Estructura de la materia lignocelulósica sin pretratamiento y con pretratamiento (Fuente: Chaturvedi y col., 2013).

### 2.4.1 Pretratamiento físico

Los métodos de pretratamiento físico, puede ser aplicado a partir de la molienda, principalmente mediante el cual se puede incrementar la accesibilidad a los polímeros hidrolizables contenidos en materiales lignocelulósicos. La molienda mecánica causa la reducción del tamaño de partícula y su aplicación causa la ruptura de las fibras de lignina y hemicelulosa e incrementa el área superficial, la cual provee de un mejor contacto entre el sustrato y las bacterias; se ha reportado que la reducción del tamaño de partícula favorece el consumo de DQO, pero se reduce la producción de biogás en el proceso anaerobio, por lo que es importante mantener el control en el tamaño de partícula resultante de la molienda (Paudel y col., 2017; Kumari y col., 2018). Este método de pretratamiento es comúnmente aplicado sobre residuos lignocelulósicos, debido a que favorece el control sobre el tamaño de partícula que a su vez mejora la producción de biogás y el contenido de metano; sin embargo, la excesiva reducción del tamaño de partícula puede casuar la acidificación del proceso anaerobio, debido a que el incremento del área superficial facilita la hidrólisis de la materia orgánica y su posterior transformación rápidamente en AGV's, los cuales si su producción es más rápida que su consumo se causaría su acumulación ocasionando la disminución del pH y consecuentemente la inhibición parcial o total de las etapas acetogénicas y metanogénicas (Karthikeyan y col., 2018; Mirmohamadsadeghi y col., 2019; Amith y col., 2020). Además, el uso de la molienda como pretratamiento tiene un elevado consumo energético, por lo que resulta ser costoso y en ocasiones no es viable para su implementación en los procesos (Amin y col., 2017).

### 2.4.2 Pretratamiento químico

Los pretratamientos químicos son aplicados con mayor frecuencia que un pretratamiento mecánico o biológico, debido a que tienen mayor efecto sobre la biodegradación de la materia orgánica compleja; estos tratamientos son comúnmente aplicados sobre materiales lignocelulósicos provenientes de la agricultura mediante el uso de ácidos como sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), clorhídrico (HCl), acético ( $CH_3COOH$ ) y agentes alcalinos como hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), óxido de calcio (CaO) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Amin y col., 2017).

#### 2.4.2.1 Pretratamiento ácido

El pretratamiento ácido causa la ruptura de los enlaces de Van der Waals, puentes de hidrógeno en la biomasa, su aplicación ocasiona la desintegración y lisis celular, lo que resulta en la reducción del contenido de hemicelulosa a partir del uso de ácidos en altas o bajas concentraciones y regularmente se combina con altas o bajas temperaturas; la combinación de ácido a baja concentración y alta temperatura (160 a 220° C) la hemicelulosa es hidrolizada en monómeros de azúcares, causando el incremento de la porosidad y mejorando la digestión enzimática de la celulosa y puede incrementar hasta 16% la producción de biogás, este tipo de

pretratamiento no afecta significativamente el contenido de lignina y celulosa; sin embargo este pretratamiento causa la formación de furfural e hidroximetil furfural, los cuales son inhibidores del proceso anaerobio (Chaturvedi V y col., 2013; Amith A y col., 2020)). El uso de un ácido concentrado fuerte como HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> combinado con una baja temperatura (< 160° C) se hidroliza completamente la celulosa y hemicelulosa, con lo cual se logra un alto rendimiento de formación de monómeros de azúcar, sin embargo, su principal desventaja es el alto costo de los ácidos y el sustrato pretratado requiere ser neutralizado para su uso en un proceso anaerobio (Seidil y Goulart, 2016; Tian y col., 2018).

#### 2.4.2.2 Pretratamiento alcalino

El pretratamiento alcalino involucra la adición de bases a la materia orgánica, se causa principalmente la solvatación, saponificación, hinchazón de las fibras, disminución del grado de cristalización, ruptura de las fibras de lignina y la remoción de los grupos ácidos en la hemicelulosa lo que favorece el acceso de las enzimas para su degradación; la efectividad del pretratamiento alcalino está en función del contenido de lignina en la materia orgánica, si la materia orgánica tiene bajo contenido de lignina el resultado obtenido será mejor que cuando tiene alto contenido de lignina (Chaturvedi y col., 2013; Ariunbaatar y col., 2014; Amin y col., 2017;). El uso de NaOH y KOH es más comúnmente utilizado por la mejora que presentan en la digestión de la materia orgánica; se ha reportado que el pretratamiento con NaOH puede incrementar hasta 73.4% su consumo, además de incrementar la producción de biogás y el contenido de metano; el uso de KOH para el pretratamiento alcalino a una concentración de 2.5% incrementa hasta 95.5% la producción de biogás respecto a materia orgánica lignocelulósica sin pretratar, sin embargo, la presencia de este puede causar la formación de compuestos tóxicos a los microorganismos en conjunto con el impacto ambiental que puede causar y su alto costo podría no ser considerado como una opción viable para el pretratamiento alcalino (Rabemanolontsoa, Saka S, 2016; Tian y col., 2018; Amith y col., 2020).

El uso de CaO como agente químico para el tratamiento químico es comúnmente utilizado y ha sido considerado debido a su bajo costo, alta disponibilidad, la seguridad con la que puede ser utilizado y tiene mínimo efecto sobre el ambiente, también debido a su baja solubilidad puede ser fácilmente recuperado y causa la mínima degradación de azúcares en los materiales lignocelulósicos y si el pretratamiento se realiza con adición de oxígeno o aire se causa mayor degradación de lignina cuando el contenido de esta es bajo. Se ha reportado que su uso favorece incrementa hasta 39.7% el rendimiento de producción de metano en materiales lignocelulósicos a concentraciones de 2.5% de Ca(OH)<sub>2</sub>; se ha reportado que las condiciones óptimas de pretratamiento de materiales lignocelulósicos con CaO es a una temperatura de 110° C, presión de 6.89 bar , 0.248 g Ca(OH)<sub>2</sub> g biomasa -1 durante 240 minutos con dichas condiciones se podría incrementar hasta 26% los niveles de reducción de azúcares y materia orgánica cruda (Chaturvedi y col., 2013; Bali y col., 2015; Amin y col., 2017).

Como se ha observado los pretratamientos requieren agentes químicos en el mayor de los casos resultan ser costosos y tienen efectos adversos sobre el proceso anaerobio así como en el medio ambiente, estos pretratamientos regularmente son combinados con altas temperaturas ( $> 110^{\circ}\text{C}$ ) durante prolongados tiempos de reacción mediante equipos especializados que permitan alcanzar dichas condiciones, aunado a esto si es necesario aplicar un proceso de molienda al material lignocelulósico para mejorar el efecto de los pretratamientos químico y térmico resultaría ser costoso por el elevado consumo de energía que se requiere y el alto costo en la adquisición de un equipo que permita realizar la molienda y mantener un intervalo similar en el tamaño de partícula, hacen necesario el desarrollo de un proceso de pretratamiento que pueda ser económico, rápido, eficaz y sin causar efectos adversos al ambiente que pueda ser aplicado fácilmente sin la necesidad de equipos especializados ni condiciones críticas de pretratamiento.

## 2.5 Antecedentes

La presencia de WH en los cuerpos de agua es un problema ambiental, económico y social grave, el cual se ha tratado de atender mediante su aprovechamiento a través de distintos enfoques, a continuación, se describen brevemente algunos de los trabajos desarrollados.

IMTA Y SEMARNAT, (2000) desarrollaron un proyecto para reducir la cantidad de WH presente en el lago de Pátzcuaro, debido este cubre aproximadamente un área de 25 ha; concluyeron que la remoción del WH permitiría el desarrollo de especies endémicas del lago además de controlar el desarrollo de especies no son endémicas de la región; sin embargo, en dicho proyecto solo se consideró la extracción sus beneficios, sin considerar el manejo, disposición y tratamiento que requiere el residuo de WH.

González y col., (2010), Evaluaron la evapotranspiración causada por la vegetación hidrófita y por la evaporación natural de un cuerpo de agua. Logrando determinar la composición anual de evaporación es atribuida a la evapotranspiración de la vegetación, las pérdidas por interceptación y la evaporación del cuerpo de agua; se determinó que la evaporación en los cuerpos de agua se acelera en gran medida por el cambio de uso de suelo, ocasionando la disminución y pérdida de flora y fauna endémica.

D'Agua, (2015), Llevaron a cabo una caracterización completa del WH en condiciones húmedas y deshidratadas para conocer su uso era viable para la producción de un biocombustible sólido; posteriormente establecieron la metodología para transformarlo en un combustible sólido de alto aporte energético; concluyeron que el proceso de producción de un biocombustible sólido a partir de WH es posible y que puede llegar a ser producido a escala industrial, debido a la elevada cantidad de energía libera por su combustión.

Suarez, Quiroga, (2016), a partir de WH obtuvieron un abono orgánico líquido mediante el uso de un biodigestor anaerobio, en el cual se controlaron las variables de pH, temperatura y tiempo de retención hidráulico y un tiempo aproximado para de dos meses; dicho abono fue evaluado con la norma NTC-5167 de 2011, concluyendo que puede ser utilizado como agente regenerador de suelos.

Tomasini y col., (2016) monitorearon y evaluaron las descargas de aguas residuales de diversas poblaciones en el Lago de Pátzcuaro, observaron que la mayoría de estas no dan un tratamiento apropiado, lo cual, ocasionado la eutrofización del lago por el incremento en el nivel de contaminantes, que a su vez causa la proliferación algas (cianobacterias) que disminuyen la transparencia del agua y el oxígeno disuelto, además de causar mal olor, mortandad de peces y el desarrollo de plantas acuáticas como WH y tule; concluyeron que es difícil la regeneración del sitio si el problema no es resuelto desde las fuentes de origen de la contaminación.

Garrido, Villamarín, (2016), evaluaron la calidad de un compost a base de WH, a partir de un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones por cada uno. En la etapa experimental se realizó la reducción del tamaño de partícula entre 1 a 3 cm y se adicionó a la cama de compost, el volteo de esta fue dos veces por semana y se monitorearon las variables de pH, C/N, nivel de mineralización, temperatura y humedad; se determinó que el tratamiento tres tuvo mayor mineralización de la materia orgánica (50.12%) y los macronutrientes (P, Ca, Mg) aumentaron su concentración; concluyeron que el tratamiento mecánico realizado permitió incrementar la disponibilidad de la materia para poder mineralizarla, sin embargo, la reducción excesiva del tamaño de la partícula aumento el porcentaje de mineralización de la materia orgánica.

Paéz, (2016), diseñaron un sistema para el aprovechamiento de WH en la zona de Daule Peripa, Ecuador, se diseñó un proceso anaerobio con un tiempo de residencia de 43 días a una temperatura de 25° C, en el cual se podrían producir más de 11,000 m<sup>3</sup> de biogás, del cual se podrían obtener ganancias económicas al utilizarlo para la generación de energía eléctrica y el uso doméstico, además de reducir el impacto que causa el WH al no ser tratado y aprovechado.

Barua, Kalamdhad, (2017) evaluaron el efecto en la producción de metano mediante la prueba de Potencial Bioquímico de Metano (BMP por sus siglas en inglés) al aplicar un pretratamiento térmico con aire caliente a 90° C durante 1 h sobre WH; observaron que hubo un incremento en el orden de 35% en la producción de metano, además de alcanzar un rendimiento de  $193 \pm 22$  mL CH<sub>4</sub> g SV<sup>-1</sup> en comparación con el rendimiento de  $143 \pm 14$  mL CH<sub>4</sub> g SV<sup>-1</sup> para WH sin pretratar.

Ali, Sun, (2019), aplicaron un pretratamiento térmico a 121° C durante 30 min sobre WH, posteriormente mediante la prueba BMP se cuantificó la producción de metano para WH pretratado y sin pretratar alcanzando un rendimiento de producción de metano de  $113 \pm 11$  mL CH<sub>4</sub> g SV<sup>-1</sup> y  $150 \pm 9$  mL CH<sub>4</sub> g SV<sup>-1</sup> y un contenido de CH<sub>4</sub> de  $50 \pm 0.7\%$  y  $63 \pm 0.4\%$  respectivamente.

Sarto, (2019) aplicaron un pretratamiento químico con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a distintas concentraciones y tiempos de residencia y evaluaron el efecto sobre la producción de biogás mediante la prueba BMP, observaron que una concentración 5% v/v de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durante 65 min produjo hasta 435 mL de biogás con un 64.38% de metano, su aplicación incremento la producción en el orden de 131% respecto al lirio sin pretratar.

## 2.6 Justificación

En la actualidad la preocupación sobre los efectos adversos ocasionados en los ecosistemas por las actividades antropogénicas son de gran importancia a nivel mundial; uno de los aspectos de mayor interés es la contaminación de cuerpos de agua, debido a que albergan una variedad de flora y fauna, además de proveer de recursos naturales abundantes para el desarrollo de las actividades esenciales de las poblaciones cercanas; sin embargo, las descargas de aguas residuales de estas poblaciones, Debido a que el agua desechada por las actividades de estas localidades el agua residual contiene una elevada cantidad de agentes contaminantes las cuales al ser descargadas en los cuerpos de agua causan el deterioro y desequilibrio de los ecosistemas, así como la proliferación de biota invasiva.

El crecimiento del WH, es considerado como un indicador natural de un índice elevado de contaminación, atribuido principalmente a la descarga de aguas residuales; esta planta es invasiva por su desmedido crecimiento, la cual impacta en el desarrollo de flora y fauna endémica y causando la proliferación de especies introducidas por el hombre, debido a la problemática ocasionada por su presencia, la extracción manual y/o mecánica son las alternativas aplicadas para el control de su presencia, sin embargo, su incorrecta disposición en los alrededores del lago ocasiona nuevos problemas ambientales, sociales y económicos, por lo que en el presente trabajo se propone un proceso de aprovechamiento integral donde el lirio se considera como un agente de fitorremediación para el saneamiento del lago, el control de su presencia mediante la extracción mecánica y su aprovechamiento mediante un proceso tecnológico eficiente e innovador para la obtención de metano como recurso alternativo de energía.

## 2.7 Planteamiento del problema

La presencia de WH en los cuerpos de agua es atribuida a diversos factores entre ellos el no ser una planta endémica por lo que no existen mecanismos de control naturales y la condición hipertrófica del lago; su presencia también tiene efectos importantes entre los más preocupantes están la evapotranspiración, bloqueo de luz solar y disminución de oxígeno disuelto; que en combinación con los efectos causados por las actividades antropogénicas, se ha causado el desequilibrio y desgaste del ecosistema del lago; sin embargo, se han implementado métodos de control para la eliminación de WH y a su vez disminuir los efectos adversos que causa, el método más aplicado es la extracción manual o mecánica, sin embargo, esta solución es temporal y debe realizarse con periodicidad, ya que no se considera la correcta disposición del residuo ocasionando nuevos problemas ambientales, económicos y sociales. A fin de resolver esta problemática ambiental, económica y social, se propone el desarrollo de un proceso integral, donde el WH sea considerado como agente de fitorremediación para la absorción de nutrientes disueltos en el agua y su posterior remoción mecánica, para ser aprovechado mediante un proceso tecnológico novedoso y eficiente para la producción de biofertilizante y metano como recurso energético para la generación de energía eléctrica en la región.

## 2.8 Hipótesis

La implementación de tres pretratamientos combinados (físico, químico, térmico) y el ajuste de concentración sobre WH, incrementará la disponibilidad de nutrientes solubles y la producción de metano bajo condiciones anaerobias.

## 2.9 Objetivos

### 2.9.1 Objetivo general

Evaluar el incremento en la producción de metano cuando son combinados y aplicados tres pretratamientos (físico, químico y térmico) y ajuste de concentración sobre WH.

### 2.9.2 Objetivos específicos

- Conocer la composición elemental (C, H, O, N, S, P) y fisicoquímica de WH.
- Evaluar las mejores condiciones de pretratamiento y control de la concentración sobre WH, mediante un diseño experimental Taguchi  $L_8$  y la prueba BMP.

# Capítulo III

# Metodología

### 3.1 Generalidades

El desarrollo de la presente investigación se llevó a cabo la selección del inóculo a partir de tres fuentes, los cuales fueron evaluados fisicoquímicamente y comparados, para la elección de aquel que tuviera la mejor calidad, actividad metanogénica y diversidad microbiológica; paralelamente se realizó la caracterización de WH a partir de parámetros fisicoquímicos, composición elemental y contenido de micronutrientes y metales pesados; posteriormente llevo a cabo un análisis del efecto del tiempo de pretratamiento y la mejora de la disponibilidad de nutrientes para WH; se llevó a cabo la prueba BMP desarrollada mediante el uso de un diseño experimental Taguchi  $L_8$ , donde se establecieron distintas condiciones de pretratamiento para evaluar su efecto sobre la producción de metano. A continuación, se describirá detalladamente la metodología desarrollada en cada etapa.

### 3.2 Selección del inóculo

La selección del inóculo se llevó a cabo a partir de la evaluación de parámetros fisicoquímicos, los cuales deberán ser similares a lo recomendado por Holliger y col. (2016) y Angelidaki y col. (2009), y para su selección se evaluaron tres distintos inóculos los cuales se describen a continuación:

- **Inóculo 1:** fue proporcionado por la empresa GEA Ambiental S.A. de C.V ubicada en la ciudad de Morelia Michoacán, México coordenadas, 19° 40' 3" Norte y 101° 12' 57" Oeste, a una altura de 1,920 m msnm (metros sobre el nivel del mar), recolectado de un reactor industrial tipo UASB el cual trabaja en condiciones mesófilas y operación continua, es utilizado para el tratamiento de la materia orgánica contenida en efluentes domésticos y de la industria restaurantera; su composición microbiológica es principalmente de microorganismos presentes en el estiércol vacuno.
- **Inóculo 2:** este fue proveído por la empresa Invención Energética Ambiental SAPI de S.V, ubicada en Cuitzeo del Porvenir, Michoacán México coordenadas, 19° 58' 07" Norte y 101° 08' 20" Oeste, a un altura de 1,840 m msnm, este inóculo fue desarrollado por la empresa para incrementar el contenido de metano en el biogás generado por la degradación de la FORSU (fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos) bajo condiciones mesófilas, debido a que este recurso energético se utilizaría para la producción de energía eléctrica.
- **Inóculo 3:** este inóculo se desarrolló en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la División de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química, en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, fue preparado a partir de estiércol vacuno y mezclado con agua y su maduración tuvo una duración de 6 meses, bajo condiciones mesófilas, cabe mencionar que la evaluación fisicoquímica para la comparativa con los otros inóculos se realizó al finalizar el periodo de maduración.

La evaluación fisicoquímica (Tabla 10) consistió en la toma de una muestra representativa a la cual se evaluaron los parámetros de pH, conductividad, relación  $\alpha$ ; sólidos y DQO, cada evaluación se realizó por triplicado, se obtuvo el promedio y la desviación estándar de cada parámetro.

**Tabla 10.** Parámetros fisicoquímicos evaluados.

Parámetros	Inóculo	WH residuo	Mezcla inicial	Mezcla final
pH <sup>1</sup>	✓	✓	✓	✓
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	✓	✓	✓	✓
Alcalinidad (g CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	✓	✓	✓	✓
Relación $\alpha$ <sup>3</sup>	✓	-	-	-
DQO (g L <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	✓	✓	✓	✓
AGV's (g L <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	-	-	-	✓
Sólidos (g L <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	✓	✓	✓	✓
Composición elemental (C; H; O; N; S)	-	✓	-	-

<sup>1</sup> Standard Methods; <sup>2</sup> HACH Methods; <sup>3</sup> Reyes (2009).

### 3.3 Caracterización de lirio acuático (WH)

El WH evaluado fue recolectado del lago de Pátzcuaro en Michoacán México coordenadas, 19° 30' 59" Norte y 101° 36' 36" Oeste, a una altura de 2,035 m msnm, su recolección se realizó manualmente en el embarcadero principal, posteriormente este fue transportado en bolsas de plástico a una temperatura de 20 a 25° C durante 30 minutos, fue almacenado a la intemperie en ausencia de luz del sol a temperatura promedio de 19 a 23° C. Previamente a su evaluación fisicoquímica el WH fue moliendo en una licuadora Oster modelo BEST02-E01 de 600 W de potencia, durante 5 minutos; a la mezcla resultante se evaluaron los parámetros de pH, conductividad, alcalinidad, DQO, AGV's y contenido de sólidos (Tabla 10); para la composición elemental se tomó una muestra de lirio húmedo y se secó a temperatura ambiente para evitar la alteración de la composición elemental, posteriormente fue molido manualmente y tamizado en una malla Tyler 100 (0.15 mm), la determinación de la composición elemental se desarrolló mediante el equipo LECO 628 (Figura 13) en el cual se determinó el contenido de C, H, O, N, S; posteriormente mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM por sus siglas en inglés) modelo JEOL JSM-6610LV y detector EDS Oxford Instruments (Figura 14), se realizó la cuantificación de micronutrientes y metales pesados existentes en el WH y a finalmente se determinó su relación C/N/P a partir de los resultados obtenidos del análisis elemental.



Figura 13. Analizador elemental LECO Series 628.



Figura 14. Microscopio electrónico de barrido.

### 3.4 Prueba BMP

La prueba BMP fue desarrollada a escala laboratorio de acuerdo con lo propuesto por Holliger y col., (2016); los digestores fueron construidos con botes Kimble de 500 mL con un volumen útil de 200 mL y una relación de alimentación/inóculo (A/I) de 0.5 (Civelek y col., 2018; Mlaik y col., 2018). El biogás producido fue almacenado en botes de polietileno de 1,140 mL y su cuantificación fue volumétrica cada 24 h, completando la prueba cuando la producción de biogás diaria fue igual o menor al 1% del biogás acumulado durante cinco días consecutivos; el biogás producido fue estandarizado a condiciones normales (NmL) de 273.15 K y  $1.0133 \times 10^5$  Pa. La composición de biogás fue determinada mediante un cromatógrafo de gases marca Buick Scientific 910 GS (Figura 15) con un detector de conductividad térmica (TCD por sus siglas en inglés) y columna de gel sílice de 1.0 m de longitud y 1/8 pulgada (3.175 mm) de diámetro.



Figura 15. Cromatógrafo de gases Buick Scientific 910 GS.

### 3.4.1 Diseño experimental Taguchi L<sub>8</sub>

Los diseños experimentales son una herramienta estadística que permite la evaluación de la interacción de distintos factores de estudio, en particular el diseño experimental Taguchi es un método de análisis eficiente que permite la mejora de la calidad de un proceso o producto y la reducción de los costos, a partir de la aplicación de este, pueden ser evaluadas varias combinaciones de factores, logrando la comprensión del sistema con menos evaluaciones experimentales. El diseño experimental Taguchi L<sub>8</sub> está constituido de una matriz ortogonal que permite el control de los factores de influencia, logrando la reducción del error y la repetibilidad de los resultados, este método puede ser aplicado para evaluar las mejores condiciones para la obtención de bioproductos (Das y col., 2016).

La aplicación de las condiciones de pretratamiento sobre WH fue desarrollada por duplicado bajo el diseño experimental Taguchi L<sub>8</sub>, estableciendo como factores los pretratamientos: mecánico (molienda), químico (ajuste de pH), térmico (calentamiento) y ajuste de concentración (g DQO L<sup>-1</sup>), con un alto y bajo nivel para cada uno (Tabla 11). Adicionalmente, se consideraron dos controles, para el control B<sub>1</sub> se usó inóculo y WH troceado con un tamaño mayor a la malla Tyler 16 (>1.18 mm) y para el control B<sub>2</sub> solamente se utilizó inóculo (Carter, Gregorich, 2006).

Tabla 11. Factores y niveles a evaluar mediante el diseño experimental Taguchi L<sub>8</sub>.

Factor	Nivel	
	Bajo	Alto
Molienda	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
pH	pH <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>
Temperatura (°C)	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Concentración (g DQO L <sup>-1</sup> )	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>

M<sub>1</sub>, molino; M<sub>2</sub>, licuadora; pH<sub>1</sub>, 7.0; pH<sub>2</sub>, 8.5; T<sub>1</sub>, 40° C; T<sub>2</sub>, 60° C; C<sub>1</sub>, 15 g DQO L<sup>-1</sup>; C<sub>2</sub>, 30 g DQO L<sup>-1</sup>;

**Tabla 12.** Combinación de pretratamientos para el diseño ortogonal Taguchi L<sub>8</sub>.

Prueba	Molienda	Concentración	pH	Temperatura
P <sub>1</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>
P <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>
P <sub>3</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
P <sub>4</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>
P <sub>5</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
P <sub>6</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>
P <sub>7</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>
P <sub>8</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>
B <sub>1</sub>	Troceado	C <sub>2</sub>	-	-
B <sub>2</sub>	-	-	-	-

La selección de cada factor fue realizada con base a lo siguiente: (a) el pretratamiento mecánico, se controló el tamaño de partícula mediante la molienda de WH (Zheng y col., 2014); (b) para el pretratamiento químico el ajuste de pH se realizó mediante CaO debido a que es de fácil acceso y económico, además de causar la ruptura de las fibras de lignina y hemicelulosa en materiales lignocelulósicos (Wang D y col., 2019; Paz y col., 2021); (c) para el pretratamiento térmico fue aplicada una temperatura menor a 70° C debido a que se reduce la probabilidad de generación de inhibidores e incrementa el efecto del agente químico (CaO) que promueve la solubilización de compuestos orgánicos (Bolado y col., 2016; Paz y col., 2021); (d) el ajuste de concentración fue realizado mediante la carga orgánica respecto a lo recomendado por Holliger y col. (2016); en la Tabla 12 se muestran las condiciones de pretratamiento obtenidas a partir del diseño experimental Taguchi L<sub>8</sub>.

### 3.4.2 Pretratamiento combinado

La aplicación del pretratamiento combinado (Figura 16) inicio con la molienda del residuo de WH, lo cual se llevó a cabo para M<sub>1</sub> en un molino de discos marca Estrella con apertura de 1.0 mm y para M<sub>2</sub> en una licuadora Oster modelo BEST02-E01 con potencia de 600 W durante 5 minutos. El volumen necesario para el ajuste a C<sub>1</sub> y C<sub>2</sub> fue calentado a la temperatura de pretratamiento requerida (T<sub>1</sub> o T<sub>2</sub>) y posteriormente se le adicionó CaO (0.47% w CaO/w H<sub>2</sub>O) para formar una suspensión de Ca(OH)<sub>2</sub> (Ec. 9). Para el pretratamiento térmico y ajuste de pH de 8.5, para el nivel bajo de pH<sub>1</sub> (7.0), no se agregó CaO y se utilizó solamente el volumen de agua para dilución necesario a la temperatura requerida. La suspensión fue mezclada con el residuo de WH molido y se agitó durante 5 min para formar la mezcla final y promover el efecto del pretratamiento químico y térmico; posteriormente se dejó enfriar hasta 35° C durante 15 min y subsecuentemente 100 mL de WH pretratado fue mezclado con 100 mL de inóculo y fue vertido en los digestores BMP y finalmente se purgó el aire interno de cada digestor con N<sub>2</sub> y se colocó en una incubadora a 35° C. La duración del pretratamiento fue de 30 min desde la molienda hasta su enfriamiento. Finalmente, para la mezcla inicial se evaluaron los parámetros fisicoquímicos de pH, conductividad, alcalinidad, DQO, SVT y para la mezcla final se evaluaron los mismos parámetros, además de los AGV's (Tabla 10).

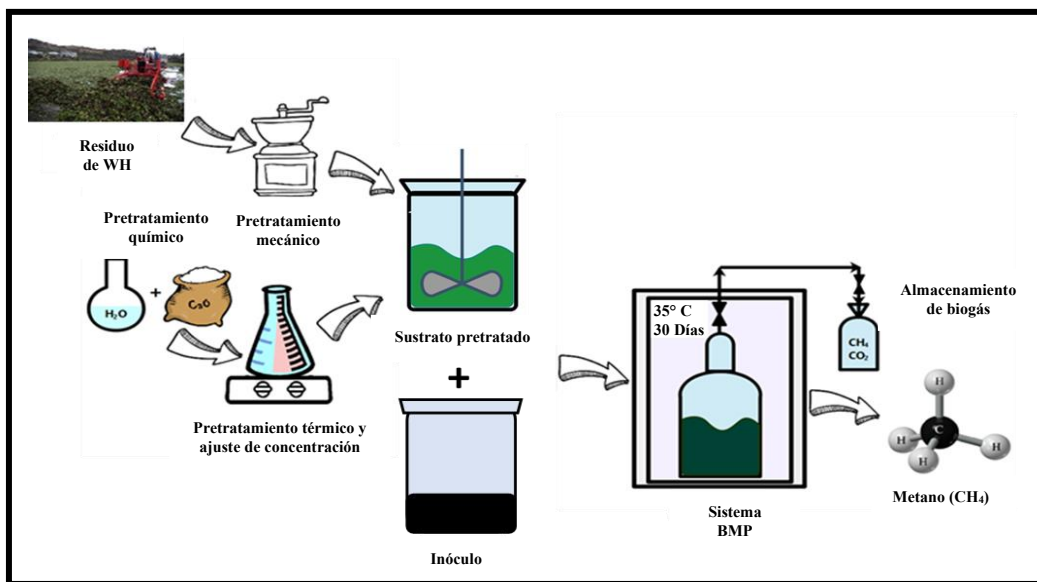


Figura 16. Pretratamiento de WH y prueba BMP.

### 3.4.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico del diseño experimental Taguchi  $L_8$  se realizó en el software Minitab 17<sup>®</sup> y el volumen de metano generado fue utilizado como variable de respuesta con la condición “mayor es mejor” (Das y col., 2016). El impacto de cada factor fue evaluado por el análisis de ANOVA con un  $p$ -valor  $< 0.10$  y mediante la prueba de Tukey fueron evaluadas las diferencias estadísticas entre las pruebas (Lee y col., 2018).

### 3.4.4 Análisis de sensibilidad y cinética química

El análisis de sensibilidad, desarrollado por Chen y Hashimoto (1980), fue empleado para validar los datos experimentales con valores predichos calculados, para este caso, la concentración final de SVT fue seleccionada para su comparación.

El modelo para la ecuación cinética de primer orden (Ec. 10) fue utilizado para calcular la constante de degradación cinética ( $k_d$ ) (Ec. 11) y el metano producido (Ec. 12) (Sarto y col., 2019). Se asumió lo siguiente: (a) una cantidad de SVT fue considerada como materia recalcitrante y no será degradada en el tiempo de evaluación; (b) la degradación de SVT inicio a  $t=0$ , sin fase de adaptación del inóculo al sustrato.

$$\frac{dC_A}{dt} = k_d C_{A_0}^\beta \quad \text{Ec. 10}$$

Reordenando Ec. 10 para calcular  $k_d$ :

$$k_d = \frac{\text{Ln}\left(\frac{C_{A_0}}{C_A}\right)}{t} \quad \text{Ec. 11}$$

Ecuación para la producción de metano:

$$y(t) = y_m(1 - e^{-t \cdot k_{CH_4}}), t > 0 \quad \text{Ec. 12}$$

Donde  $C_A$  es la concentración final (g SVT L<sup>-1</sup>);  $C_{A_0}$  es la concentración inicial cuando  $t=0$  (g SVT L<sup>-1</sup>);  $y(t)$  es el metano producido cuando  $t > 0$  (NmL);  $y_m$  es el total de metano producido (NmL);  $k_d$  es la constante cinética de degradación (d<sup>-1</sup>);  $k_{CH_4}$  es la constante cinética de producción de metano (d<sup>-1</sup>);  $\beta$  es el orden de reacción (1) y  $t$  es el tiempo (d).

# Capítulo IV

# Resultados y

# Discusión

#### 4.1 Análisis y selección del inóculo

La evaluación de los inóculos propuestos para su uso (Tabla 13) se realizó a condiciones ambientales, cada determinación se realizó por triplicado y se calculó la desviación estándar; se observó que el valor de pH fue distinto entre los tres inóculos:

- El valor de pH para el inóculo #1 fue ligeramente ácido (6.87), atribuido probablemente al tipo de sustrato con el que fue alimentado.
- El inóculo #2 registró el pH más bajo (4.13), probablemente debido a que este inóculo cuenta con mayor población de bacterias acetogénicas y metanogénicas; además, posiblemente se alimentó con algún sustrato compuesto en su mayoría por ácidos orgánicos, los cuales pueden ser consumidos por el consorcio acetogénico ocasionando, simultáneamente, la acidificación del medio.
- El inóculo #3 fue ligeramente alcalino (7.24), probablemente debido a que contenía residuos de alimento para ganado, el cual podría contribuir a incrementar ligeramente el pH.

La conductividad para los inóculos #1 y #2 fue similar (2.82 y 2.31 mS cm<sup>-1</sup> respectivamente); sin embargo, en el inóculo #3 no se pudo determinar debido a su consistencia.

La relación  $\alpha$  fue similar o mayor al valor mínimo recomendado ( $\geq 0.5$ ) para los tres inóculos (Reyes, 2009), destacando el inóculo #3 que exhibió mayor capacidad buffer (0.76), atribuido probablemente al alimento residual contenido en el estiércol que causa incremento de alcalinidad y, consecuentemente, de la relación  $\alpha$ .

El contenido de materia orgánica, cuantificada como DQO, fue distinta para los tres inóculos:

- El inóculo #1 se caracterizó por contener 81.70 g DQO L<sup>-1</sup>, atribuido a que fue alimentado con aguas residuales de restaurantes y domésticas; esto permite desarrollar una población microbiana diversa debido a la composición del alimento. El contenido de sólidos en este inóculo tuvo un contenido aceptable (Angelidaki y col., 2009; Holliger y col., 2016).
- El inóculo #2 se caracterizó por contener 13.47 g DQO L<sup>-1</sup>. Este valor fue el más bajo, debido a que este inóculo fue preparado para optimizar la producción de metano, por lo que su población microbiana se compone, mayoritariamente, de microorganismos acetogénicos y metanogénicos. En este inóculo el contenido de sólidos fue menor al recomendado (Angelidaki y col., 2009; Holliger y col., 2016) y al inóculo #1.
- El inóculo #3 se caracterizó por tener el mayor contenido de materia orgánica, debido a que el estiércol utilizado para la producción del inóculo contenía residuos de alimento que no fueron procesados por el ganado; lo cual ocasionó dicho incremento. Desafortunadamente, no fue posible determinar el contenido de sólidos para este inóculo, debido a la presencia excesiva de materia sólida y semisólida, lo que dificultó el correcto muestreo y la cuantificación de los sólidos.

A partir de los resultados obtenidos de la evaluación fisicoquímica de los inóculos (Tabla 13), y con base a los valores recomendados (Angelidaki y col., 2009; Holliger y col., 2016), el inóculo #1 fue seleccionado como el lodo con mejores características fisicoquímicas y con mayor diversidad microbiológica para la degradación anaerobia de materia orgánica.

**Tabla 13.** Resultados de la evaluación fisicoquímica de inóculos.

Parámetro	Inóculo #1	Inóculo #2	Inóculo #3
pH	6.87±0.01	4.13±0.01	7.24±0.01
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	2.82±0.03	2.31±0.01	--
Relación $\alpha$	0.50±0.10	0.58±0.18	0.76±0.02
DQO (g L <sup>-1</sup> )	81.70±0.32	13.47±0.6	109.30±0.23
ST (g L <sup>-1</sup> )	95.75±2.03	27.73±0.88	--
STV (g L <sup>-1</sup> )	74.05±1.91	20.05±1.13	--
SST (g L <sup>-1</sup> )	49.57±2.03	13.13±1.31	--
SSV (g L <sup>-1</sup> )	39.33±0.27	12.58±1.38	--

Inóculo 1: GEA Ambiental SA de CV; Inóculo 2: Empresa Inversión Energética Ambiental SAPO de CV; Inóculo 3: Estiércol vacuno.

#### 4.2 Caracterización de lirio acuático

La Tabla 14 muestra los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de WH, se observó que los parámetros de pH de  $7.19 \pm 0.041$ , el cual es apropiado para el desarrollo de los consorcios bacterianos y evitar su inhibición, conductividad de  $5.41 \pm 0.132$  mS cm<sup>-1</sup> lo cual podría atribuirse a la presencia de iones que pueden ser tomados como micronutrientes o por compuestos ácidos o alcalino disociados, el contenido de DQO fue de  $32.5 \pm 1.061$  g L<sup>-1</sup> lo muestra que existe un contenido de materia orgánica que puede ser consumida mediante la degradación anaerobia, AGV's de  $1.98 \pm 0.06$  g L<sup>-1</sup> los cuales podrían ser consumidos inmediatamente por las bacterias acetogénicas rápidamente y ser transformado a metano posteriormente y finalmente SVT  $21.9 \pm 0.424$  g L<sup>-1</sup> los cuales pueden ser transformados por los consorcios microbianos para la producción de metano; estos parámetros están dentro de los valores recomendados por Angelidaki y col., (2009) y Li y col., (2014); sin embargo, el contenido de alcalinidad fue de  $2.17 \pm 0.093$  g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> el cual es ligeramente menor a lo recomendado ( $3.0$  g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) por Holliger y col. (2016), sin embargo, este parámetro podría incrementar por la adición de CaO durante el pretratamiento.

**Tabla 14.** Resultados de la caracterización fisicoquímica de WH.

Parámetro	WH
pH	7.19 ± 0.04
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	5.41 ± 0.13
Alcalinidad (g CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	2.17 ± 0.09
DQO (g L <sup>-1</sup> )	32.50 ± 1.06
AGV's (g L <sup>-1</sup> )	1.97 ± 0.61
SVT (g L <sup>-1</sup> )	21.9 0± 0.42
Composición elemental (%)	
C	31.00% ± 0.03
H	5.20% ± 0.08
O	44.49% ± 1.63
N	2.10% ± 0.01
S	0.11% ± 0.01
P	0.32% ± 0.01

La composición elemental del WH fue: oxígeno 44.49% ± 1.63%, carbono 31% ± 0.025%, hidrógeno 5.2% ± 0.084%, nitrógeno 2.1% ± 0.014, fósforo 0.32% ± 0.008%, y azufre 0.11% ± 0.006% (Ogunwande y col. 2018). Esta composición elemental fue menor en algunos elementos respecto a lo reportado por Velez y col., (2013), sin embargo, dicha diferencia puede ser atribuida al método analítico aplicado. A partir de la composición elemental se calculó la relación C/N/P; la cual fue de 150/10.02/1.56, a partir de esta relación se observó que existe deficiencia de nitrógeno y exceso de fósforo en el WH en comparación con la relación recomendada de 150/15/1 (Holliger y col., 2016; Ogunwande y col., 2018). Finalmente, mediante microscopia electrónica de barrido se descartó la presencia de metales pesados en el WH; sin embargo, se encontraron los siguientes micronutrientes: Na (0.2%), Mg (0.52%), Al (2.49%), Si (4.18%), Cl (2.92%), K (3.92%), Ca (0.76%) y Fe (1.15%), los cuales podrían favorecer el metabolismo de las bacterias anaerobias a pesar de la deficiencia de nitrógeno y exceso de fósforo (Ogunwande y col., 2018; Castro y Foster, 2020).

### 4.3 Prueba BMP

#### 4.3.1 Caracterización fisicoquímica de las mezclas inóculo-WH pretratado

La Tabla 15 muestra los resultados de la caracterización fisicoquímica para mezclas iniciales de inóculo y WH pretratado, así como también para la mezcla remanente al finalizar la prueba BMP. Se pudo observar que el uso de WH pretratado mejoró las condiciones iniciales para el pH en el intervalo de 6.99 a 7.86, alcalinidad entre 2.98 a 3.51 g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, conductividad de 3.94 a 4.15 mS cm<sup>-1</sup> y SVT entre 24.32 a 29.66 g L<sup>-1</sup>; estos parámetros de las mezclas iniciales de WH pretratado con inóculo están dentro de los valores recomendados (Holliger y col., 2016; Sinbuathong y col., 2019). Los resultados de la caracterización en la mezcla final después de que la prueba BMP mostraron la disminución de DQO en el intervalo de 3.5 a 11.5 g de DQO L<sup>-1</sup> y para SVT de 0,7 a 4,6 g

SVT L<sup>-1</sup>, lo cual se atribuye al consumo y transformación de WH en VFA, dióxido de carbono y metano (Sarto y col., 2019; Chen y col., 2020). Los AGV's presentes causaron la disminución del pH al finalizar la prueba BMP a valores entre 6.75 a 7.02, que a su vez incremento la conductividad de 4.19 a 5.26 mS cm<sup>-1</sup>; sin embargo, a pesar de esta condición de acidificación, los parámetros fisicoquímicos finales están dentro del intervalo recomendado para procesos anaeróbios (Barua, Kalamdhad, 2019). Finalmente, la alcalinidad remanente estuvo entre 2.12 a 2.52 g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, por lo que se infiere que existía capacidad buffer, que evitó la inhibición de la actividad bacteriana de los consorcios acetogénicos y metanogénicos (Bolado y col., 2016; Wang y col., 2018).

**Tabla 15.** Caracterización fisicoquímica de las mezclas de Inóculo-WH pretratado.

Prueba	pH	Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	Alcalinidad (g CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	DQO (g L <sup>-1</sup> )	SVT (g L <sup>-1</sup> )	AGV's (g L <sup>-1</sup> )
<b>Mezcla inicial</b>						
P <sub>1</sub>	7.0' ±0.14	4.0' ±0.11	3.0' ±0.21	48.8' ±1.22	25.7' ±0.19	N. D.
P <sub>2</sub>	7.7' ±0.10	3.9' ±0.16	3.0' ±0.17	48.3' ±2.55	24.3' ±0.14	N. D.
P <sub>3</sub>	7.1' ±0.08	3.9' ±0.05	3.3' ±0.23	56.4' ±0.05	29.6' ±0.48	N. D.
P <sub>4</sub>	7.6' ±0.04	4.0' ±0.03	3.5' ±0.31	55.8' ±1.01	29.3' ±0.45	N. D.
P <sub>5</sub>	6.9' ±0.10	4.0' ±0.02	2.9' ±0.15	48.6' ±2.86	25.6' ±0.93	N. D.
P <sub>6</sub>	7.7' ±0.17	4.1' ±0.15	3.1' ±0.17	47.8' ±3.00	25.2' ±0.68	N. D.
P <sub>7</sub>	7.1' ±0.04	4.1' ±0.11	3.3' ±0.22	55.2' ±3.53	29.0' ±0.82	N. D.
P <sub>8</sub>	7.8' ±0.09	4.1' ±0.06	3.5' ±0.11	55.9' ±0.74	29.4' ±0.88	N. D.
B <sub>1</sub>	7.0' ±0.18	3.9' ±0.27	3.3' ±0.29	48.4' ±0.32	24.3' ±0.69	N. D.
B <sub>2</sub>	6.8' ±0.01	2.8' ±0.01	4.6' ±0.39	81.7' ±0.32	38.1' ±0.27	N. D.
<b>Mezcla remanente</b>						
P <sub>1</sub>	6.9' ±0.24	4.1' ±0.14	2.1' ±0.10	42.5' ±0.33	23.8' ±0.21	0.7' ±0.03
P <sub>2</sub>	6.8' ±0.16	4.2' ±0.21	2.2' ±0.35	43.1' ±0.29	22.6' ±0.16	0.8' ±0.08
P <sub>3</sub>	6.8' ±0.14	5.2' ±0.06	2.3' ±0.10	44.5' ±0.07	27.1' ±2.40	1.1' ±0.10
P <sub>4</sub>	6.7' ±0.06	5.2' ±0.05	2.5' ±0.14	45.2' ±0.34	26.7' ±0.49	1.0' ±0.19
P <sub>5</sub>	7.0' ±0.17	3.9' ±0.03	2.5' ±0.35	45.2' ±0.82	23.3' ±2.32	0.5' ±0.03
P <sub>6</sub>	6.9' ±0.29	3.7' ±0.21	2.1' ±0.70	43.9' ±0.52	22.1' ±1.13	0.5' ±0.05
P <sub>7</sub>	6.8' ±0.07	4.5' ±0.15	2.3' ±0.35	44.3' ±0.70	25.7' ±1.36	0.9' ±0.08
P <sub>8</sub>	6.8' ±0.15	4.8' ±0.08	2.5' ±0.10	44.5' ±0.91	26.7' ±1.75	0.9' ±0.06
B <sub>1</sub>	6.9' ±0.30	4.8' ±0.36	2.3' ±0.70	41.3' ±0.42	21.9' ±0.18	0.6' ±0.05
B <sub>2</sub>	7.0' ±0.01	3.0' ±0.02	1.9' ±0.10	80.6' ±0.42	34.1' ±0.30	0.4' ±0.05

Nota: Las columnas del lado derecho corresponden a la desviación estándar del parámetro correspondiente (Dsv. Std.).

N. D.: No Determinado;

### 4.3.2 Producción de metano

La evolución en la producción de metano durante 30 días (Figura 17), tiempo en el que concluyó la prueba; a partir del día 25, no hubo cambios significativos en el volumen de biogás producido, similarmente a lo reportado (Holliger y col., 2016). Los histogramas de producción de metano para todas las pruebas mostraron un

aumento en la producción de metano durante los primeros siete días, atribuido a la asimilación de los componentes más biodisponibles del WH pretratado (Barua, Kalamdhad, 2017; Sinbuathong y col., 2019). Posteriormente, hubo cinco días sin producción de metano debido a la adaptación del inóculo a componentes del sustrato menos asimilables (Wang y col., 2019; Liu y col., 2021); y a partir del día 12, la producción de metano continuo hasta el día 25 para las pruebas P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> y P<sub>6</sub>; mientras que para las pruebas P<sub>1</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>7</sub>, P<sub>8</sub> y control B<sub>1</sub> la producción se detuvo en el día 17. Cabe mencionar que el control B<sub>2</sub> no tuvo producción de metano durante la prueba, como se esperaba (Holliger y col., 2016; Ogunwande y col., 2018).

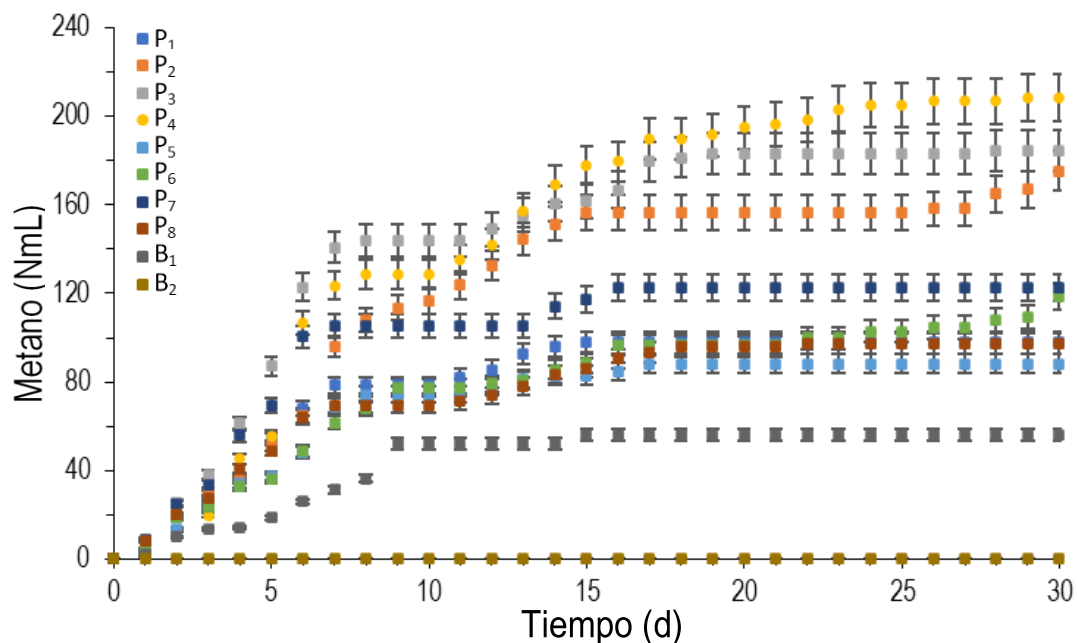


Figura 17. Producción acumulada de metano durante 30 días.

Al analizar el volumen de biogás producido y su composición para cada prueba (Figura 18), se observa que las pruebas P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> y P<sub>4</sub> tuvieron mayor producción de biogás,  $363 \pm 4.69$  NmL,  $406 \pm 2.07$  NmL y  $438 \pm 3.12$  NmL, respectivamente. Además, el porcentaje de metano del 48%, 45% y 47% respectivamente, fue mayor; estas concentraciones están dentro de los intervalos reportados e indican equilibrio en las diferentes fases de la anaerobiosis (Zheng y col., 2014; Holliger y col., 2016). En contraste, las pruebas P<sub>1</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>, P<sub>8</sub>, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> registraron volúmenes de biogás de  $200 \pm 8.40$  NmL,  $184 \pm 8.04$  NmL,  $268 \pm 3.28$  NmL,  $257 \pm 9.16$  NmL,  $249 \pm 8.86$  NmL,  $115 \pm 6.0$  NmL y  $12 \pm 0.61$  NmL, respectivamente, con contenidos de metano del 49%, 48%, 44%, 47%, 38%, 49% y 0%, respectivamente; resultados que son significativamente más bajos que las pruebas de producción P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> y P<sub>4</sub>. La prueba P<sub>8</sub> obtuvo el menor porcentaje de metano (38%), atribuido a la mayor actividad microbiana en las fases de hidrólisis y acidogénesis, lo que pudo causar la acidificación del medio a través de la producción de AGV's (Tabla 15), disminuyendo la producción de metano por la inhibición parcial de las fases acetogénica y metanogénica (Tian y col., 2018; Liu y col., 2021).

El metano acumulado después de 30 días de operación en condiciones de pretratamiento (Tabla 16), manifiesta que las cuatro mejores pruebas fueron P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> y P<sub>4</sub>, con producción de metano de 175 ± 4.69 NmL, 185 ± 2.07 NmL y 207 ± 3.12 NmL, respectivamente. Además, se observó que en las pruebas M<sub>1</sub> (molienda en molino), C<sub>2</sub> (control de concentración), pH<sub>2</sub> (ajuste de pH) y T<sub>2</sub> (temperatura) la producción de metano aumentó al aplicar tres de estas condiciones a lo largo del pretratamiento combinado, en comparación con las pruebas (P<sub>1</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>) en las que solo una de estas condiciones se aplicó. También se observó que las pruebas con molienda en molino M<sub>1</sub> (P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>) se obtuvo mayor producción de metano que en aquellas con molienda en licuadora M<sub>2</sub> (P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>, P<sub>8</sub>), en el proceso de pretratamiento combinado.

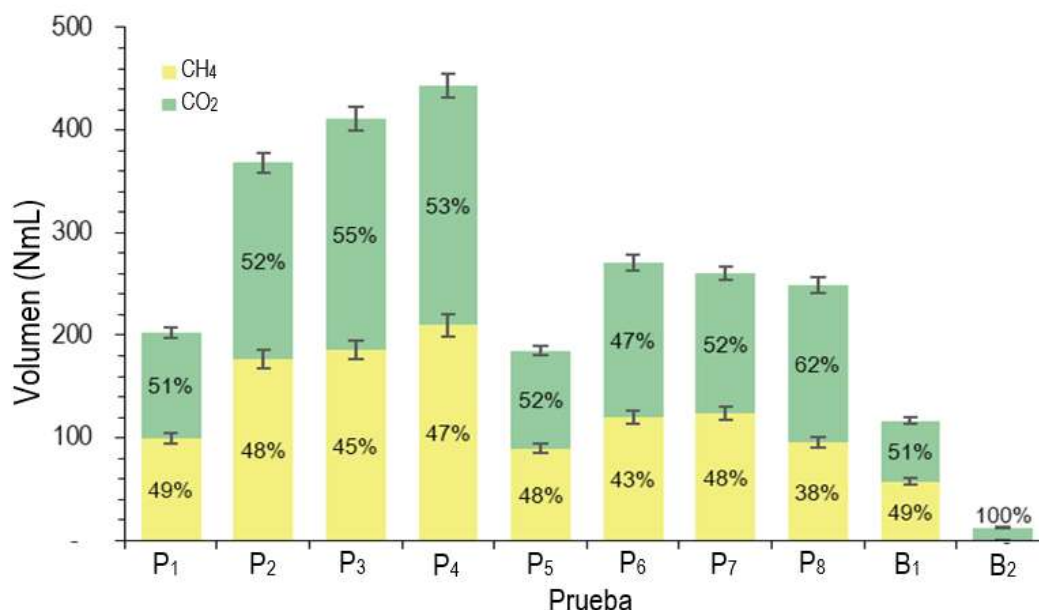
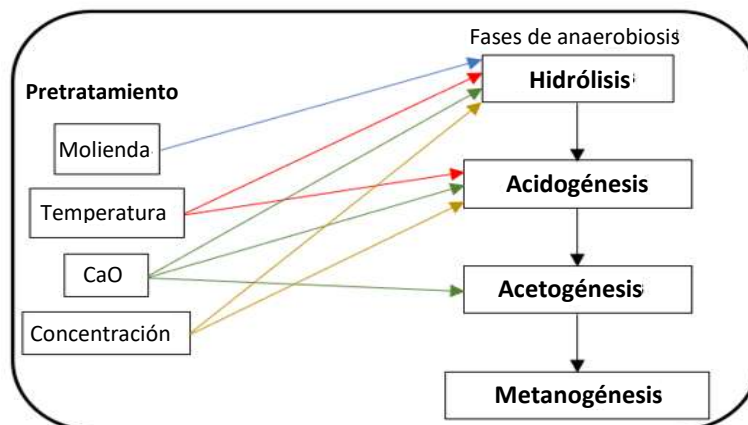


Figura 18. Volumen y composición de biogás para cada prueba BMP.

Tabla 16. Metano generado en relación con el tipo de pretratamiento combinado en la prueba BMP.

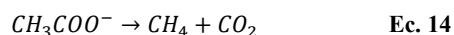
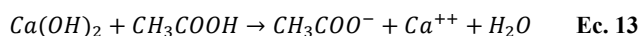
Prueba	Molienda	Concentración (g DQO L <sup>-1</sup> )	pH	Temperatura (°C)	Metano (NmL)
P <sub>1</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	98 ±4.20
P <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>	175 ±4.69
P <sub>3</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	185 ±2.07
P <sub>4</sub>	M <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	208 ±3.12
P <sub>5</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	88 ±4.02
P <sub>6</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	119 ±1.64
P <sub>7</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	123 ±4.52
P <sub>8</sub>	M <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	pH <sub>2</sub>	T <sub>2</sub>	97 ±3.00
B <sub>1</sub>	-	-	-	-	56 ±1.15
B <sub>2</sub>	-	-	-	-	0 -

La Figura 19 muestra las etapas del proceso anaeróbico favorecidas por cada pretratamiento aplicado; la molienda impactó positivamente al reducir el tamaño de partícula, incrementando así el área superficial y facilitando el acceso a la materia orgánica a los consorcios de microorganismos hidrolíticos (O’Sullivan y col., 2010; Yao y col., 2020). Sin embargo, se observó que la reducción excesiva del tamaño de partícula provoca la acidificación del medio, por el aumento de la tasa de transformación en las etapas de hidrólisis y acidogénesis.



**Figura 19.** Impacto de la aplicación de pretratamientos en las fases anaeróbicas.

La adición de la suspensión de  $\text{Ca(OH)}_2$  (Ec. 9) a temperatura controlada ( $T_1$  o  $T_2$ ), probablemente contribuyó a la ruptura de los enlaces glicosídicos y ésteres de las fibras de lignina y hemicelulosa (Sukasem y col., 2017; Chen y col., 2020); además de la solubilización de compuestos ácidos (VFA's), que al reaccionar con  $\text{Ca(OH)}_2$ , producen el radical acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) (Ec. 13), y a través de los consorcios metanogénicos por la vía acetogénica convertido a  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$  (Ec. 14) (Bolado y col., 2016; Wang y col., 2019; Paz y col., 2021). Finalmente, el ajuste de concentración de la materia orgánica disponible permite controlar las etapas hidrolíticas y acidogénicas dentro del reactor, minimizando así la posibilidad de desestabilización por acidificación (Barua, Kalamdhad 2017; Sinbuathong y col. 2019).



La Figura 17 muestra el volumen de metano producido, particularmente para la prueba  $P_4$  se observó que durante los primeros 7 días se obtuvo la producción continua de biogás, atribuida a los acetatos generados durante el pretratamiento combinado (Ec. 13 y Ec. 14) (Chen y col., 2020; Das y col., 2016; Holliger y col., 2016; Mlaik y col., 2018; Lin y col., 2016; Carter y col., 2006; Sinbuathong y col., 2019). Posteriormente, entre los días 7 y 12, no se registró producción significativa de biogás, atribuido al hecho de que en este período tuvo lugar la adaptación de los consorcios microbianos a compuestos menos asimilables (Mlaik y col., 2018, Castro, Foster, 2020); desde el día 12 hasta el día 23, se mantuvo la producción de biogás, y este comportamiento fue similar en todas las pruebas.

4.3.3 Evaluación del efecto de los niveles de cada factor

Con base en el diseño experimental de Taguchi  $L_8$ , el gráfico de efectos principales (Figura 20) y el criterio "mayor producción de metano es mejor" (Qiao y col., 2011), se encontró que el orden de importancia de los factores fue: molienda > ajuste de concentración > pH > temperatura, cuya jerarquía es corroborada por el valor  $p$  ( $< 0.10$ ) del análisis ANOVA (Tabla 17), con nivel de significancia del 90% (Li y col., 2019; Qiao y col., 2011).

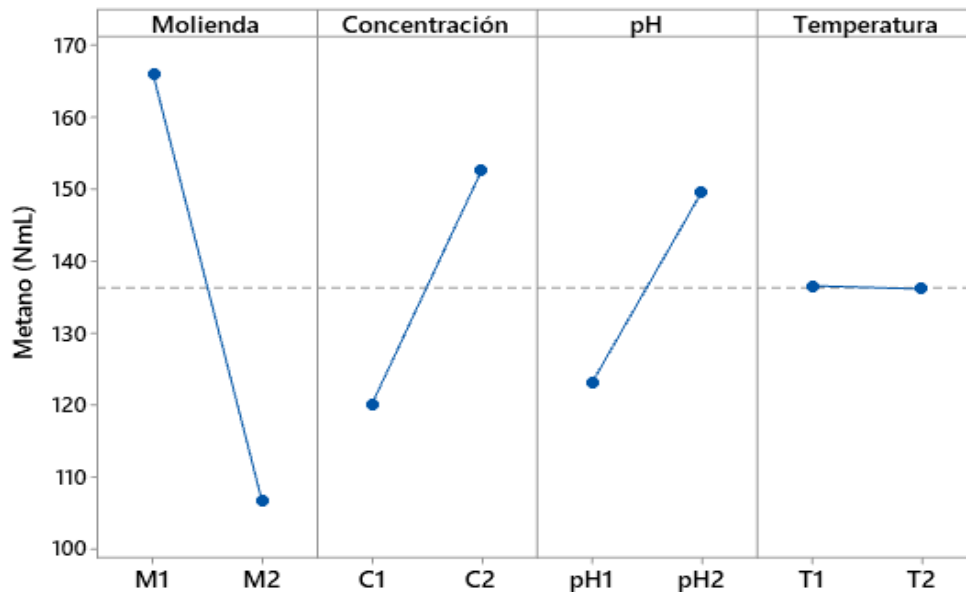


Figura 23. Gráfico de efectos principales diseño Taguchi  $L_8$ .

Tabla 17. Análisis de varianza (ANOVA).

Fuente	GL	SC Adjust.	MC Adjust.	Valor F	p- Valor ( $<0.1$ )
Molienda	1	26106.1	26106.1	5.32	0.104
Concentración	1	13695.1	13695.1	2.79	0.193
pH	1	9591.1	9591.1	1.95	0.257
Temperatura	1	253.1	253.1	0.05	0.835
Error	3	14724.4	4908.1		
Total	7	64369.9			

Particularmente para el factor de concentración, el nivel de  $C_2$  (30 g DQO  $L^{-1}$ ) permitió disponer de mayor cantidad de materia para ser transformada en metano en comparación con el nivel de  $C_1$  (15 g DQO  $L^{-1}$ ) (Chen y col., 2020; Das y col., 2016). Para el factor de pH, el nivel de  $pH_2$  (8.5) aumentó significativamente la producción de metano, atribuido al equilibrio en el proceso anaeróbico al aumentar la capacidad buffer y causar la ruptura de enlaces glicosídicos y ésteres de lignina debido al efecto de  $Ca(OH)_2$ , facilitando el acceso a las bacterias hidrolíticas de celulosa y hemicelulosa (Das y col., 2016; Sinbuathong y col., 2019); en contraste, en

el nivel de pH<sub>1</sub> (7.0), en que no se adicionó Ca(OH)<sub>2</sub>, se observa menor producción de metano (Ogunwande y col., 2018; Castro y Foster, 2020). El nivel M<sub>1</sub> del factor de molienda mejoró la producción de metano, debido a la reducción del tamaño de partícula, aumento del área de superficial de contacto y la disminución de la cristalinidad en la celulosa, lo cual facilitó el acceso a la celulosa y a la hemicelulosa a través de las enzimas secretadas por las bacterias hidrolíticas (Bolado y col., 2016; Wang y col., 2018; Tian y col., 2018; Qiao y col., 2011; Yuan y col., 2019). Sin embargo, para el nivel de molienda M<sub>2</sub> (molienda más fina que M<sub>1</sub>), se observó poco efecto sobre la producción de metano, debido a la reducción excesiva del tamaño de partícula que causa el consumo acelerado de materia orgánica disponible, y como consecuencia el medio se acidificó, disminuyendo la actividad metabólica de las bacterias acetogénicas y metanogénicas (Kim y col., 2016; Sambusiti y col., 2013). Finalmente, para el factor de temperatura, el nivel de T<sub>2</sub> (60° C) mejora la solubilización de compuestos ácidos respecto al nivel T<sub>1</sub> (40° C); sin embargo, al ser el factor menos importante, el efecto sobre la producción de metano es bajo (Tian y col., 2018; Yuan y col., 2019).

**Tabla 18.** Prueba de Tukey.

Prueba	N	Media	Grupo
P <sub>4</sub>	2	208.0	A
P <sub>3</sub>	2	185.0	B
P <sub>2</sub>	2	175.0	C
P <sub>7</sub>	2	123.0	D
P <sub>6</sub>	2	119.0	E
P <sub>1</sub>	2	98.00	F
P <sub>8</sub>	2	97.00	G
P <sub>5</sub>	2	88.00	H

La prueba estadística de Tukey (Tabla 18) mostró que las pruebas P<sub>4</sub>, P<sub>3</sub> y P<sub>2</sub> obtuvieron mayor producción de metano, con una diferencia estadística significativa con respecto a las pruebas P<sub>1</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>, P<sub>8</sub>, control B<sub>1</sub> y control B<sub>2</sub> (Sambusiti y col., 2013). Se observó que la prueba P<sub>4</sub> obtuvo el mayor volumen de metano generado (208 NmL), atribuido a la aplicación de los 4 factores en los niveles de mayor efecto (concentración C<sub>2</sub> (30 g DQO L<sup>-1</sup>), pH<sub>2</sub> (8,5), molienda M<sub>1</sub> (Molino) y T<sub>1</sub> (40° C)) (Chen y col., 2020; Sinbuathong y col. 2019). En la prueba P<sub>3</sub> el volumen de metano obtenido fue 11% menor (185 NmL) con respecto a P<sub>4</sub>, atribuido a que la prueba se realizó a pH<sub>1</sub> (7.0), que no tenía presencia de Ca(OH)<sub>2</sub>, lo que limitó el acceso a la celulosa y hemicelulosa, además de disminuir la capacidad buffer (Das y col., 2016; Castro y Foster, 2020). Sin embargo, a pesar de ser el factor con menor impacto, la temperatura T<sub>2</sub> favoreció la solubilización de compuestos ácidos (Rajput y Zeshan, 2020). En la prueba P<sub>2</sub>, la producción de metano (175 NmL) fue 15.46% inferior a P<sub>4</sub>, lo que se atribuye a la concentración de C<sub>1</sub> (15 g de DQO L<sup>-1</sup>), lo que limitó la cantidad de materia disponible (Chen y col., 2020), a pesar de la aplicación de la temperatura T<sub>2</sub> (60° C) que favoreció la solubilización de compuestos ácidos (Tian y col., 2018). Finalmente, para la prueba P<sub>8</sub>, la concentración de metano (38%) fue menor en la prueba BMP, atribuida a la molienda M<sub>2</sub> (Licuadora) que causó la reducción excesiva del tamaño de partícula, lo que promueve la acidificación del medio, causado por la rápida producción

de AGV's (Kim y col., 2016; Sambusiti y col., 2013; Mirmohamadsadeghi y col., 2019); este efecto se incrementó al aplicar la temperatura  $T_2$  (60° C) que promovió la solubilización de compuestos ácidos (Tian y col., 2018).

#### 4.3.4 Análisis de sensibilidad y cinética de 1er orden

La Tabla 19 y la Figura 21 muestran los valores de concentración predichos ( $C_{f, Pr}$ ) del análisis de sensibilidad, en comparación con los valores de concentración observados ( $C_{f, Ob}$ ) para la prueba BMP. Se puede observar que el error calculado entre los valores predichos y observados para las pruebas P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>8</sub> y los controles B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> fue inferior al 5.0%; por lo tanto, el ajuste al modelo cinético de 1er orden es válido para este sistema (Chen y Hashimoto, 1980; Ogunwande y col., 2018). En las pruebas, P<sub>6</sub> y P<sub>7</sub>, los valores para  $C_{f, Pr}$  fueron 23.27 g SVT L<sup>-1</sup> y 27.19 g SVT L<sup>-1</sup>, y para  $C_{f, Ob}$  22.10 g VS L<sup>-1</sup> y 25.79 g SVT L<sup>-1</sup>, respectivamente, con error de 5.20% para P<sub>6</sub> y 5.40% para P<sub>7</sub>. Esta diferencia entre los valores predichos y observados para ambas pruebas puede atribuirse al impacto causado por las condiciones del pretratamiento combinado sobre WH, particularmente el efecto causado por la molienda M<sub>2</sub> (licuadora), cuya mayor reducción en el tamaño de partícula favoreció la hidrólisis y, posteriormente, su transformación en AGV's a través de la etapa acidogénica. Esto que pudo causar la acidificación del medio e inhibir parcialmente la actividad de los consorcios acetogénico y metanogénicos ocasionando la reducción del contenido de metano en el biogás y aumentando el contenido de dióxido de carbono, a causa de la actividad metabólica de los consorcios hidrolíticos y acidogénicos (Ali y Sun, 2019; Bolado y col., 2016; Sambusiti y col., 2013); ocasionando que el modelo cinético de 1er orden ya no sea válido.

**Tabla 19.** Comparación de concentración observada de SVT en el efluente respecto a lo predicho.

Prueba	$C_{o, Ob}$ (g SVT L <sup>-1</sup> )	$C_{f, Ob}$ (g SVT L <sup>-1</sup> )	$C_{f, Pr}$ (g SVT L <sup>-1</sup> )	Error (%)
P <sub>1</sub>	25.73	23.88	23.78	0.40
P <sub>2</sub>	24.32	22.69	22.35	1.50
P <sub>3</sub>	29.66	27.15	27.79	2.40
P <sub>4</sub>	29.37	26.78	27.49	2.70
P <sub>5</sub>	25.63	23.39	23.68	1.30
P <sub>6</sub>	25.22	22.10	23.27	5.20
P <sub>7</sub>	29.07	25.79	27.19	5.40
P <sub>8</sub>	29.43	26.79	27.55	2.90
B <sub>1</sub>	24.37	21.90	22.40	2.30
B <sub>2</sub>	38.13	34.11	35.42	3.80

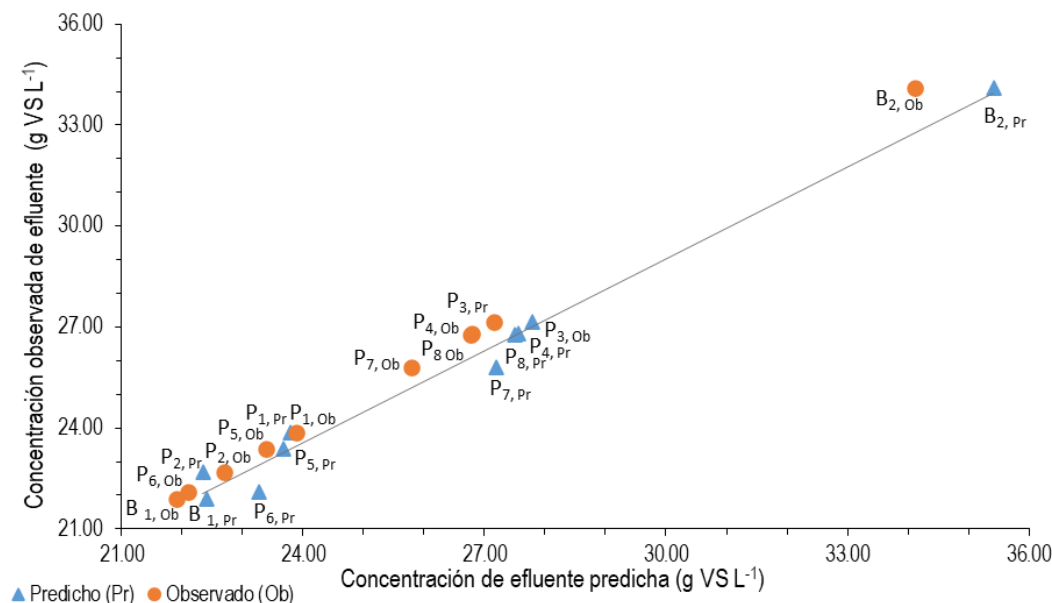


Figura 21. Comparación de la concentración predicha y observada para el efluente.

La Tabla 20 muestra los parámetros cinéticos calculados para la degradación de WH pretratado y producción de metano; los valores de  $k_d$  estuvieron entre  $0.0023 \text{ d}^{-1}$  y  $0.0279 \text{ d}^{-1}$ , lo que se atribuye al volumen y tiempo de producción de metano, además de la concentración inicial de sustrato ( $C_o$ ) (Sarto, Hildayati, Syaichurrozi, 2019). Los resultados cinéticos para la degradación de WH fueron menores que los reportados por otros autores (Ogunwande y col., 2018; Da Silva y col., 2017).

Tabla 20. Resultados de la aplicación del modelo cinético de primer orden.

Prueba	Degradación				Producción de metano				R <sup>2</sup>
	C <sub>o</sub> (g SVT L <sup>-1</sup> )	C <sub>f,ob</sub> (g SVT L <sup>-1</sup> )	Tiempo (d)	k <sub>d</sub> (d <sup>-1</sup> )	Metano <sub>ob</sub> (NmL)	Metano <sub>pr</sub> (NmL)	k <sub>CH<sub>4</sub></sub> (d <sup>-1</sup> )	Error (%)	
P <sub>1</sub>	25.73	23.88	15	0.0050	97.74	92.78	0.29	5.35	0.95
P <sub>2</sub>	24.32	22.69	30	0.0023	175.44	167.32	0.10	4.85	0.95
P <sub>3</sub>	29.66	27.15	28	0.0032	184.61	175.81	0.18	5.01	0.95
P <sub>4</sub>	29.37	26.78	29	0.0032	208.39	201.54	0.17	3.40	0.97
P <sub>5</sub>	25.63	23.39	17	0.0054	88.13	84.35	0.20	4.48	0.96
P <sub>6</sub>	25.22	22.10	30	0.0044	118.89	110.22	0.09	7.87	0.93
P <sub>7</sub>	29.07	25.79	16	0.0075	122.60	116.98	0.21	4.80	0.95
P <sub>8</sub>	29.43	26.79	18	0.0052	97.27	92.55	0.21	5.10	0.95
B <sub>1</sub>	24.37	21.90	15	0.0071	55.96	53.43	0.20	4.73	0.95
B <sub>2</sub>	38.13	34.11	4	0.0279	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Los valores para la constante cinética de producción de metano ( $k_{CH_4}$ ) varió entre 0.09 d<sup>-1</sup> y 0.17 d<sup>-1</sup>, excepto para el control B<sub>2</sub> que no produjo metano; la diferencia entre  $k_{CH_4}$  en las pruebas se atribuye al proceso de pretratamiento combinado, que pudo causar la formación de AGV's y acetatos para producir metano; sin embargo, si la velocidad en las etapas de hidrólisis y acidogénesis fuera mayor se acidificaría el medio y disminuiría la producción de metano (Hassan, Williams, Jaiswal, 2018; Mirmohamadsadeghi y col., 2019). Los valores calculados para  $k_{CH_4}$  fueron similares a los reportados previamente utilizando el modelo cinético de 1er orden (Sarto y col., 2019; Sambusti y col., 2013).

El volumen de metano predicho (Metano<sub>pr</sub>) fue menor que el observado (Metano<sub>ob</sub>); la diferencia entre ambos fue inferior al 5%, excepto la prueba P<sub>6</sub>, que tuvo un error del 7% atribuido a la baja cantidad de sustrato disponible (C<sub>1</sub>) y a la reducción excesiva del tamaño de partícula a través de la molienda (M<sub>2</sub>) (Sambusiti y col., 2013; Mirmohamadsadeghi y col., 2019). Los datos de los volúmenes predichos tienen mayor confiabilidad que los reportados por Ogunwande y col., (2018) ( $R^2 < 0,95$ ), y son similares a los reportados por Sarto y col. (2019) y Sambusti y col. (2013) ( $R^2 > 0,95$ ).

#### 4.3.5 Efecto del pretratamiento combinado en la producción de metano

Los resultados de las pruebas BMP (pruebas P<sub>1</sub> a P<sub>8</sub>) permitieron observar que la aplicación del proceso de pretratamiento combinado sobre el residuo de WH tiene efecto positivo, atribuido a la mejora de las condiciones fisicoquímicas del proceso anaeróbico y a la biodisponibilidad de nutrientes del sustrato (Tabla 16), además aumenta la producción de metano en relación con el WH no tratado (Figuras 19 y 20, respectivamente) (Holliger y col., 2016; Sinbuathong y col., 2019). Los mejores niveles de pretratamiento fueron: molienda M<sub>1</sub>, control de concentración C<sub>2</sub>, pH<sub>2</sub> y temperatura T<sub>2</sub>, aumentando la producción de metano cuando se combinan, con respecto la prueba de control B<sub>1</sub> (Figura 19 y Tabla 17) (Wang y col., 2018; Tian y col., 2018; Qiao y col., 2011; Yuan y col., 2019; Kim y col., 2016; Sambusiti y col., 2013; Mirmohamadsadeghi y col., 2019). En las pruebas, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> y P<sub>4</sub> se lograron los rendimientos de 94 NmL CH<sub>4</sub> g SVT<sup>-1</sup>, 107 NmL CH<sub>4</sub> gSVT<sup>-1</sup>, y 111 NmL CH<sub>4</sub> g SVT<sup>-1</sup>, respectivamente, que fueron superiores a los obtenidos en el control B<sub>1</sub> de 43 NmL CH<sub>4</sub> g SVT<sup>-1</sup> (Sarto y col., 2019; Tian y col., 2018).

El rendimiento obtenido en las condiciones de operación del proceso (35° C y 0,8 atm) fue de 155 mL CH<sub>4</sub> g SVT<sup>-1</sup>, que en comparación con los rendimientos de otras investigaciones sobre WH muestran los siguientes resultados:

El rendimiento obtenido en este trabajo es superior a 21.81 mLCH<sub>4</sub> gVS<sup>-1</sup> reportado por Sukasem y col., (2017) cuando sometieron WH a pretratamiento con CaO 2% (p/v) a 140° C por cuatro horas; Ali, Sun (2019) reportaron un rendimiento más bajo de 113 mL CH<sub>4</sub> g VS<sup>-1</sup> para WH no pretratado, y después de aplicar un pretratamiento a 121° C durante 30 min, su rendimiento aumentó hasta 150 mL CH<sub>4</sub> gVS<sup>-1</sup>. Un rendimiento en el mismo orden al de este trabajo, 156 mLCH<sub>4</sub> g VS<sup>-1</sup> fue obtenido por Barua y Kalamdhad (2018) cuando

aplicaron un pretratamiento microbiológico durante 4 días. En otro trabajo previo, un rendimiento inferior a  $193 \text{ mL CH}_4 \text{ g VS}^{-1}$  fue obtenido por Barua, Kalamdhad (2017), cuando se pretrataron al WH con aire a  $90^\circ \text{ C}$  durante 1 h. Vale la pena mencionar que los pretratamientos en estas investigaciones requirieron altas temperaturas y/o largo tiempo de pretratamiento, en comparación con el proceso combinado de pretratamiento evaluado y su corto tiempo de aplicación (30 min).

Las condiciones combinadas de pretratamiento en la prueba P<sub>4</sub> permitieron aumentar la producción de metano hasta 260%, con respecto a B<sub>1</sub> (Wang y col., 2019; Rajput, Zeshan, 2020), la DQO neta consumida por gramo de WH fue de 9,5 g para una producción de 207 NmL de CH<sub>4</sub> (Tabla 17 y Figura 20); considerando que cada gramo de residuo de WH es equivalente a 1.3 g DQO, por cada gramo de WH produjeron 40 mL de CH<sub>4</sub> a condiciones NTP, lo que equivale a  $0.02025 \text{ kg CH}_4 \text{ kg WH}^{-1}$  (Holliger y col., 2016). Sobre la base de la producción de CH<sub>4</sub> por kilogramo de WH y considerando la densidad de crecimiento de  $200 \text{ Ton ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  (Tabatabaei, Aghbashlo y col., 2020), existe un potencial de generación de  $4,050.72 \text{ kg CH}_4 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ , equivalentes en energía a  $202.53 \text{ GJ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ . Por lo tanto, se puede destacar que los pretratamientos aumentaron el rendimiento de la producción de metano. Ahora, se evaluarán dichas condiciones de pretratamiento en un reactor a nivel de planta piloto.

# Capítulo V

# Conclusiones

### 5.1 Conclusiones

- La aplicación de pretratamientos combinados al WH incrementa la biodisponibilidad de nutrientes y la producción de metano.
- La producción de CH<sub>4</sub> se incrementó en el orden de 260 % en la pruebaBMP, con respecto al WH sin pretratar.
- El efecto de los factores en la producción de CH<sub>4</sub> en la prueba BMP fue: molienda > ajuste de concentración > pH > temperatura.
- Las mejores condiciones de pretratamiento combinado y ajuste de la concentración fueron: molienda en molino de discos, concentración de 30 g DQO L<sup>-1</sup>, pH de 8,5 y temperatura de 40° C.
- El uso de WH pretratado generó la estabilización de los parámetros fisicoquímicos del inóculo y evitó la acidificación y desestabilización del proceso anaerobio.
- La remoción de WH es una fuente potencial de energía renovable y su uso favorece el control de su presencia y la reducción de los impactos ambientales, sociales y económicos.

### 5.2 Recomendaciones

- Evaluar la capacidad de degradación, la producción y composición de biogás al incrementar la carga orgánica.
- Realizar una evaluación técnica y económica del proceso de producción de metano a partir del WH.
- Estudiar el efecto de las distintas temperaturas de operación del reactor de UASB sobre la producción de metano y la capacidad de degradación.
- Desarrollar un proceso integral de aprovechamiento del WH.
- Evaluar los cambios en las poblaciones microbianas en funciones de las variaciones en las condiciones operativas.
- Desarrollar un simulador del reactor escala piloto a escala industrial a partir de los resultados obtenidos en esta investigación.

# **Referencias Bibliográficas**

(CANEI) Comité Asesor Nacional sobre especies invasoras, (2010). Estrategia nacional sobre especies invasoras en México, prevención, control y erradicación. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. Comisión Nacional de Áreas Protegidas, secretaria de medio ambiente y Recursos Naturales México. pp 20–21.

Abarca FJ, Cervantes M, (1996) Definición y clasificación de humedales. En: Abarca, FJ, M. Cervantes (eds.) Manual para el manejo y conservación de los humedales en México. Publicaciones Especiales Instituto Nacional de Ecología SEMARNAP. Arizona Game and Fish Department, U.S. Fish and Wildlife Service y Wetlands Internacional

Abraham A, Mathew AK, Park H, Choi O, Sindhu R, Parameswaran B, Pandey A, Park JH, Sang BI, (2020). Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 301, 122725. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122725>

Adanikin BA, Ogunwande GA, Adesanwo OO, (2017). Evaluation and kinetics of biogas yield from morning glory (*Ipomoea aquatica*) co-digested with water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Ecological Engineering*, 98, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.10.067>

Alcocer J, Bernal-Brooks FW, (2010) Limnology in México. *Hydrobiology* 644(1):1-54.

Ali SS, Sun J, (2019). Effective thermal pretreatment of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for the enhancement of bio methanation: VIT® gene probe technology for microbial community analysis with special reference to methanogenic Archaea. *J Environ Chem Eng* 7:102853. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102853>

Ali SS, Sun J, (2019). Effective thermal pretreatment of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for the enhancement of biomethanation: VIT® gene probe technology for microbial community analysis with special reference to methanogenic Archaea. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(1), 102853. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102853>

Álvarez JSA, Alcántara SAIO, García VS, (2016). Diatomeas periféricas del lago de Pátzcuaro , Michoacán , México Periphytic diatoms of Lake Pátzcuaro , Michoacán , México. 26(2), 161–185.

Alzamora SM, Guerrero SN, Nieto AB, Vidales SL, (2004). Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de Capacitación. FAO. pp 2–5.

Andrade MR, (2013) Alternativas de adaptación al riesgo climático en comunidades ganaderas de la Costa de Chiapas, México (Doctoral dissertation). Centro de Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Escuela de Posgrado.

Angelidaki I, Alves M, Bolzonella D, Borzacconi L, Campos JL, Guwy AJ, Kalyuzhnyi S, Jenicek P, Van Lier JB, (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology*, 59(5), 927–934. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>

Arcos RR, Cantellano E, Nabor A, Luz M, García RM, Solís RC, (2002) Remoción de la materia orgánica mediante la utilización de humedales artificiales en la comunidad de Sta. María Nativitas Texcoco Edo. de México. In *Memorias* 1-8 pp.

Ariunbaatar J, Panico A, Esposito G, Pirozzi F, Lens PNL, (2014). Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied Energy*, 123, 143–156. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.02.035>

Arqueta A, Castilleja A, (2008) El agua entre los Purépechas de Michoacán. *Cultura y Representaciones Sociales* 3(5):64-87.

Ayala-Carcedo FJ, (2002) Notas sobre impactos físicos previsible del cambio climático sobre los lagos y humedales españoles. p. 360-364. En: III Congreso Ibérico de Planificación y Gestión de Aguas.

Baird RB, Eaton AD, Rice EW, (2017). Standard Methods for the examination of water and wastewater. Am Public Health Assoc. <https://www.standardmethods.org/>

Barua VB, Kalamdhad AS, (2017). Biochemical methane potential test of untreated and hot air oven pretreated water hyacinth: A comparative study. *J Clean Prod* 166:273–284. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.231>

Barua VB, Kalamdhad AS, (2017). Biochemical methane potential test of untreated and hot air oven pretreated water hyacinth: A comparative study. *J Clean Prod* 166:273–284. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.231>

Barua VB, Kalamdhad AS, (2017). Biochemical methane potential test of untreated and hot air oven pretreated water hyacinth: A comparative study. *Journal of Cleaner Production*, 166, 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.231>

Barua VB, Kalamdhad AS, (2018). Anaerobic biodegradability test of water hyacinth after microbial pretreatment to optimize the ideal F/M ratio. *Fuel* 217:91–97. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.12.074>

Barua VB, Kalamdhad AS, (2019). Biogas production from water hyacinth in a novel anaerobic digester: A continuous study. *Process Saf Environ Prot* 127:82–89. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.05.007>

- Bermúdez R, Rodríguez S, Martínez M, Brown A. (2003). Ventajas del empleo de reactores UASB en el tratamiento de residuales líquidos para la obtención de biogás. *Tecnología Química*, XXIII (2), 37–45.
- Bischoff JL, Israde Alcantara I, Garduño-Monroy VH, Shanks WC, (2004) The springs of the lake Patzcuaro: chemistry, salt-balance and implication for water balance of the lake. *Applied Geochemistry* 19(11):1827-1835.
- Blackwell MSA, Pilgrim ES, (2011) Ecosystem services delivered by small-scale wetlands. *Hydrological Sciences Journal* 56(8): 1467-1484.
- Bolado S et al (2016). Effect of thermal, acid, alkaline, and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. *Bioresour Technol* 201:182–190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.047>
- Borja C, Camacho A, Florin-Beltran M, (2012). Lagos y humedales en la evaluación de los ecosistemas del milenio en España. *Ambienta. Evaluación de los ecosistemas del milenio en España* 98: 82-90.
- Broun T, Boizán F, Almeida Z, (2008). Consideraciones generales para el desarrollo de una estrategia de granulación en reactores UASB. *Tecnología Química*, 28(1), 70–79. <https://doi.org/http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445543755009>
- Caicedo MF, Marín AJ, (2006). Diseño, construcción y arranque de un reactor UASB piloto para el tratamiento de lixiviados. Tesis de especialidad (Especialización en Ingeniería Ambiental). Universidad Nacional de Colombia. Manizales, Colombia. 49 pp.
- Camacho-Valdez V, Ruiz-Luna A, (2012) Marco conceptual y clasificación de los servicios ecosistémicos. *Revista Bio Ciencias*, 1(4):3-15.
- Carabias J, Landa R, (2008). Los recursos hídricos y la gestión de cuencas en México. En: L. Paré, M. A. González y D. Robinson. *Gestión de cuencas y servicios ambientales: perspectivas comunitarias y ciudadanas*. INE-ITACA-Raises-Sendas-WWF, México.
- Carozzi A, (1993). Pretratamiento de las aguas residuales de la industria lechera. In *Proceedings of the fifth Symposium on Waster Anaerobic Treatment*. Universidad de Valladolid, España.
- Carrera GE, Fuente GL; Moreno AT; Leal-Nares OA, (2003) Inventario y clasificación de humedales en México. *Ducks Unlimited de México AC*.
- Carter MR, Gregorich EG, (2006). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Can Soc Soil Sci.
- Castro YA, Foster AA, (2020). Biomethanation of invasive water hyacinth from eutrophic waters as a post weed management practice in the Dominican Republic: a developing country. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-020-07927-w>
- Cervantes M, (2007) Conceptos fundamentales sobre ecosistemas acuáticos y su estado en México. p. 37-67. Instituto Nacional de Ecología-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
- Chacón Guardado JA, (2007). Diseño y construcción de plantas de biogás sencillas. *CUBASOLAR*, (16), 1-15.
- Chacón-Torres A, (1993). Lake Patzcuaro México: watershed and water quality deterioration in a tropical high-altitude Latin American lake. *Lake and Reservoirs Management* 8(1): 37-47.
- Charudattan R, (1997). Experience on Water hyacinth control in USA. Memoria de la reunión regional sobre control integrado de lirio acuático. Cuernavaca, México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. pp 45–49.
- Chaturvedi V, Verma P, (2013). An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. *3 Biotech*, 3(5), 415–431. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0167-8>
- Chen H et al, (2020). Effects of thermal and thermal-alkaline pretreatments on continuous anaerobic sludge digestion: Performance, energy balance and enhancement mechanism. *Renew Energy* 147:2409–2416. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.10.051>
- Chen YR, Hashimoto AG (1980). Substrate utilization kinetic model for biological treatment process. *Biotechnol. Bioeng.* 22: 2081–2095. <https://doi.org/10.1002/bit.260221008>
- Civelek Y et al, (2018). The impact of pretreatment and inoculum to substrate ratio on methane potential of organic wastes from various origins. *J Mater Cycles Waste Manag* 20:800–809. <https://doi.org/10.1007/s10163-017-0641-1>
- CONAGUA, (2007). Sistema Nacional de Información del agua. Comisión nacional del Agua. SEMARNAT. México.
- Contreras-Espinosa F, Warner BG, (2004) Ecosystem characteristics and management considerations for coastal wetlands in Mexico. *Hydrobiology* 511:233–245.
- Costanza R, Arge R, Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, Van Den Belt M, (1998) The value of ecosystem services: putting the issues in perspective. *Ecological Economics* 25(1):67-72.

- Da Silva C et al, (2017). Biochemical methane potential (BMP) tests: Reducing test time by early parameter estimation. *Waste Manag* 71: 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.10.009>
- Dai B, Guo X, Yuan D, Xu J, (2018). Comparison of Different Pretreatments of Rice Straw Substrate to Improve Biogas Production. *Waste and Biomass Valor*, 9(9), 1503–1512. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9950-9>
- Das SP et al (2016). Enhanced bioethanol production from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) by statistical optimization of fermentation process parameters using Taguchi orthogonal array design. *Int Biodeterior Biodegrad* 109:174–184. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.01.008>
- De Zeeuw WJ, (1984). Acclimatization of anaerobic sludge for UASB-reactor start-up. Ph.D. Thesis. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands 195 pp.
- Díaz Iglesia JA, Miranda Caballero A, Almirall Romero EJ, (2016). Methodology for obtaining biogas from waste rice crops using wastewater as inoculum, 18(4), 325–333.
- Doherty JM, Miller JF, Prellwitz SG, Thompson AM, Loheide II SP, Zedler JB, (2014) Hydrologic regimes revealed bundles and tradeoffs among six wetland services. *Ecosystems* 17(6):1026-1039.
- Ebringerová A, Hromádková Z, Heinze T, (2005). Hemicellulose. *Advances in Polymer Science*, 186, 1–67.
- Gakwavi RJ, (2007). Zinc and chromium removal mechanisms from industrial wastewater by using water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (mart.) Solms. Lambert Academic Publishing. pp 1–84.
- García AA, Huerto RID, (2011) Análisis multicriterio de naturalidad de embalse y proyecciones del cambio de uso del suelo: elementos para la planeación de obras y acciones de restauración en la cuenca de Pátzcuaro, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Gerardi HM, (2003). *The Microbiology of anaerobic Digesters*. United States of America
- Girisuta B, Danon B, Manurung R, Janssen LPBM, Heeres HJ, (2008). Experimental and kinetic modelling studies on the acid-catalyzed hydrolysis of the water hyacinth plant to levulinic acid. *Bioresource Technology*, 99, 8367-8375.
- Glanpracha N, Annachatre AP, (2016). Anaerobic co-digestion of cyanide containing cassava pulp with pig manure. *Bioresource Technology*, 214, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.079>
- Gómez-Meléndez A, Coronado-Leza A, Landeros-Flores J, Cárdenas-Elizondo A, (2000). Control químico y biológico del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (mart.) solms en el río Mololoa, Nayarit, México. *Agraria*, 16, 13–34.
- González-Bernáldez F, Montes C, (1989) Los humedales del acuífero de Madrid: inventario y tipología basada en su origen y funcionamiento. Canal de Isabel II.
- González-Sosa E, Mastachi-Loza CA, Rivera-Vázquez B, Gutiérrez-López A, (2010). La evaporación en la cuenca del lago de Pátzcuaro, México. *Tecnología y Ciencias Del Agua*, 1(3), 51–69.
- Gregorich MRCEG, (2006). Soil Sampling and Methods of Analysis. In C. M. R. & G. E. G. (Eds.), *Canadian Society of Soil Science (Second Edi)*. Canadian Society of Soil Science. <https://doi.org/10.1533/9781845691462.252>
- Gunnarsson CC, Mattsson PC, (2007). Water hyacinths as a resource in agriculture and energy production: A literature review. *Waste Management*, 27, 117–129.
- Gutiérrez E, Ruíz E, Huerto R, Uribe E, Martínez M, (1997). Avances y perspectivas del control de lirio acuático en México. Memoria de la reunión regional sobre control integrado de lirio acuático del 25 de noviembre de 1997, Cuernavaca, México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. pp 23–30.
- Guzmán R, Torán R, Guzmán P, Casares R, (2006). Método simplificado para estimar la actividad del agua en deshidratación de hortalizas. *Revista de Ciencias Exactas e Ingeniería de la Universidad Nacional de Tucumán*, 27, 3–5.
- HACH C, (2000). *Water Analysis Manual*. 970: 1997–2000. <https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639984469>
- Hassan SS, Williams GA, Jaiswal AK, (2018). Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol* 262:310–318. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.099>
- Herrejón JPR (2013). Ecología trófica de *Cyprinus carpio* y su relación con la estructura comunitaria de peces del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C.

Holliger C, Alves M, Andrade D, Angelidaki I, Astals S, Baier U, Bougrier C, Buffière P, Carballa M, De Wilde V, Ebertseder F, Fernández B, Ficara E, Fotidis I, Frigon JC, De Lacroix HF, Ghasimi DSM, Hack G, Hartel M, Wierinck I, (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11), 2515–2522. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>

Hortelano Carrera AMP, León García CA, Morales Rodríguez R, Rodríguez Gómez D, (2017). Pretratamiento ácido de bagazo de agave tequilero y rastrojo de maíz. *Memorias de la IV Reunión nacional de la red temática en bioenergía, XIII de la red mexicana de bioenergía*, 179.

IMTA, (1989). *Biología y ecología del lirio acuático. Control y Aprovechamiento Del Lirio Acuático En México*, 157. [http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/814/IMTA\\_004.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/814/IMTA_004.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

IMTA, SEMARNAT, CNA, (2000). *Control integral de Maleza Acuática en distritos de riego*.

Isha A, Kumar S, Jha B, Subbarao PMV, Chandra R, Vijay VK, (2020). Development of stabilization methods using a pilot scale anaerobic digester for seasonal variations in kitchen wastes for improved methane production with zero breakdowns. *Cleaner Engineering and Technology*, 1(July), 100015. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2020.100015>

Jacuinde JC, Chávez MC, Cortés JA, (2022). Increase in Methane Production Through the Application of Combined Pretreatments on Water Hyacinth Waste. *Bioenergy Research*, 1(0123456789). <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10448-8>

Jönsson LJ, Martín C, (2016). Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresource Technology*, 199(10), 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.009>

Juárez Luna G N, (2011). Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debidos a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. Instituto Politécnico Nacional.

Kainthola J, Kalamdhad AS, Goud VV, Goel R, (2019). Fungal pretreatment and associated kinetics of rice straw hydrolysis to accelerate methane yield from anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 286(March), 121368. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121368>

Khor WC, Rabaey K, Vervaeren H, (2015). Low temperature calcium hydroxide treatment enhances anaerobic methane production from (extruded) biomass. *Bioresource Technology*, 176, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.037>

Kim JS, Lee YY, Kim TH, (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol* 199:42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085>

Kumari D, Singh R, (2018). Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90(May 2017), 877–891. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>

Labrada R, (1996). Status of water hyacinth in developing countries. Strategies for water hyacinth control, report of a panel of experts meeting September 11–14, 1995, Fort Lauderdale, Florida USA. FAO. pp 4-5.

Lee S, Lee DK (2018). Multiple Comparison Test and Its Imitations What is the proper way to apply the multiple comparison test?. *Korean J Anesthesiol* 5:353–360. <https://doi.org/10.4097/kja.d.18.00242>

Lettinga G, Van Lier JB, Rintala J, Sanz Martin JL, (1990). Effect of short-term temperature increase on the performance of a mesophilic reactor. *Water Sci. Technol.*, 22:9, pp. 183-190.

Li J, Zicari SM, Cui Z, Zhang R (2014). Processing anaerobic sludge for extended storage as anaerobic digester inoculum. *Bioresour Technol* 166:201–210. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.006>

Lin Q et al, (2016). Temperature regulates methane production through the function centralization of the microbial community in anaerobic digestion. *Bioresour Technol* 216:150–158. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.046>

Lindsey K. Hirt HM, (2000). Usos del lirio acuático, un manual práctico para usos del lirio acuático alrededor del mundo. *Anamed International*. pp 2–4, 5–8, 21–30 y 31–32.

Liu J et al, (2021). A novel technique for sustainable utilization of water hyacinth using EGSB and MCSTR: Control overgrowth, energy recovery, and microbial metabolic mechanism. *Renew Energy* 163:1701–1710. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.10.093>

Liu X et al, (2021). Mechanistic insights into the effect of poly ferric sulfate on anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Res* 189:116645. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116645>

Magaña V, Gómez L, Neri C, Landa R, León C, Ávila B, (2011) *Medidas de Adaptación al Cambio Climático en Humedales del Golfo de México*. Editorial, Fondo Mexicano de la Conservación de la Naturaleza, 1: 92 págs.

- Maragkaki AE, Fountoulakis M, Gypakis A, Kyriakou A, Lasaridi K, Manios T, (2017). Pilot-scale anaerobic co-digestion of sewage sludge with agro-industrial by-products for increased biogas production of existing digesters at wastewater treatment plants. *Waste Management*, 59, 362–370. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.043>
- McLaughlin DL, Cohen MJ, (2013) Realizing ecosystems services: wetland hydrological function along a gradient of ecosystem condition. *Ecological Applications* 23(7):1619-1631.
- MEA (Evaluación de los Ecosistemas del Milenio) (2005) Los ecosistemas y el bienestar humano: Humedales y agua. Informe de síntesis. World Resources Institute. 80 págs.
- Menardo S, Gioelli F, Balsari P, (2011). The methane yield of digestate: effect of organic loading rate, hydraulic retention time and plant feeding. *Biosource technol.*, 102 (2011), pp. 2348-2351.
- Metcalf E, Eddy H, (2003). *Wastewater engineering: treatment and reuse*. In Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, 4th edition. New Delhi, India (4ta Edición). Mc Graw Hill. [https://doi.org/10.1016/0309-1708\(80\)90067-6](https://doi.org/10.1016/0309-1708(80)90067-6)
- Miller KE, Grossman E, Stuart BJ, Davis SC, (2020). Pilot-scale biogas production in a temperate climate using variable food waste. *Biomass and Bioenergy*, 138(May), 105568. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105568>
- Miranda MG, Lot AH (1999). El lirio acuático, ¿una planta nativa de México? *Ciencias*. pp 50–54.
- Mirmohamadsadeghi S, Karimi K, Tabatabaei M, Aghbashlo M, (2019). Biogas production from food wastes: A review on recent developments and future perspectives. *Bioresource Technology Reports*, 7(4), 100202. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100202>
- Mlaik N, Khcharem M, Kouas M, Sayadi S, Khoufi S, (2018). Improvement of anaerobic biodegradability of organic fraction of municipal solid waste by mechanical and thermochemical pretreatments. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 15(9), 1913–1920. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1563-0>
- Molina Gómez LL, Merchan Bermúdez AM. (2016). Caracterización fisicoquímica de los lodos provenientes de una planta de tratamiento de agua residual industrial de una empresa de café del departamento de Caldas. Universidad católica de Manizales. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Muñoz CE, Chaparro T, (2014). Combinación de procesos de oxidación avanzada y procesos anaerobios para tratamiento de aguas residuales hospitalarias. *Afnidad LXXI*, 101(80), 708.
- Naran E, Toor UA, Kim DJ, (2016). Effect of pretreatment and anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge on stabilization and methane production. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 113, 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.011>
- Nguyen QB, Wei S, Armenta M, Bucher R, Sukapantharam P, Stahl DA, Stensel HD, Winkler MK H, (2021). Aerobic granular sludge: Impact of size distribution on nitrification capacity. *Water Research*, 188, 116445. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116445>
- Nigam JN, (2002). Bioconversion of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to motor fuel ethanol by xylose-fermenting yeast. *Journal of Biotechnology*, 97, 107–116.
- Ogunwande GA et al, (2018). Comparative evaluation and kinetics of biogas yield from duckweed (*Lemna minor*) co-digested with water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Ife J Sci* 20:649-661. <https://doi.org/10.4314/ijis.v20i3.18>
- Orozco A, (1988). Anaerobic wastewater treatment using an open plug flow baffled reactor at low temperature. In: (A. Tilche and A. Rozzi eds.) *Poster Papers of the Fifth International Symposium on Anaerobic Digestion*, Monduzzi Editore, Bologna, Italy, pp. 759-762
- Ortiz Cermeño E, (2015). El humedal sur del Lago Pátzcuaro (México): Balance hídrico, hidroquímica y funcionalidad. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2171.248>
- Oseguera FL, (2011) Calidad de agua y sedimentos en sitios con diferente grado de dragado en el lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Pabon-Pereira CP, Castanares G, Lier JB; (2009). Optimizing an OxiTop protocol for screening plant material suitable for anaerobic digestion. submitted to *Bioresource Technol.*
- Pacheco J, Magaña A, (2003). Arranque de un reactor anaerobio. *Ingeniería Revista Académica*. 7-1. pp. 21-25
- Páez J, (2016). Diseño de un biodigestor para el manejo de residuos orgánicos producidos en el embalse Daule-Peripa. 54.
- Paré L, Robinson D, González MA, (2008) Gestión de cuencas y servicios ambientales: perspectivas comunitarias y ciudadanas. Serie planeación territorial. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Itaca, Raíces, Sendas, AC y WWF, México.

- Parthiba Karthikeyan O, Trably E, Mehariya S, Bernet N, Wong JWC, Carrere H, (2018). Pretreatment of food waste for methane and hydrogen recovery: A review. *Bioresource Technology*, 249(July 2017), 1025–1039. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.105>
- Paudel SR, Banjara SP, Choi OK, Park KY, Kim YM, Lee JW, (2017). Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. *Bioresource Technology*, 245(August), 1194–1205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.182>
- Paudel SR, Banjara SP, Choi OK, Park KY, Kim YM, Lee JW, (2017). Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. *Bioresource Technology*, 245(August), 1194–1205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.182>
- Paz FR et al (2021). Evaluation of the effects of different chemical pretreatments in sugarcane bagasse on the response of enzymatic hydrolysis in batch systems subject to high mass loads. *Renew Energy* 165:1–13. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.10.092>
- Pérez A, Torres P, (2008). Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables (Alkalinity indices for control of anaerobic treatment of readily acidifiable wastewaters). *Ingeniería y Competitividad*, 10(2), 41–52. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=36430334&lang=es&site=ehost-live>
- Pérez VA, Torres LP, Silva LJ, (2009). Tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. Optimización de variables ambientales y operacionales. *Dyna*. (160): 139-148.
- Pérez-Olmedilla M, C Rojo C, (2000) Función depuradora de los humedales I: una revisión bibliográfica sobre el papel de los macrófitos. *Humedales mediterráneos* 1:115-122.
- Petropoulos E, Dolfing J, Davenport RJ, Bowen EJ, Curtis TP, (2017). Developing cold-adapted biomass for the anaerobic treatment of domestic wastewater at low temperatures (4, 8 and 15° C) with inocula from cold environments. *Water Research*, 112, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.12.009>
- Peyrelasse C, Barakat A, Lagnet C, Kaparaju P, Monlau F, (2021). Anaerobic digestion of wastewater sludge and alkaline-pretreated wheat straw at semi-continuous pilot scale: Performances and energy assessment. *Energies*, 14(17). <https://doi.org/10.3390/en14175391>
- Qiao W et al, (2011). Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment. *Renew Energy* 36:3313–3318. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.05.002>
- Rabemanolntsoa H, Saka S, (2016). Various pretreatments of lignocellulosics. *Bioresource Technology*, 199, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.029>
- Rajput AA, Zeshan, Hassan M, (2020). Enhancing biogas production through co-digestion and thermal pretreatment of wheat straw and sunflower meal. *Renew Energy* 168:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.11.149>
- Ramos I, Fdz-Polanco M, (2013). The potential of oxygen to improve the stability of anaerobic reactors during unbalanced conditions: Results from a pilot-scale digester treating sewage sludge. *Bioresource Technology*, 140, 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.066>
- Rangel MR, (1997). Programa de control de malezas acuáticas. Memoria de la reunión regional sobre control integrado de lirio acuático del 25 de noviembre de 1997, Cuernavaca, México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. pp 31–37.
- Reyes MD, (2009). Tratamiento de aguas residuales provenientes de rastro mediante un sistema de biodegradación anaerobia-aerobia (Tesis de Maestría). Univ Auton Mex. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/78438>
- Rivera SE, (2001) Valoración Económica de Servicios Ambientales Prestados por Ecosistemas: Humedales en México. Instituto Nacional de Ecología, Dirección general de investigación en política y economía ambiental. 45págs.
- Roble DOM, (2017). Elementos Químicos en la Vegetación de la Planta de Tratamiento de Agua Residual de la UAAAN. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Rodríguez Palomares C, (2013). Evaluación de la producción de biogás bajo condiciones controladas de temperatura en un reactor UASB con alimentación intermitente de agua residual de rastro. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Rojas GJ, Vidal RMR (2008) Catálogo tipológico de humedales lacustre y costero del Estado de Chiapas. Comisión Nacional del Agua. 304 págs.
- Rowell R M, Pettersen R, Han JS, Rowell JS, Tshabalala MA, (2005). Cell wall chemistry. *Handbook of wood chemistry and wood composites*. CRC Press, New York. pp 36–71.
- Saldaña CH, Guadiana J, (1976). El lirio acuático en México, problemas y soluciones. *El Campo (México)*, 33, 3-24.
- Sandoval CJ, Castillo EF, (2007). Caracterización microbiológica de lodos anaerobios utilizados en el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. *Scientia et Technica*, 35, 509–514.

- Sarto S, Hildayati R, Syaichurrozi I, (2019). Effect of chemical pretreatment using sulfuric acid on biogas production from water hyacinth and kinetics. *Renewable Energy*, 132, 335–350. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.07.121>
- Scano EA, Asquer C, Pistis A, Ortu L, Demontis V, Cocco D, (2014). Biogas from anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Experimental results on pilot-scale and preliminary performance evaluation of a full-scale power plant. *Energy Conversion and Management*, 77, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.09.004>
- Seidl PR, Goulart AK, (2016). Pretreatment processes for lignocellulosic biomass conversion to biofuels and bioproducts. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 2, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2016.09.003>
- Sinbuathong N et al, (2019). Biogas production in semi-continuous-flow reactors using freshwater hyacinth from the Chao Phraya River. *Int J Glob Warm* 17:252–265. <https://doi.org/10.1504/IJGW.2019.098497>
- Sjöström E, (1993). Wood polysaccharides. *Wood chemistry, fundamentals and applications*. Academic Press, New York. pp 71–88.
- Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, (2005). Determination of ash in biomass. *Laboratory Analytical Procedure*. National Renewable Energy Laboratory. pp 2–5.
- Sponza DT, (2001). Anaerobic granule formation and tetrachloroethylene (TCE) removal in a upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Enzyme and Microbial Technology*. 29:6-7, pp.417-427
- Suarez MMK, Quiroga QLV, (2016). Obtención de abono orgánico líquido a partir de la digestión anaeróbica de la planta acuática invasora "*Eichhornia crassipes*" (taruya) a través de un biodigestor. Universidad de la costa. <http://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/284/1193229673-1140866658.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sukasem N, Khanthi K, Prayoonkham S, (2017). Biomethane Recovery from Fresh and Dry Water Hyacinth Anaerobic Co-Digestion with Pig Dung, Elephant Dung, and Bat Dung with Different Alkali Pretreatments. *Energy Procedia* 138:294–300. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.094>
- Tabatabaei M, Aghbashlo M et al, (2020). A comprehensive review on recent biological innovations to improve biogas production, Part 1: Upstream strategies. *Renew Energy* 146:1204–1220. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.07.037>.
- Tchobanoglous G, Theisen H, Vigil, S, (1994). *Gestión integral de residuos sólidos*. Ed. McGrawHill, México. 1087 pp.
- Ten Brink P, Russi D, Farmer A, Badura T, Coates D, Förster J, Kumar R, Davidson N, (2013) *La Economía de los Ecosistemas y la Biodiversidad relativa al agua y los humedales*. Resumen ejecutivo. 16 págs.
- Teniza-García O, Solís-Oba MM, Pérez-López ME, González-Prieto JM, Valencia-Vázquez R, (2015). Producción de metano utilizando residuos cunícolas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14(2), 321–334.
- Terreros J, Olmos A, Noyola A, Ramírez F, Monroy O, (2009). Digestión anaerobia de lodo primario y secundario en dos reactores UASB en serie. *Revista mexicana de ingeniería química*. (8) 2: 153-161.
- Tian SQ, Zhao RY, Chen ZC, (2018). Review of the pretreatment and bioconversion of lignocellulosic biomass from wheat straw materials. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91(11), 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.113>
- Tian Z, Zhang Y, Li Y, Chi Y, Yang M, (2015). Rapid establishment of thermophilic anaerobic microbial community during the one-step startup of thermophilic anaerobic digestion from a mesophilic digester. *Water Research*, 69, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.001>
- Torres P, Hernández D, Paredes D, (2012). Uso productivo de lodos de plantas de tratamiento de agua potable en la fabricación de ladrillos cerámicos. *Revista Ingeniería de Construcción*, 27(3), 145–154. <https://doi.org/10.4067/S0718-50732012000300003>
- Travieso-Bello A, Moreno-Casasola P, Campos A, (2005) Efectos de diferentes manejos pecuarios sobre el suelo y la vegetación en humedales transformados a pastizales. *Interciencia* 30(1):12-18
- Tsapekos P, Kougias PG, Frison A, Raga R, Angelidaki I, (2016). Improving methane production from digested manure biofibers by mechanical and thermal alkaline pretreatment. *Bioresource Technology*, 216, 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.117>
- Valderrama LT, Campos C, Velandia S, Zapata N, (1987). Evaluación del efecto del tratamiento con plantas acuáticas (*E. crassipes*, *Lemna sp.* y *L. Laevigatum*) en la remoción de indicadores de contaminación fecal en aguas residuales domésticas. *Seminario Internacional Sobre Métodos Naturales Para El Tratamiento de Aguas Residuales*, 193–201.
- Vargas R, Novelo E, (2007) Seasonal changes in periphyton nitrogen fixation in a protected tropical wetland. *Biology and Fertility of Soils*, 43(3): 367-372.
- Vélez F, Aguirre N, González E, Osorio Y, Marín N, Atehortua E, (2013). Caracterización de plantas acuáticas y material vegetal para el desarrollo de un biocombustible sólido. *Revista Colombiana de Materiales*, 5(5), 152–157.

- Veluchamy C, Kalamdhad AS, (2017). Influence of pretreatment techniques on anaerobic digestion of pulp and paper mill sludge: A review. *Bioresource Technology*, 245(8), 1206–1219. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.179>
- Viancelli A, Michelon W, (2019). Improving Biogas Production. *Technological Challenges, Alternative Sources, Future Developments* (T. U. of T. Vijai Kumar, Gupta & N. U. of I. Maria G., Tuohy (eds.); Volume 9, Vol. 9, Issue 4). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-10516-7>
- Villamarín M, (2016). Evaluación de la calidad de compost a base de jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) mediante la inoculación de *Trichoderma sp.* Universidad Politécnica Salesiana. <https://doi.org/https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13223/1/UPS-QT10496.pdf>
- Von Sperling M, Chernicharo CAL, (2005) *Biological wastewater treatment in warm climate regions*. IWA Publishing
- Wang D et al (2018). Understanding the impact of cationic polyacrylamide on anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Res* 130:281–290. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.007>
- Wang G et al, (2018). Synergetic promotion of syntrophic methane production from anaerobic digestion of complex organic wastes by biochar: Performance and associated mechanisms. *Bioresour Technol* 250:812–820. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.004>
- Warner B, Aravena R, Moreno-Casasola P, (2005) Cambio climático y reciclaje de carbono en los humedales costeros, p. 297–318.
- Wills B, Castro C, Londoño J, Morales F, (2005). Efecto de los metales pesados cadmio y níquel sobre la producción de metano en un lodo anaerobio a escala laboratorio Universidad Nacional de Colombia. *Gestión y Ambiente* (Vol. 9, Issue 1). <http://tesis.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/135/1/EfectoMetalesPesadosCadmioNiquel.pdf>
- Wojcieszak M, Pyzik A, Poszytek K, Krawczyk PS, Sobczak A, Lipinski L, Roubinek O, Palige J, Skłodowska A, Drewniak L, (2017). Adaptation of methanogenic inocula to anaerobic digestion of maize silage. *Frontiers in Microbiology*, 8(SEP), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01881>
- Xu R, Yang ZH, Wang QP, Bai Y, Liu JB, Zheng Y, Zhang YR, Xiong WP, Ahmad K, Fan CZ, (2018). Rapid startup of thermophilic anaerobic digester to remove tetracycline and sulfonamides resistance genes from sewage sludge. *Science of the Total Environment*, 612, 788–798. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.295>
- Yao Z, Ma X, Xiao Z, (2020). The effect of two pretreatment levels on the pyrolysis characteristics of water hyacinth. *Renew Energy* 151:514–527. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.11.046>
- Yarberry A, Lansing S, Luckarift H, Diltz R, Mulbry W, Yarwood S, (2019). Effect of anaerobic digester inoculum preservation via lyophilization on methane recovery. *Waste Management*, 87, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.01.033>
- Yuan H, Guan R, Wachemo AC, Zhu C, Zou D, Li Y, Liu Y, Zuo X, Li X, (2019). Enhancing methane production of excess sludge and dewatered sludge with combined low frequency CaO-ultrasonic pretreatment. *Bioresource Technology*, 273(8), 425–430. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.040>
- Zamudio S, (1992) La flora y vegetación de la cuenca del lago de Pátzcuaro. 1º muestra. Los recursos vegetales de Michoacán. INIFAP, CIDEM, Gobierno del Estado de Michoacán, Instituto de Ecología A.C., SEDUE, SEP, Orquidario de Morelia, Centro de Convenciones y Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México 17 págs.
- Zedler JB, Kercher S, (2005) Wetland resources: status, trends, ecosystem services and restorability. *Annual Review of Environmental and Resources* 30:39-74.
- Zheng Y et al (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Prog Energy Combust Sci* 42:35–53. <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2014.01.001>
- Zhou M, Yan B, Wong JWC, & Zhang Y, (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology*, 248(7), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>
- Zinare T, Dutta A, Jabasingh SA (2019). Start-up of a pilot scale anaerobic reactor for the biogas production from the pineapple processing industries of Belgium. *Renewable Energy*, 134, 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.11.058>