



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Izta palapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

**“PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE LA FRACCIÓN ACUOSA DE
LIRIO ACUÁTICO”**

T E S I S

Presentada para obtener el diploma de

Especialización en Biotecnología

Presenta:

I.B.I. José Carmen Hernández García

Asesora de tesis

Dra. Florina Ramírez Vives

Lector de tesis

Dr. Ernesto Favela Torres

México D.F. julio 2016

Este trabajo forma parte del Proyecto de CONACyT:

“Manejo sustentable del lirio acuático para el saneamiento y protección de cuerpos de agua” clave del proyecto 247111, correspondiente a la Convocatoria Problemas Nacionales 2014.

Agradezco al CONACyT por la beca de estudios para la realización de esta tesis.

Agradecimientos

Quiero dar gracias a Dios nuestro señor por darme fe, entendimiento y persistencia en todo momento.

A mi esposa Inocencia Alonso y mis hijos: Diana Berenice, Erick y Omar David, por apoyarme en todo momento y tenerme paciencia durante este nuevo inicio en la etapa del posgrado.

A mis padres por permitirme tener esta vida, por guiarme y darme sus buenos consejos.

A mi asesora de tesis, Dra. Florina Ramírez Vives por aceptarme en el proyecto de especialidad, por enseñarme, guiarme y por su crítica constructiva durante todo el proyecto de especialidad.

Al Dr. Ernesto Favela Torres, por los comentarios hechos a esta tesis para mejorar su contenido.

A todos los compañeros del laboratorio W 106 por su apoyo y su amistad.

Resumen

En este trabajo se estudió la producción de biogás a partir de la fracción acuosa del lirio acuático.

En la primera parte de este trabajo experimental se llevaron a cabo 5 tratamientos anaerobios por triplicado en reactores por lote, con la fracción acuosa de lirio acuático en mezcla con agua residual municipal, usando lodos granulares como inóculo. Las cinéticas se llevaron a cabo a 30 °C, durante 19 días. Los resultados más importantes fueron que la fracción acuosa del lirio acuático contiene una gran cantidad de compuestos solubles fácilmente fermentables como los azúcares y que la remoción de éstos fue directamente proporcional a las concentraciones iniciales en cada uno de los tratamientos.

El tratamiento con la mezcla 75% de jugo de lirio y 25% de AR presentó la mayor producción de biogás con un volumen acumulado de 433 mL, y una productividad de metano de $190 \text{ mL}_{\text{CH}_4}\text{Lr}^{-1}\text{d}^{-1}$.

En la segunda parte de este estudio, el jugo de lirio en mezcla con AR fue alimentado bajo dos cargas orgánicas a un reactor UASB con capacidad de 1.8 L de volumen útil. El reactor fue inoculado con 360 mL de lodos anaerobios granulares. Para una primera etapa, el reactor fue alimentado con una mezcla del 25% de jugo de lirio acuático y 75% de agua residual municipal. En una segunda etapa la alimentación consistió de una mezcla del 10% de jugo de lirio acuático y 90% de agua residual municipal. Los resultados más importantes fueron una producción de biogás de $0.26 \text{ L/Lr}^{-1}\text{d}^{-1}$ en promedio para la primera carga orgánica alimentada ($8 \text{ g}_{\text{DQO}}\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$), con 61 % de metano en la mezcla y de $0.20 \text{ L/Lr}^{-1}\text{d}^{-1}$ de biogás para la carga orgánica de $2 \text{ g}_{\text{DQO}}\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$, con 69.7 % de metano. La fracción acuosa y la fracción sólida del lirio acuático tienen características fisicoquímicas favorables para la producción de metano.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Digestión anaerobia	3
1.2. Reactor flujo ascendente de lecho de lodos (UASB)	5
1.3. Antecedentes	6
1.4. Justificación	7
1.5. Objetivos	8
1.5.1. Objetivo general	8
1.5.2. Objetivo específico	8
1.6. Hipótesis	8
2. MATERIALES Y METODOS	9
2.1. Muestreo	10
2.2. Caracterización de la fracción acuosa y sólida del lirio acuático	11
2.2.1. Pretratamiento de las plantas	11
2.2.2. Curva patrón para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno	11
2.2.2.1. Preparación de muestras para DQO	13
2.2.3. Curva patrón para la determinación de azúcares totales	13
2.2.3.1. Preparación de muestras para azúcares totales	14
2.2.4. Determinación de pH	15

2.2.4.1. Determinación de pH en la fracción acuosa	15
2.2.4.2. Determinación de pH en la fracción sólida	15
2.2.5. Determinación de sólidos suspendidos totales	16
2.2.5.1. Determinación de sólidos suspendidos totales en la fracción líquida	16
2.2.5.2. Determinación de sólidos suspendidos totales en la fracción sólida	16
2.3. Digestión anaerobia del jugo del lirio acuático en reactores por lote	17
2.3.1. Determinación del volumen y la composición del biogás	18
2.4. Digestión anaerobia de la fracción acuosa del lirio acuático en mezcla con agua residual municipal en un reactor UASB a diferentes cargas orgánicas	19
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	20
3.1. Caracterización de la fracción líquida y sólida del lirio acuático	21
3.1.1. Caracterización del lirio acuático en los diferentes muestreos	21
3.1.2. Caracterización fisicoquímica del lirio acuático	21
3.2. Digestión anaerobia de la fracción acuosa del lirio en cinéticas por lote	22
3.3. Digestión anaerobia de la fracción acuosa del lirio acuático en mezcla con agua residual municipal en un reactor UASB a diferentes cargas orgánicas	26
4. CONCLUSIONES	30
5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	32

1. INTRODUCCIÓN

Introducción

El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) es una planta hidrofita libre flotadora que pertenece a la familia de las Pontederiaceae. Esta planta es originaria del Amazonas en Sudamérica, en donde se mantiene bajo control por la acción de depredadores naturales y por las inundaciones anuales que arrastran las matas de lirio hacia el mar en donde no es capaz de sobrevivir, sin embargo, debido a la mano del hombre, el lirio acuático se ha dispersado por todas las zonas tropicales del mundo (Gunnarsson y Mattsson, 2007).

El lirio acuático puede tolerar muy bien amplias variaciones en la concentración de nutrientes, en la temperatura y en los niveles de pH. El pH óptimo para el crecimiento del lirio acuático se encuentra entre 6 y 8, crece en un rango de 1°C a 40°C, aunque parece ser que es sensible a bajas temperaturas (< 1°C), presenta su óptimo crecimiento a 25 – 27.5°C y a temperaturas mayores a 33°C se reduce drásticamente su tasa de reproducción (Malik, 2007; Gakwavu, 2007). Su tasa de crecimiento se ve favorecida a mayores concentraciones de nitrógeno (Heard y Winterton, 2000). Altas concentraciones de sal (6 a 8%) son letalmente inhibitorias para su crecimiento Malik (2007).

Su rápido y congestionado crecimiento (hasta de 60 Kg m⁻²) ha provocado que se lo considere como maleza nociva y esté atrayendo la atención global debido a que estas características provocan un fuerte impacto al ambiente, a la salud humana y al desarrollo económico. Como ejemplo de ello la presencia del lirio acuático ocasiona un impacto económico a los pescadores debido al decremento en la población de peces, el difícil acceso a ciertas áreas, pérdidas y daño al equipo de pesca. Cuando un cuerpo de agua está densamente infestado, el consumo de combustible de los barcos de pesca y de transporte, aumenta al doble o al triple, y la captura de peces se ve reducida de un 50 y hasta un 75%. Este problema se vuelve muy grave en países que cuentan solo con cuerpos de agua continentales y por lo tanto son la única fuente de pesca y en algunos casos, particularmente en África, puede constituir la única fuente de proteína para consumo humano Malik, (2007).

Un lago lleno de lirio es como una ciudad sobrepoblada por humanos: la vida ahí se vuelve complicada. "Causa problemas de oxigenación en el agua, hay un exceso de materia orgánica que impide el paso de la luz y afecta la navegación".

Por lo anterior, la remoción del lirio acuático de cuerpos de agua es una actividad insoslayable. La remoción del lirio acuático de cuerpos de agua puede realizarse principalmente por los siguientes procedimientos: i) trituración y hundimiento, ii) el uso de herbicidas y iii) su remoción del cuerpo de agua. Los dos primeros procedimientos tienen un efecto negativo muy importante en los ecosistemas acuíferos porque: primero provoca un mayor crecimiento del lirio y un rápido azolvamiento de los cuerpos de agua, debido a la acumulación de la materia orgánica en el fondo. El uso de herbicidas contribuye a la contaminación de los cuerpos de agua, debido a los componentes químicos tóxicos contenidos en los herbicidas. Aunque el tercer procedimiento permite mantener limpios los cuerpos de agua, su implementación representa costos importantes (\$12,000.00 - \$70,000.00 por hectárea) y la acumulación en laderas genera problemas de contaminación por el nulo manejo del material sólido.

El lirio acuático también puede ser considerado como una materia prima potencial para diferentes industrias tales como: alimentos funcionales, biocombustibles (biogás, etanol y diesel), en investigación para bio y fito-remediación. (Gunnarsson y Mattsson, 2007; Malik, 2007).

Dentro de la producción de energía alternativa se encuentra la procedente de la biomasa que genera biogás, una composición de gases de combustión como propano, metano y butano, que pueden ser utilizados en distintas actividades. El metano al ser un gas de combustión puede emplearse en una estufa doméstica o puede ser usado para mover motores y generar electricidad.

1.1 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso microbiológico complejo que se realiza en ausencia de oxígeno, donde la materia orgánica es transformada en biogás (CH_4 y CO_2) y compuestos orgánicos, la mayoría de ellos volátiles.

La degradación anaerobia de la materia orgánica es realizada por bacterias facultativas y anaerobias estrictas que en forma secuencial utilizan los productos metabólicos generados por cada grupo.

En la actualidad diferentes autores han considerado que la digestión anaerobia está conformada por cuatro fases sucesivas (Montalvo y Guerrero, 2003), la hidrólisis, donde los polímeros de alto peso molecular son degradados a

monómeros disueltos, la acidogénesis en donde los monómeros disueltos son fermentados en ácidos orgánicos tales como acético, propiónico y butírico principalmente, la acetogénesis, en donde los productos generados en la etapa anterior son convertidos en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono y la metanogénesis que es la etapa final encargada de la producción de metano a partir del ácido acético o de mezclas de hidrógeno y dióxido de carbono o también se puede formar del ácido fórmico y metanol (Figura 1).

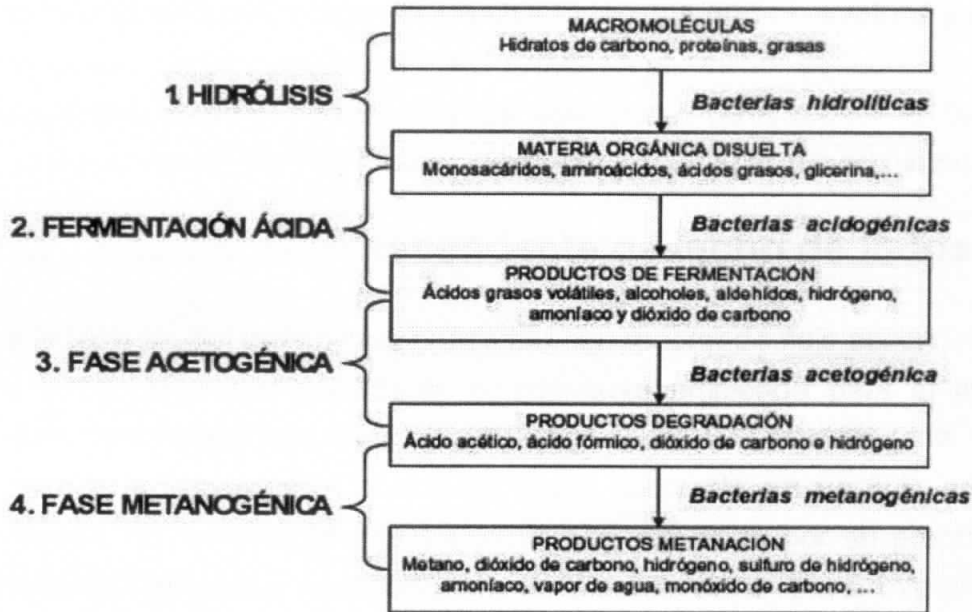


Figura 1. Representación esquemática de las fases de la Digestión Anaerobia.

En la digestión anaerobia los microorganismos tienen una tasa de crecimiento baja, reflejándose en un tiempo de estabilización que dependerá de la calidad y cantidad del inoculo utilizado. La digestión anaerobia es un proceso eficiente para la remoción de materia orgánica.

La digestión anaerobia es una buena alternativa para producir metano de la fracción acuosa y sólida de lirio acuático. En un proceso de digestión anaerobia de material con alto contenido de sólidos, la producción de metano es lenta, debido al tiempo en el que se homogenizan los residuos y ocurren las diversas etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis que repercuten en la obtención de metano Rodríguez (2009). Si se separa la fibra del lirio y se fermenta solamente el líquido extraído se puede disminuir el tiempo de producción de

metano. El bagazo obtenido después de separar el jugo puede ser utilizado para otros fines, como lo sugieren algunos autores, ya sea en la utilización para la producción de hongos comestibles y forraje para animales Hermoso López (2015), también el lirio contiene azúcares, en forma de polímeros como celulosa, hemicelulosa y almidón, estos polímeros pueden ser hidrolizados enzimáticamente y proporcionar azúcares fermentables y ser convertidos en bioetanol, ácido láctico. Mishima y col. (2006) o puede ser tratado en dos fases de la digestión anaerobia: hidrólisis y acidogénesis en un reactor de lecho escurrido de lixiviación (RALE) bajo condiciones favorables para que las fermentaciones ocurran y se pueda producir altas concentraciones de DQO y ácidos grasos volátiles y el lixiviado de este primer reactor puede ser metanizado en un reactor de lecho de lodos de flujo ascendente (UASB) controlando las condiciones para reducir el tiempo y lograr una mayor producción de metano (Ramírez y col., 2014, Rodríguez y col., 2015).

1.2 Reactor flujo ascendente de lecho de lodos (UASB)

La tecnología del tratamiento anaerobio con reactor de flujo ascendente anaerobio de lecho de lodos, (UASB) es comúnmente empleada para el tratamiento de aguas residuales con altas cargas orgánicas. En este tipo de reactores las bacterias se desarrollan como una masa floculante en un flujo ascendente del influente Noyola (1995). Las bacterias son retenidas por su propia masa y por pequeñas partículas presentes en el influente en la parte inferior del reactor, mientras que el biogás y el efluente escapan por la parte superior del mismo. Como la disociación de la biomasa ocurre en cierto grado, una parte de los microorganismos se pierde en el efluente, aunque el tiempo de retención hidráulica sea bajo, el tiempo de retención de sólidos (TRS) es suficiente para que se desarrolle una densa masa de microorganismos anaerobios.

Para mantener un elevado TRS se requiere de un lodo con buenas características de sedimentación. La concentración de lodos en la zona inferior del reactor puede ser de 40 a 70 g SSV/L. Sobre este lecho de lodos se desarrolla otro lecho formado por gránulos más pequeños, flóculos y burbujas de gas, siendo más denso y con granos más grandes en su zona inferior y menos denso y con gránulos más pequeños en su zona superior.

Para mantener el buen funcionamiento de este tipo de reactores se requiere de un separador sólido /gas en la parte superior del reactor. Este

sedimentador/desgasificador actúa como un sedimentador interno y evita la fuga de los flóculos de pequeño tamaño que ascienden adheridos a las burbujas de gas Tomczak-Wandzel,(2009)..

Una de las ventajas del reactor UASB es la baja producción de lodos, así como, bajos costos de operación, con una conversión del 95% del carbono en biogás, y menos del 5% es transformado en biomasa. Otras ventajas es que no requiere mucha energía y acepta altas concentraciones orgánicas, la separación del biogás, desagüe y el lodo es relativamente sencilla, por otro lado, una de sus desventajas es que requiere largos periodos de arranque, si no se cuenta con lodo activado.

1.3. Antecedentes

Estudios realizados en laboratorios de la Universidad Autónoma Metropolitana con plantas de lirio cosechadas en el Lago de Xochimilco muestran diferencias importantes en la composición de tallo y hojas de la planta, así como una fracción extraíble que contiene compuestos solubles fácilmente fermentables (Tabla 1).

Tabla 1. Composición del material lignocelulósico de plantas de lirio acuático cosechadas en el Lago de Xochimilco (% base seca)*.

Parte de la planta	Hemicelulosa (H)	Celulosa (C)	Lignina (L)	C+H+L	Cenizas	Extraíbles
Tallo	26.8	14.6	8.6	50.1	18.2	36.1
Hoja	20.3	21.8	15.9	58	11.4	26.3

*Muestras tomadas en febrero de 2011 (después de la floración de la planta).

Un considerable número de autores han realizado investigaciones sobre la digestión anaerobia de lirio acuático, y han reportado producciones de biogás en un rango de 0.200 a 0.300 L de biogás / g de sólidos Volátiles (SV) y alrededor de 0.140 a 0.200 L metano / g de Sólidos Volátiles.

O'Sullivan y col. (2010), obtuvieron, a escala piloto, una producción de 0.267 L biogás / g de Solido Volátil con un contenido de metano de aproximadamente 50% a partir de lirio

Jagadish y col. (2012) trabajaron con lirio acuático, la planta fue cortada en trozos de 2 cm y expuestas al sol durante 7 días, posteriormente secadas en un horno durante 6 horas. Finalmente la planta seca fue molida hasta polvo. Utilizaron lodos primarios como inóculo y 4 g de polvo de lirio acuático. Fueron realizados 5 tratamientos variando la cantidad de lodos y de agua. El mejor rendimiento obtenido fue el tratamiento con 25% agua y 75% lodo primario con un resultado de 0.44 L de biogás /gSV.

Jagadish y col. (2011), trabajaron con lirio acuático fresco, agua y excreta de pollo como inóculo. El lirio acuático fue molido hasta obtener una pasta y fue mezclada con agua en diferentes proporciones 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 y se adicionaron a cada digester 20 mg de excreta de pollo. El reactor fue incubado a una temperatura de 30 a 37°C por 60 días. La producción de biogás fue mayor en la proporción 1:4 con una producción máxima de 0.245 L/gVS

Kunatasa (2013). Solo trabajaron con lirio acuático tanto seco como fresco, obteniendo una producción de biogás acumulado a los 15 días de 702 ml y 650 ml respectivamente, no reporta el contenido de metano en el biogás.

1.4. Justificación

Diversos autores han mencionado que la obtención de biogás (CH₄ y CO₂) a partir de lirio acuático es muy lenta, debido a la cantidad considerable de agua y poca materia orgánica biodegradable (lignina, celulosa o hemicelulosa). Si se separa la fracción sólida de la líquida, esta última puede ser fácilmente fermentable por la cantidad de compuestos solubles presentes y el bagazo residual puede ser tratado en dos reactores controlando las fases de la digestión anaerobia para obtener altas concentraciones de DQO y AGV en el primer reactor y lograr una producción de biogás más rápida y más eficiente en el segundo reactor.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Evaluar la producción de biogás a partir de la fracción acuosa del lirio acuático

1.5.2. Objetivos Específicos

Caracterizar fisicoquímicamente el líquido extraído del lirio acuático y el bagazo en diferentes estaciones del año.

Evaluar la producción de metano de la fracción acuosa del lirio acuático en una sola etapa de la digestión anaerobia en reactores por lote.

Evaluar la producción de metano en un reactor UASB a diferentes cargas orgánicas, dependiendo de los resultados en lote, estableciendo las condiciones de operación.

1.6. Hipótesis

Ho: La producción de metano a partir de la fracción acuosa de lirio acuático será más eficiente con el aumento de la carga orgánica en el UASB.

H1: El metano producido de la fracción acuosa de lirio acuático no tendrá un aumento significativo por el aumento de la carga orgánica en el UASB.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Muestreo.

Localización: El sitio de muestreo elegido (N 19° 16.903', W 099° 06.155'; 2253 m de altitud CIBAC UAM Xochimilco) forma parte de un acueducto que está interconectado con canales mayores que presentan una actividad antropogénica y turística importante, como lo son los embarcaderos de Cuemanco y el de la Policía Ribereña de la Secretaría de Seguridad Pública (SSP-DF) (Figura 2).



Figura 2. Localización del sitio de muestreo

Recolección de plantas: Para la selección de los especímenes se tomó como criterio el estado de madurez de las plantas. Estas se clasificaron en dos tipos: i) plantas jóvenes y ii) plantas adultas. Se consideraron como plantas jóvenes aquellos especímenes de tamaño pequeño que presentaban bulbos globosos unidos a hojas; mientras que en el segundo grupo se clasificaron a todas aquellas plantas adultas que presentaban bulbos y/o tallos con diferente tamaño y estados de maduración (Figura 3)



Figura 3 Especímenes de lirio acuático recolectadas en el sitio de muestreo.

Plantas jóvenes (izquierda) y adultas (derecha).

Las plantas de lirio antes de ser extraídas del cuerpo de agua fueron enjuagadas con agua del mismo lago para remover sólidos adheridos en toda la planta. Una vez extraídas las plantas del cuerpo de agua se depositaron en la trajinera por alrededor de 30 min para favorecer el escurrimiento del exceso de agua, de ahí se transportaron al laboratorio y se colocaron en refrigeración para su posterior proceso.

2.2 Caracterización de la fracción acuosa y sólida del lirio acuático

2.2.1. Pretratamiento de las plantas

Cada planta fue cortada en trozos y triturada a un tamaño de partícula menor a 0.5 cm en un molino marca TORREY. El material resultante fue filtrado con una gasa para separar la fracción sólida de la líquida. Las fracciones líquida y sólida resultantes fueron caracterizadas en base a los siguientes parámetros: DQO, pH, azúcares totales, composición del biogás, pH y Sólidos totales .

Para poder determinar la concentración de la demanda química de oxígeno (DQO) y los azúcares totales contenidos en el jugo del lirio fue necesario realizar curvas patrón.

2.2.2. Curva patrón para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La preparación de una curva patrón es un método analítico empleado para medir la concentración de una sustancia en una muestra por comparación con una serie de elementos de concentración conocida y se basa en la existencia de una relación en principio lineal entre un carácter medible y una variable a determinar, la curva estándar posee una fase de respuesta lineal sobre la que se realiza una prueba estadística de regresión para evaluar su fiabilidad.

Para la determinación de la concentración de materia orgánica DQO fue utilizado el método de reflujo cerrado (APHA 2005). Se realizó la curva patrón con una solución de glucosa a una concentración de 1000 mg/L disolviendo 0.1 g de glucosa en 100 mL de agua utilizando un matraz aforado de 100 mL, a partir de esta solución se realizaron diluciones con agua destilada para obtener intervalos de concentración de 0 a 1000 mg L⁻¹ como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Elaboración de la curva estándar para DQO.

Tubos	Concentración (mgL ⁻¹)	Volumen de la solución patrón (mL)	Volumen de agua destilada (mL)	Volumen total (mL)
0	0	0	2	2
1	100	0.2	1.8	2
2	200	0.4	1.6	2
3	300	0.6	1.4	2
4	400	0.8	1.2	2
5	500	1	1	2
6	600	1.2	0.8	2
7	700	1.4	0.6	2
8	800	1.6	0.4	2
9	900	1.8	0.2	2
10	1000	2	0	2

Las muestras se realizaron por duplicado con un volumen total de 2 mL, las cuales se colocaron en tubos HACH y se les agregó 1 mL de solución digestora (dicromato de potasio) y 2 mL de la solución de ácido sulfúrico con plata, se homogenizaron y se colocaron en los tubos en una parrilla para digestión durante 2 horas a una temperatura de 150 °C. Posteriormente se enfriaron a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 620 nm en un espectrofotómetro Genesis 10S marca Thermo Scientific. La figura 4 muestra la curva estándar obtenida.

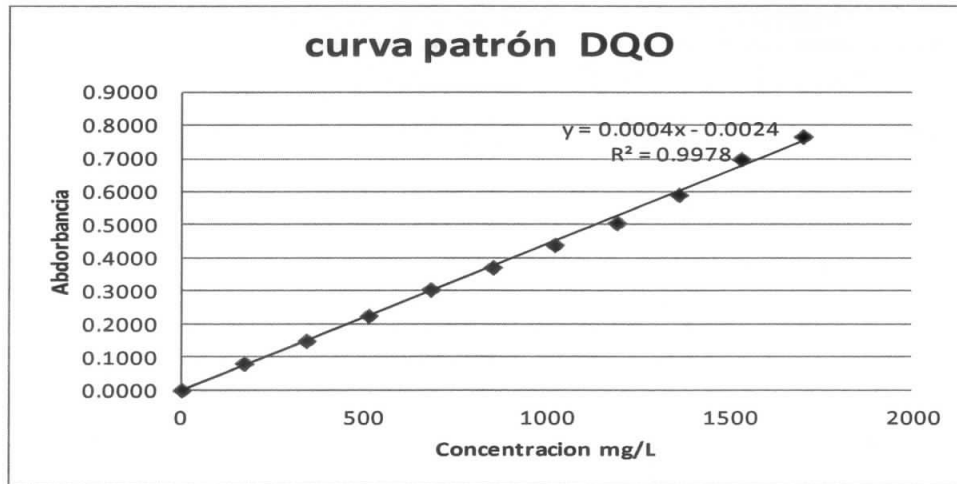


Figura 4.- Curva patrón de DQO

2.2.2.1 Preparación de las muestras para DQO

El blanco y las muestras se prepararon siguiendo la misma metodología que la curva patrón. Se utilizaron en lugar de la solución patrón; 2 mL de la muestra diluida o concentrada por duplicado. Las concentraciones de DQO en cada una de las muestras, se calcularon a partir de la ecuación de la recta obtenida en la curva patrón, multiplicando el valor obtenido por el factor de dilución aplicado en cada una de las muestras.

2.2.3 Curva patrón para la determinación de azúcares totales

Para la determinación de la concentración de azúcares totales fue utilizado el método de fenol sulfúrico Dubois (1957), se realizó la curva estándar con una solución de glucosa a una concentración de 100 mg/L disolviendo 100 mg de glucosa en un matraz aforado de 1000 ml utilizando agua como disolvente. A partir de la solución patrón de glucosa se hicieron diferentes diluciones por duplicado como se indica en la tabla 3. A cada tubo se le adicionó 1 mL de fenol al 5%, inmediatamente se agregó cuidadosamente 5 mL de ácido sulfúrico concentrado con sulfato de hidrazina (0.5%).

Se mezcló perfectamente y se dejó reposar 10 minutos. La absorbancia se midió a 490 nm en el espectrofotómetro Génesis 10S marca Thermo Scientific. Se obtuvo el gráfico mostrado en la figura 5.

Tabla 3. Elaboración de la curva estándar de carbohidratos.

Tubos	Concentración (mgL ⁻¹)	Solución patrón (mL)	Agua destilada (mL)	Volumen total (mL)
0	0	0.00	1	1
1	20	0.20	0.8	1
2	40	0.40	0.6	1
3	60	0.60	0.4	1
4	80	0.80	0.2	1
5	100	1.00	0.00	1

2.2.3.1. Preparación de las muestras para azúcares totales

El blanco se preparó adicionando 1 mL de agua destilada en un tubo de ensaye y las muestras se prepararon agregando 1 mL de muestra diluida o concentrada a cada tubo por duplicado.

A cada tubo se le adicionó 1 mL de fenol al 5%, inmediatamente se agregaron cuidadosamente 5 mL de ácido sulfúrico concentrado con hidrazina. Se mezcló perfectamente y se dejó reposar 10 minutos. La absorbancia se determinó a 490 nm.

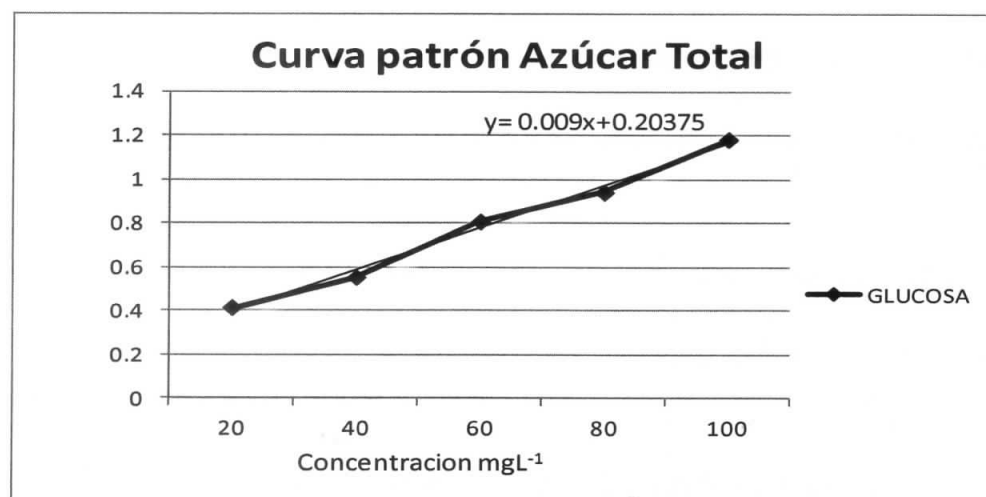


Figura 5.- Curva patrón de azúcares totales

2.2.4.- Determinación de pH.

2.2.4.1 Determinación de pH en la fracción acuosa

El pH de las muestras fue determinado a cada una de las muestras utilizando un potenciómetro Oakton PC2700 con el procedimiento siguiente:

- Calibrar el potenciómetro sumergiendo el electrodo en solución buffer pH 4,7 y 10.
- Enjuagar el electrodo con agua destilada y secarlo con un paño limpio.
- Colocar un agitador magnético en un vaso de precipitado con capacidad 50 mL y colocar 25 mL de jugo de lirio.
- Sumergir el electrodo en la muestra, registrar el valor mostrado en la pantalla del potenciómetro.
- Enjuagar el electrodo con agua destilada y secarlo con un paño limpio.
- Colocar el electrodo en la solución de pH 4.

2.2.4.2 Determinación de pH en la fracción sólida

- Tomar 10 g de la fracción sólida del lirio acuático y macerarlo en un crisol
- Adicionar agua al crisol y la mezcla colocarla en un vaso de precipitado de 250 ml
- Colocar un agitador magnético en el vaso, accionar la parrilla de agitación.
- Sumergir el electrodo en la muestra, registrar el valor mostrado en la pantalla del potenciómetro.
- Enjuagar el electrodo con agua destilada y secarlo con un paño limpio.
- Colocar el electrodo en la solución de pH 4.

2.2.5 Determinación de sólidos suspendidos totales

Los sólidos suspendidos totales son el residuo no filtrable de una muestra de agua natural o residual y es la porción de sólidos retenidos por un filtro de fibra de vidrio que posteriormente es secado a altas temperatura.

Se determinaron sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos fijos, y sólidos suspendidos volátiles, con el fin de conocer la cantidad de compuestos orgánicos, volátiles e inorgánicos, tanto en los lodos como en las muestras de jugo del lirio acuático.

2.2.5.1. Determinación de sólidos suspendidos totales en la fracción líquida

Las membranas filtrantes utilizadas fueron puestas a peso constante en estufa a 105 °C, durante 2 horas y después colocadas en un desecador durante 30 minutos, este procedimiento se repitió tres veces hasta llegar a un peso constante. Se filtró la muestra y los filtros fueron colocados de nuevo en la estufa a 105 °C por 2 horas, se dejaron enfriar en el desecador durante 30 minutos, repitiendo el procedimiento dos veces más y se registró el peso (sólidos secos). Posteriormente los filtros conteniendo las muestras secas se colocaron en una mufla a 550 °C, durante 30 minutos, después fueron colocadas de nuevo en la estufa a 105°C durante 30 minutos para evitar un cambio brusco de temperatura, pasado el tiempo fueron colocadas en el desecador por otros 30 minutos y se registró el peso de las cenizas (sólidos fijos). Los sólidos suspendidos volátiles fueron calculados a partir de la diferencia de los sólidos totales menos los sólidos fijos.

2.2.5.2. Determinación de sólidos totales en la fracción sólida (bagazo).

Los crisoles utilizados fueron puestos a peso constante en estufa a 105 °C, durante 2 horas y después colocados en un desecador durante 30 minutos, este procedimiento se repitió tres veces hasta llegar a un peso constante. Se pesaron 10 g de la muestra y fueron colocados de nuevo en la estufa a 105 °C por 2 horas, se dejaron enfriar en el desecador durante 30 minutos, repitiendo el procedimiento dos veces más, se registró el peso (sólidos secos). Posteriormente se colocaron dentro de la mufla durante 30 minutos a 550 °C, después fueron colocados en estufa a 105°C durante 30 minutos pasado el tiempo fueron colocados en el

dsecador por otros 30 minutos y se registró el peso (sólidos fijos). Los sólidos volátiles fueron calculados a partir de la diferencia de los sólidos totales menos los sólidos fijos

2.3.- Digestión anaerobia del jugo del lirio acuático en reactores por lote.

Se llevó a cabo la digestión anaerobia del jugo de lirio extraído diluido con agua residual municipal. Los reactores consistieron en botellas serológicas de 120 mL, con 80 ml de volumen útil. El inóculo consistió de lodos granulares anaerobios del reactor UASB que trata aguas residuales del campus. Cada botella fue inoculada con 23 mL de lodo equivalente a 1 gSV. Las botellas fueron preparadas por triplicado. Se hicieron 5 tratamientos de jugo de lirio y agua residual como se muestra en la Tabla 4. Después de colocar cada una de las mezclas y de inocular, se hizo pasar en cada una de las botellas una corriente de nitrógeno durante un minuto para desplazar el oxígeno presente en cada una de ellas. Posteriormente se colocaron tapones de neopreno y fueron selladas con aros de aluminio (figura 6), para lograr las condiciones anaerobias. Se incubaron a una temperatura de 30 ± 2 °C durante 20 días. Al inicio de las cinéticas una de las botellas de cada tratamiento fue sacrificada para cuantificar sólidos suspendidos totales y fijos, BOD, pH y azúcares totales solubles. Diariamente se medía la producción de biogás por medio del desplazamiento de una solución salina y su composición por cromatografía de gases.

Tabla 4. Diseño experimental de la digestión anaerobia del jugo de lirio acuático en lote.

Tratamientos	Agua residual (AR) (mL)	Jugo de lirio acuático (JLA)(mL)	Lodos anaerobios (mL)
AR	57	0	23
AR + JLA25%	43	14	23
AR+ JLA50%	28.5	28.5	23
AR + JLA75%	14	43	23
JLA	0	57	23

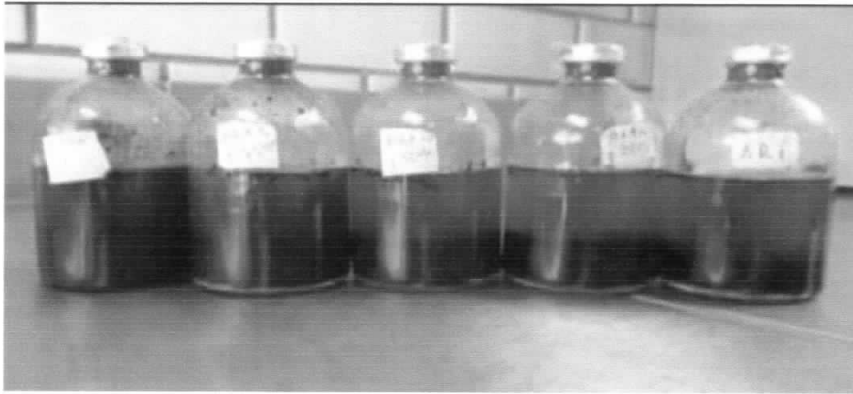


Figura 6. Botellas con jugo de lirio acuático y agua residual

2.3.1.- Determinación del volumen y la composición de biogás

El volumen de biogás fue determinado por el desplazamiento de una solución salina (NaCl 300 g/L) contenida en tubos o botellas serológicas a diferentes intervalos de tiempo. Los tubos conteniendo el biogás fueron mantenidos en refrigeración hasta la determinación de su composición en el cromatógrafo.

La composición del biogás fue determinada por cromatografía de gases, en un cromatógrafo GOW-MAC con un detector de conductividad térmica (TDC) y una columna de acero empacada con carbosphere malla 80/100, utilizando helio como gas acarreador.

Las condiciones de operación fueron:

- Temperatura de columna : 140°C
- Temperatura del detector: 190°C
- Temperatura del inyector: 170°C
- Presión 40 psi
- Flujo: 25 mL/min.
- Temperatura del detector de corriente: 120°C
- Polaridad : 120 Ma.

Para determinar la composición del biogás se inyectó 0.1 mL del biogás producido en el puerto de inyección del cromatógrafo, dicha muestra fue tomada directamente de los tubos que contenían la salmuera y el biogás.

Para poder evaluar la degradación anaerobia en cada uno de los tratamientos se midió a cada una de las botellas, al inicio y final de las cinéticas pH, DQO y azúcares solubles y la concentración de los sólidos suspendidos totales y fijos

2.4.-Digestión anaerobia de la fracción acuosa de lirio acuático en mezcla con agua residual municipal en un reactor UASB a diferentes cargas orgánicas.

Para este estudio se utilizó un reactor con capacidad de 1.8 L de volumen útil. La alimentación en continuo consistió de una mezcla del 25% de fracción acuosa de lirio acuático y 75% de agua residual del campus. El reactor fue inoculado con 360 mL de lodos anaerobios granulares provenientes de la planta piloto que trata las aguas residuales de la UAM-I. Por la parte de arriba del reactor se colocó una columna de vidrio con salmuera (300g/L de NaCl) para la captación y medición del biogás. El reactor fue incubado en un cuarto a temperatura de 30 ± 2 °C., como se muestra en la figura 7. Diariamente se midió el volumen de biogás generado, pH, DQO y azúcares totales usando las técnicas analíticas descritas en la sección 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4, y 2.2.5 de materiales y métodos.



Figura 7.- Digestión Anaerobia de la mezcla de jugo de lirio acuático y agua residual en el reactor UASB.

3. RESULTADOS

Y

DISCUSIÓN

3.1. Caracterización de la fracción líquida y sólida de lirio acuático

3.1.1. Características del lirio acuático en los diferentes muestreos

Otoño: Las plantas de lirio acuático obtenidas del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC) fueron jóvenes y adultas ver tabla 5.

Invierno: Las plantas obtenidas fueron solo jóvenes con las características presentadas en la tabla 5.

Primavera: Las plantas obtenidas fueron adultas con las características descritas con las características de la tabla 5.

Tabla 5. Características de las plantas recolectadas en el lugar de muestreo

	Planta Joven	Planta Adulta
Tamaño tallo	25 cm a 35 cm	35 cm a 70 cm
Tamaño raíz	5 cm a 10 cm	10 a 25 cm
Tamaño bulbo	5cm a 15 cm	Sin bulbo
Tamaño Hoja	3cm a 7 cm	7 cm a 15cm
Tamaño Flor	Sin Flor	Sin Flor

3.1.2. Caracterización fisicoquímica del lirio acuático.

La tabla 6 muestra los resultados de la caracterización de la fracción sólida (bagazo) y la fracción acuosa de lirio acuático, en las diferentes estaciones del año.

Tabla 6. Caracterización fisicoquímica del lirio acuático

VARIABLE	Otoño		Invierno		Primavera	
	Fracción acuosa	Fracción sólida	Fracción acuosa	Fracción sólida	Fracción acuosa	Fracción sólida
pH	6.42	6.016	6.42	6.1	6.42	6.25
Sólidos Totales	93 g/L ± 0.018	230 gKg ⁻¹ ± 0.0005	260.7 gKg ⁻¹ ± 0.097	227.5 gKg ⁻¹ ± 0.0037	105.01gL ⁻¹ ± 0.073	148.5 gKg ⁻¹ ± 0.0003
Sólidos Fijos	16 g/L ± 0.003	24 gKg ⁻¹ ± 0.0003	36.9 gKg ⁻¹ ± 0.011	28.9 gKg ⁻¹ ± 0.005	28.8 gL ⁻¹ ± 0.027	25.1 gKg ⁻¹ ± 0.001
Sólidos Volátiles	77 g/L ± 0.015	206 gKg ⁻¹ ± 0.0002	198.8 gKg ⁻¹ ± 0.086	198.6 gKg ⁻¹ ± 0.001	76.17 gL ⁻¹ ± 0.045	123.6 gKg ⁻¹ ± 0.001
DQO	40 gL ⁻¹ ± 0.01	No realizado	40.98 gL ⁻¹ ± 0.03	No realizado	26.91 gL ⁻¹ ± 0.001	No realizado
Azúcares totales	4.87 gL ⁻¹ ± 0.023	No realizado	4.86 gL ⁻¹ ± 0.053	No realizado	3.64 gL ⁻¹ ± 0.108	No realizado

En la tabla anterior se puede observar que existen diferencias fisicoquímicas con la fracción acuosa del lirio acuático recolectado en las tres estaciones, obteniendo valores más bajos para sólidos (totales, fijos y volátiles) en otoño comparado con los recolectados en invierno y primavera. Esto podría deberse a que hay una dilución de las aguas donde crece el lirio debido a la lluvia y como consecuencia una dilución de la materia orgánica presente, con respecto a las cantidades de azúcar y DQO se encontraron valores muy similares en la temporada de Otoño e Invierno sin embargo los valores encontrados para la etapa de primavera fueron un 30 % más bajos, posiblemente a que sólo se muestrearon planta adultas Juárez (2011) reporta una concentración de compuestos lignocelulósicos (lignina y hemicelulosa) más alta en plantas adultas. El pH obtenido en las tres estaciones es muy similar y está por arriba de 6.0 lo cual es favorable para la producción de metano.

La fracción sólida tuvo un comportamiento similar al de la fracción líquida con la variable de sólidos (totales, fijos y volátiles).), ya que al separar la fracción sólida de la líquida la humedad es menor. El pH obtenido en las tres estaciones al igual que en la fracción líquida es muy similar y esta por arriba de 6.0 lo cual también puede favorecer la producción de metano.

3.2. Digestión anaerobia de la fracción acuosa del lirio en cinéticas por lote.

Se llevaron a cabo cinéticas por lote para evaluar la producción de biogás a partir de jugo de lirio acuático diluido con agua residual municipal. La tabla 7 muestra los resultados de las variables medidas en el inicio y final de las cinéticas por lote para cada uno de los tratamientos

Tabla 7. Variables de respuesta de las cinéticas por lote de la fracción acuosa de lirio acuático

Tratamiento	Tiempo (días)	pH	SST (gL ⁻¹)	SSV (gL ⁻¹)	DQOs* (gL ⁻¹)	Azúcares totales s* (gL ⁻¹)
AR 1	0	7.943	49.01	25.1	0.236	N.D.
	19	8.057	14.31	6.91	0.089	N.D.
AR + L25%	0	7.623	86	47.1	2.065	0.222
	19	7.877	13.55	6.65	0.348	0.02
AR + 50%	0	7.035	74.7	39.9	3.981	0.499
	19	7.902	17.5	8.1	0.781	0.023
AR + 75 %	0	6.775	87.6	48	6.598	1.519
	19	7.888	25.9	12.1	2.048	0.049
LIRIO	0	6.242	88.8	45.7	8.615	4.443
	19	7.52	31.8	16.1	4.515	0.04

S* = soluble

Se puede observar en todos los tratamientos un aumento en el pH al final de las cinéticas, lo que favoreció la producción de biogás, ya que el pH óptimo para la metanogénesis es de 6.5 a 8.5 Lorenzo (2005).

Los sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles contenidos en cada uno de los tratamientos disminuyó después de 20 días de tratamiento indicando que la materia orgánica fue transformada a biogás. La misma tendencia se presenta con la DQO, confirmando que el material orgánico presente en los distintos tratamientos fue degradado vía anaerobia.

El consumo de los azúcares totales solubles presentes al inicio de las cinéticas es prueba de que los compuestos solubles fueron degradados.

La figura 8, muestra las eficiencias de degradación de cada una de las variables estudiadas.

Las eficiencias de remoción de los sólidos suspendidos totales y volátiles disminuyen conforme aumenta la concentración inicial de éstos, sin embargo para

todos los tratamientos está por arriba del 60% lo que indica una buena remoción de sólidos suspendidos.

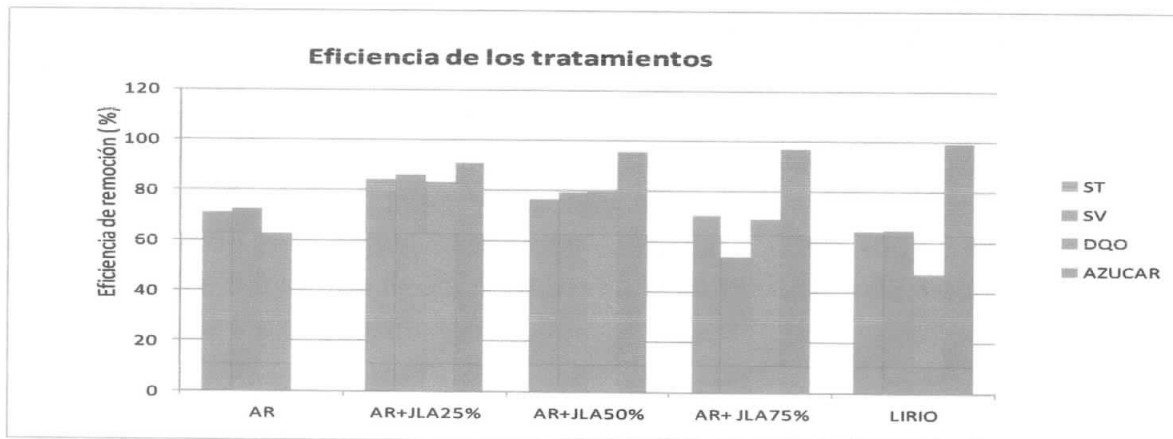


Figura 8. Eficiencias de remoción de SST, SSV, DQO y azúcares totales solubles de la digestión anaerobia de la fracción acuosa de lirio acuático en los distintos ensayos.

La eficiencia en la remoción de azúcares totales para todos los casos estuvo por arriba del 90% indicando un consumo de azúcares total en cada uno de los tratamientos. Por otro lado, las eficiencias de remoción de DQO disminuyen conforme aumenta la concentración de DQO inicial, en el tratamiento de la fracción acuosa de lirio se mostro una eficiencia por abajo del 50% probablemente debido a la concentración de sólidos, que pueden reflejar el contenido de compuestos de difícil degradación como lignina la celulosa, hemicelulosa.

La figura 9 muestra la producción de biogás acumulado para cada uno de los tratamientos.

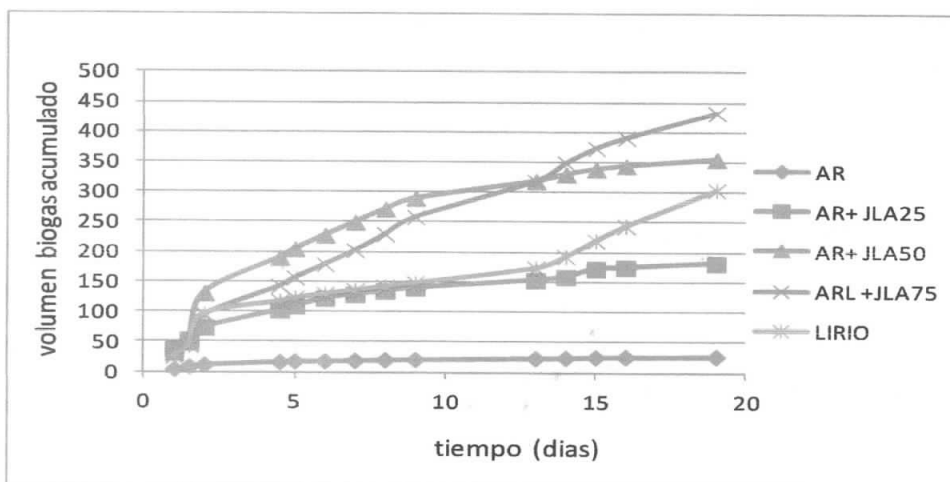


Figura 9. Producción de biogás por digestión anaerobia del Jugo de lirio acuático en los distintos tratamientos.

Se observa que la producción de biogás aumenta, en los tratamientos con mayor contenido de materia orgánica inicial; sin embargo, con el tratamiento que contiene solamente la fracción acuosa del lirio, la producción de biogás es menor, este comportamiento puede explicarse de dos maneras, una que el agua residual aporte nutrientes que favorezcan la actividad de las bacterias presentes en el inóculo, ya que se ha reportado la presencia de ciertos compuestos como N, P y S presente en las aguas residuales o que los sólidos presentes en el jugo, contengan una mayor cantidad de compuestos de difícil degradación como son la celulosa, hemicelulosa, lignina y algunos compuestos inorgánicos que pueden causar inhibición en la digestión anaerobia, ya que el contenido de cenizas en este tratamiento fue mayor. La figura 10 muestra la composición de metano acumulado en cada uno de los ensayos.

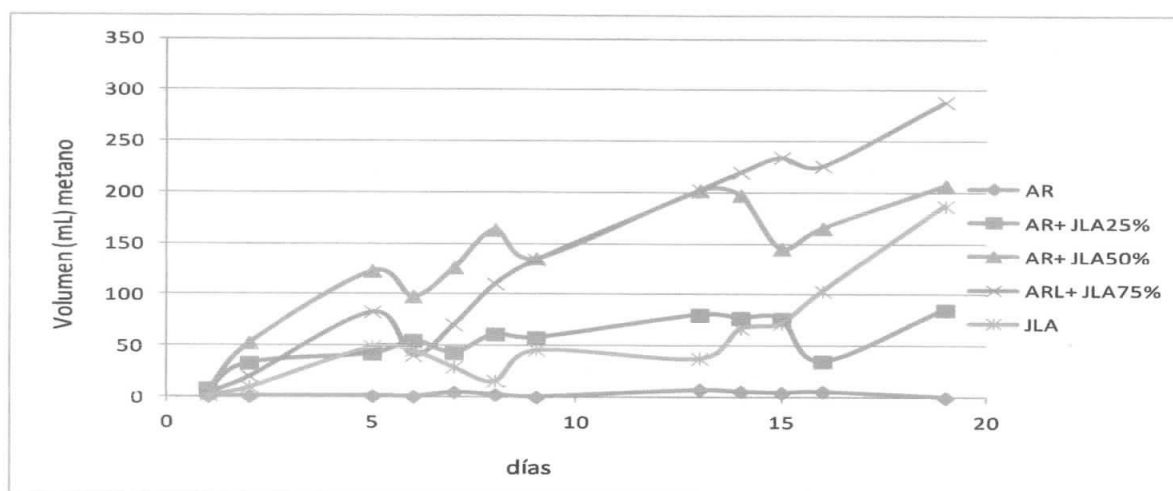


Figura 10. Producción de metano acumulada en la digestión anaerobia de la fracción acuosa de lirio acuático en los distintos tratamientos.

Se observa que la producción de metano en el ensayo con sólo agua residual es muy baja, comparada con los ensayos que se hicieron en mezcla, esto debido a la baja cantidad de materia orgánica (0.230 gL^{-1}), presente en el agua residual como se muestra en la Tabla 7. En el ensayo con sólo jugo de lirio se observa un periodo de 13 días donde la producción de metano es baja y constante, debido muy probablemente a que ocurren procesos de fermentación que pudieron haber aumentado la producción de ácidos grasos volátiles y el biogás producido haya estado formado preferentemente por CO_2 , sin embargo, después de este periodo se observa un aumento considerable en el metano producido, indicando la metanización de los AGV formados. También se observa que la mayor producción de metano se da en el tratamiento de AR+ L75% con un valor de 380 mL de metano acumulado.

3.3 Digestión anaerobia de la fracción acuosa de lirio acuático en mezcla con agua residual municipal en un reactor UASB a diferentes cargas orgánicas.

Para iniciar la digestión anaerobia, el reactor UASB fue alimentado con una carga orgánica promedio de $8 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ y en la segunda etapa de la digestión anaerobia fue alimentado con una carga orgánica promedio de $2 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$. La mezcla de jugo de lirio y agua residual modifica la carga orgánica, debido a que la DQO en el agua residual y el jugo de lirio dependen del lote que se alimenta.

La figura 11 muestra la remoción de la DQO y su eficiencia de degradación en los periodos. En los primeros 13 días de inicio de la alimentación se puede considerar como un periodo de arranque del reactor por los valores inestables que presenta; sin embargo, después de este periodo el reactor presenta un estado pseudoestacionario ya que la carga orgánica y las eficiencias de remoción son constantes. Bajo estas condiciones se obtienen eficiencia de remoción de la carga orgánica mayores al 90%.

La disminución en la concentración de DQO de alimentación fue en la segunda etapa (JLA 10% + AR) debido a que se observó que con 14 gDQO/L parte de los sólidos presentes en el jugo de lirio se precipitaban en el fondo del reactor, disminuyendo la producción de biogás, este comportamiento se atribuyó a que probablemente los sólidos precipitados fueran de compuestos de difícil degradación y esto ocasionaba una disminución en la producción del biogás, aunque también se tuvieron problemas en la captación de éste. En esta segunda etapa fueron 2 o 3 días de estabilización, después de este corto periodo el reactor presentó eficiencias de remoción constantes, en estas condiciones se obtuvieron valores de remoción promedio del 94.5% siendo un 4.5% más eficiente que en el primer periodo (JLA 25% + AR).

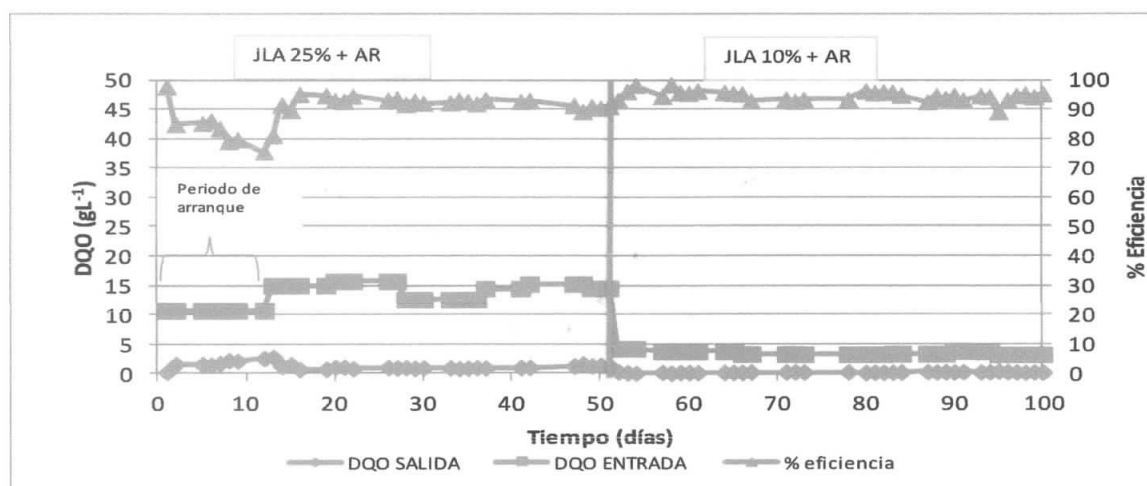


Figura 11.- Remoción de la DQO soluble en el reactor UASB a partir de la fracción acuosa de lirio acuático

La figura 12 muestra el comportamiento del pH de la mezcla de alimentación al reactor y también de la salida, se puede observar que el pH se encuentra entre valores de 7.13 y 8.45 para la salida del UASB y entre 7.46 a 8.76 para la entrada del UASB todos los valores encontrados en los dos periodos son favorables para que se lleve a cabo la digestión anaerobia con el jugo de lirio acuático. En la literatura varios autores mencionan que el pH para que se lleve a cabo la digestión anaerobia puede mantenerse entre 6.2 y 8.8 Kunatsa (2013), Lorenzo, (2005), Njogu (2015). El agua residual que se usó como diluyente tuvo influencia en la variabilidad de los valores, sin embargo a pesar de dicha variación el pH no estuvo fuera de rango establecido en literatura. La variación del pH también puede ser atribuible a la acción durante la hidrólisis, la acetogénesis y la metanización de la alimentación al UASB, ya que el proceso produce iones hidroxilo así como iones hidronio variando el pH Njogu (2015)

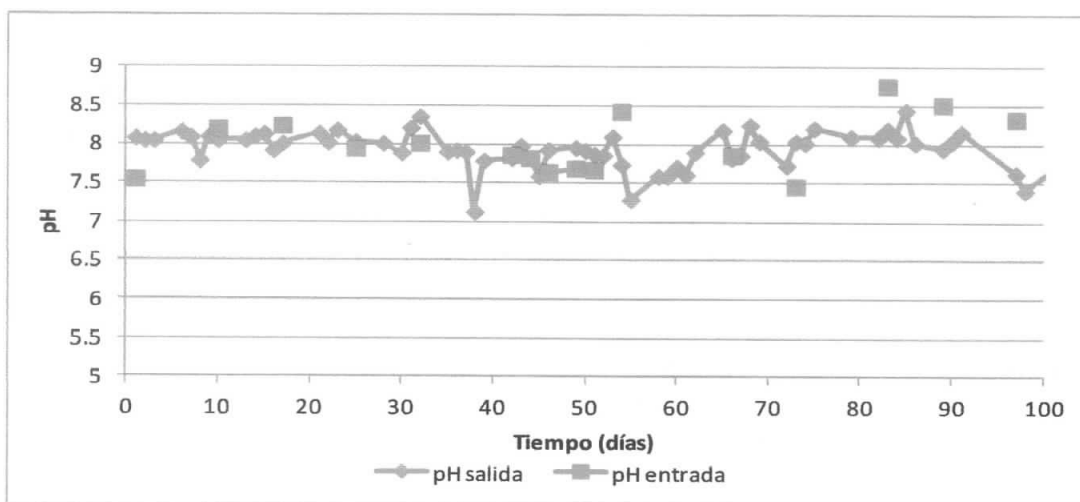


Figura 12. Evolución del pH en el influente y efluente del reactor UASB

La figura 13, muestra la carga de azúcares totales en el influente y efluente del reactor.

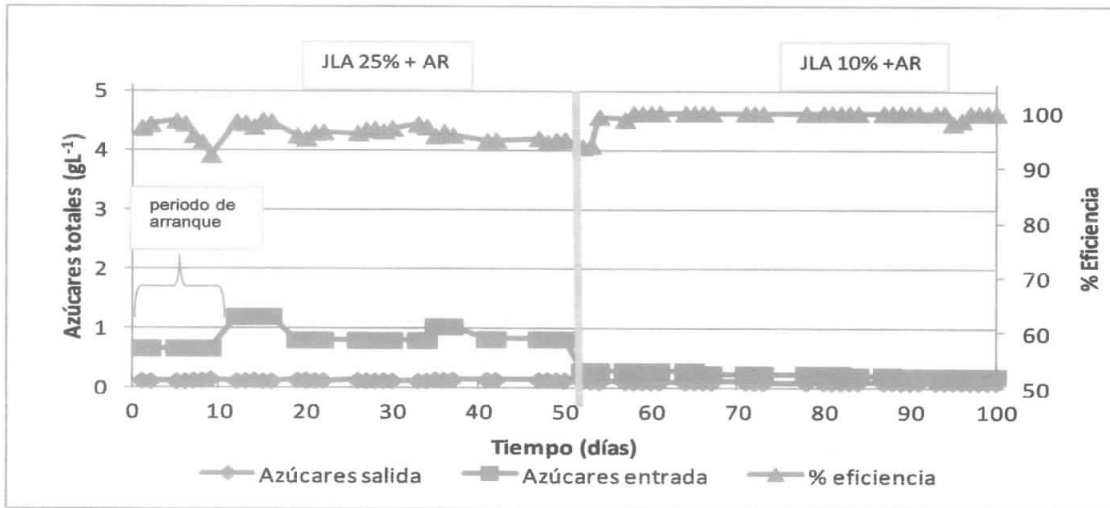


Figura 13.- carga de azúcares totales en el influente y efluente del reactor UASB

La carga de azúcares ingresados al reactor fluctuó entre 0.35 gL^{-1} y 1.09 gL^{-1} debido a los azúcares contenidos en el jugo de lirio, se puede observar una variabilidad en la cantidad de azúcar en las dos etapas debido a que hay dos estaciones involucradas invierno y primavera, así como también hay dos diferentes porcentajes de lirio acuático 10% y 25% respectivamente. La carga de azúcares en la salida del reactor fluctuó entre 0 gL^{-1} y 0.07 gL^{-1} , Los valores casi nulos de azúcar es debido a que estos son muy solubles y resultan ser fácilmente fermentables por los microorganismos presentes en el reactor, por lo que se tienen eficiencias por arriba del 95%.

Por último la producción de biogás y de metano en las dos cargas orgánicas alimentadas en el reactor se muestra en la figura 14.

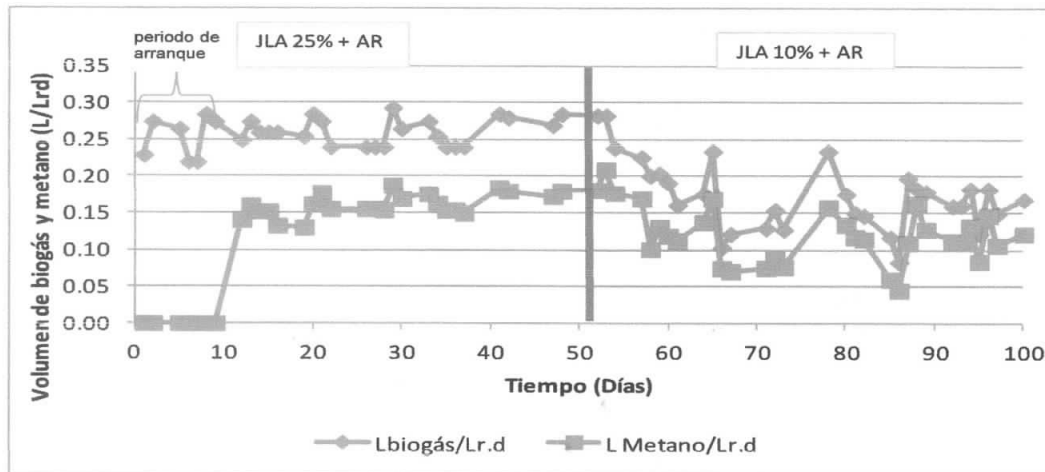


FIGURA 14.- Producción de biogás y metano a partir de la digestión anaerobia de la fracción acuosa del lirio acuático en el UASB

Se observa una producción de biogás en la primer etapa de 0.26 L/Lr.d en promedio, con una producción de metano de 0.16 L/Lr.d, lo que representa un 61.9% de metano en el biogás el cual equivale a 160.9 ml de metano, así como también en la segunda etapa la producción de biogás es de 0.20 L/Lr.d en promedio, con una producción de metano de 0.14 L/Lr.d, lo que representa un 69.7% de metano en el biogás el cual equivale a 139.4 ml de metano. La producción de biogás en la segunda etapa fue mayor y con una concentración de metano más alta, debido probablemente a que durante la primera etapa (25% jugo de lirio acuático) se observó en el UASB una sedimentación de partículas de lirio acuático y esto pudo inhibir la producción de biogás o por fugas del biogás en el reactor UASB detectadas.

En este trabajo es importante resaltar que el metano se detectó a partir del día 8 de iniciada la alimentación en el UASB, probablemente debido a la adaptación de los microorganismos del inóculo a la mezcla, coincidiendo con la etapa de arranque detectada en la figura 11.

Diversos autores han estudiado la digestión anaerobia de lirio acuático y reportan contenidos de metano en el biogás por abajo del 50 %, O'sullivan (2010); Njogu, (2015). En este trabajo el contenido de metano en el biogás para las dos cargas orgánicas alimentadas fue mayor al 60 %, lo que indica que se mejora la metanogénesis, usando solamente el jugo del lirio acuático.

Los valores de metano reportados son menores al metano que se esperaría si se hace un balance teórico a partir de la DQO removida ya que la teoría menciona que por cada gramo de DQO removida se esperaría obtener 0.34 LCH₄. Estos valores son menores debido a que se detectaron fugas en la captación del biogás en la columna con salmuera o que parte de los compuestos presentes en la mezcla de jugo y agua residual estén causando algún tipo de inhibición en la metanogénesis.

CONCLUSIONES

- La fracción acuosa y la fracción sólida del lirio acuático tienen características fisicoquímicas favorables para la producción de metano.
- La fracción acuosa de lirio acuático contiene una gran cantidad de compuestos solubles fácilmente fermentables como los azúcares.
- La eficiencia de remoción de los azúcares es directamente proporcional a las concentraciones iniciales en la mezcla de jugo más agua residual en los reactores por lote.
- En las cinéticas por lote la producción de metano fue mayor en la mezcla del tratamiento AR+L 75% con un volumen acumulado de metano de 289 mL.
- Los valores de pH obtenidos en el reactor UASB se mantuvieron en un intervalo de 7.5 y 8.8 que son favorables para la producción de metano
- Las dos diferentes cargas orgánicas alimentadas al reactor UASB, presentaron eficiencias de remoción de la materia orgánica (DQO) mayores al 90 %.
- En el UASB, los azúcares totales alimentados presentaron eficiencia de remoción por arriba del 95 %.
- La mejor producción de biogás en el reactor UASB fue con la carga de agua residual 90% y 10% de jugo de lirio acuático con resultados de 0.2 L biogás $Lr^{-1}d^{-1}$, con una composición de metano del 70%.

REFERENCIAS

BIBLIOGRAFICAS

APHA (2005). Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, American Public Health Association, Washington, DC.

Cathryn O'Sullivan, Beth Rounsefell, Alistair Grinhamb, William Clarkea, James Udy (2010). Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba Caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*). *Ecological Engineering*, 2010, (36) 1459-1468

Dubois, M., Gilles, KA., Hamilton, J.K., Roberts, P.A. and Smith, F. (1956) Colorimetric Method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. **28**: 350-356.

Gakwavu R. J. 2007. Zinc and chromium removal mechanisms from industrial wastewater by using water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. *National University of Rwanda Faculty of Applied Sciences Department of Civil Engineering*

Gunnarsson G. G. y Mattsson P. C. 2007. Water hyacinths as a resource in agriculture and energy production: A literature review. *Waste Management*, 27, 117 – 129. 17.

Heard T. A., Winterton S. L. Interaction between nutrient status and weevil herbivory in the biological control of water hyacinth *Journal of Applied Ecology* 2000, 37 117-127

Hermoso J.P. 2015. Tesis El aprovechamiento integral del lirio acuático de Xochimilco para la producción de hongos comestibles y forraje para animales. UAM Azcapotzalco.

Jagadish H. Patil, Prajwal H. Sanil. Study on biomethanation of water hyacinth using primary sludge as inoculum. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012, 4(4):2255-2260

Magadish H. Patil 2011. Invasive water hyacinth for renewable energy source in China

Álvarez L. 2011 Tesis " Cambios en la composición de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debido a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica IPN

K. K. Moorhead: & R. A. Nordstedt Batch Anaerobic Digestion of Water Hyacinth Effects of particle size, Plant Nitrogen content, and inoculum. *Bioresource Technology* Volume 44, Issue 1, 1993, 71-76

Kunatsa T. Feasibility study of biogas production from water hyacinth " a case lake Chievo – Zimbawue *International Journal of Engineering and Technology* Volume 3 No. 2, February, 2013.

Lorenzo Y., Obaya C., La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. XXXIX, núm. 1, 2005, pp. 35-48 *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar.*

Malik A. 2007. Environmental challenge vis opportunity: The case of water hyacinth. *Environment International*, 33, 122 – 138.

Mishima D, Tateda M., Ike M., Fujita M. (2006), Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes, *Bioresource Technology*, 97, 2166-2172.

Njogu P. Kinyua R, Muthoni P, Nemoto Y. Biogas production using water hyacinth for electricity generation in Kenya. *Energy and Power Engineering*, 2015, 7, 209-216

Ramírez. F., Rodríguez R., De Jesús A., Martínez F., Rodríguez S. Monroy O. 2014. Two-phase anaerobic digestion of municipal organic solid wastes. *Journal Advances in Biotecnology* 3 (2) 210-218

Rodríguez-Pimentel R.I. (2009). Tesis de especialización en Biotecnología. UAMI.

R. Tomczak-Wandzel, J. Górniaczyk, K. Mędrzycka Gdańsk (2009) *Anaerobic Treatment of Distillery Wastewater* University of Technology, Chemical Faculty, Narutowicza Str. 11/12, 81-952 Gdansk