



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES AVANZADOS  
DEPARTAMENTO DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Título:**

Estudio y caracterización del Sargazo para uso y disposición.

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental**

**Presenta:**

**Q.B.P. David Quiroz Cardoza**

**Director:**

**Dr. Antonino Pérez Hernández**

**Asesores:**

**Dra. María del Rosario Peralta Pérez**

**Dr. Héctor Alfredo López Aguilar**

**M.C. Jesús Manuel Ochoa Rivero**

## ***Dedicatoria.***

A Dios por ayudarme en este camino para seguir cumpliendo metas en mi vida. Por la salud y sabiduría para enfrentar las situaciones adversas a lo largo de mi vida.

Espero seguir adelante para lograr ser un investigador.

A mi esposa (Pilar) que me apoya de manera incondicional y me inspira a ser mejor persona y seguir adelante.

A mis padres (Oralia y Javier) y hermano (Brayan Javier) por apoyarme y estar en mis mejores y peores momentos y darme los ánimos por conseguir y cumplir mis metas y forjas mediante las experiencias vividas juntos el hombre que soy y quiero ser futuro.

A mis profesores, asesores y personal académico por su confianza y apoyo y consejo en la parte académica y proveerme las herramientas para lograr los objetivos planteados en la maestría y moldearme como futuro investigador.

## **Agradecimientos**

Agradezco el apoyo de mi familia mi madre Oralia, mi padre Javier, mi hermano Brayan y mi esposa Pilar por creer en mí en esta nueva etapa de mi vida, me dan la motivación para salir adelante y cumplir mis metas, por tener esos momentos juntos que me ayudan a valorar el esfuerzo y trabajo duro que se hace día a día.

A los doctores y asesores que conforman en cuerpo académico: Dra. María Del Rosario Peralta Pérez, Dr. Héctor Alfredo López Aguilar, Dr. Jorge Alberto Gómez, Dra. Bertha Alicia Rivas Lucero, Dra. Rosa María Leal Bautista, M.C. Jesús Manuel Ochoa Rivero. En especial a mi Director Dr. Antonino Pérez Hernández por confiar en mí para el proyecto, por el apoyo incondicional a lo largo de esta tesis. A cada persona que me ayudo de alguna manera para complementar mi proyecto M.C. Enrique Alberto Huerta Reynoso por enseñarme la parte técnica y asesorarme en aspectos relacionados los resultados. También agradecer la disposición del laboratorio de análisis químicos del CIMAV, Ing. Alejandro Benavides Montoya y Q. Flor Griselda Nevares Vargas por las molestias que se tomaron para obtener los resultados en corto tiempo, a pesar de tener mucho trabajo también extender el agradecimiento a mis sinodales Dra. Liliana Reynoso Cuevas y el M.C. Luis Armando Lozoya Márquez que por sus revisiones y atenciones hicieron mejorar este trabajo.

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a la Secretaria de Marina proyecto 305292 y la Secretaria de Energía (SENER) por el apoyo otorgado a través del proyecto 243715 del Fondo de Sustentabilidad Energética.

¡Gracias!

## Tabla de contenido

<b>RESUMEN .....</b>	<b>X</b>
<b>1 Introducción .....</b>	<b>11</b>
<b>2 Antecedentes .....</b>	<b>13</b>
2.1 La situación del sargazo en México .....	13
2.1.1 Sargazo en México .....	13
2.2 El sargazo como materia prima en la digestión anaerobia.....	13
2.3 Marco teórico .....	15
2.4 Economía circular (EC) .....	15
2.5 Procesos de la digestión anaerobia .....	17
2.5.1 Digestión anaerobia .....	17
2.5.2 Co-digestión anaerobia .....	17
2.5.3 Etapas del proceso DA.....	18
2.5.4 Hidrólisis.....	19
2.5.5 Acidogénesis.....	19
2.5.6 Acetogénesis .....	19
2.5.7 Metanogénesis.....	20
2.6 Factores que influyen en el proceso de la digestión anaerobia.....	20
2.6.1 Relación Carbono-Nitrógeno (C/N) .....	20
2.6.2 Relación Sustrato-Inóculo (S/I).....	21
2.6.3 Temperatura.....	22
2.6.4 Composición del residuo .....	22
2.6.5 pH .....	23
2.6.6 Inhibición y toxicidad.....	23
2.7 Productos del proceso de la digestión anaerobia.....	25
2.7.1 Biogás .....	25
2.7.2 Producción de metano a partir de algas .....	25
2.7.3 Potencial Bioquímico de Metano (PBM) .....	26
2.7.4 Limitaciones en el uso del biogás.....	26
2.8 Metales presentes en el sargazo .....	27
2.9 Digestato .....	28

2.9.1	Características fisicoquímicas del digestato.....	29
2.9.2	Aplicaciones potenciales del digestato .....	31
2.9.3	Digestato y su aplicación en la agricultura.....	33
2.10	Semillas seleccionadas para la germinación con digestato de sargazo	34
2.10.1	Zacate navajita ( <i>Bouteloua gracilis</i> ) .....	34
2.10.2	Germinación de semillas .....	35
2.10.3	Índices de germinación .....	36
<b>3</b>	<b>Justificación.....</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>Hipótesis.....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>Objetivo Principal .....</b>	<b>38</b>
5.1	Objetivos Específicos .....	38
<b>6</b>	<b>Metodología.....</b>	<b>40</b>
6.1	Muestreo y recolección de la materia prima.....	40
6.2	Lavado y secado del sargazo para su almacenamiento.....	41
6.3	Recolección de fracción orgánica residuos sólidos urbanos (FORSU) ....	41
6.4	Caracterización de la materia prima y digestato .....	43
6.4.1	Determinación de elementos C, H, N, S o análisis último del sargazo y FORSU .....	43
6.4.2	Determinación de metales en el sargazo, FORSU .....	43
6.4.3	Determinación de sólidos volátiles en sargazo y FORSU .....	43
6.4.4	Análisis de pH del sargazo y FORSU .....	43
6.5	Diseño de los digestores anaerobios .....	44
6.5.1	Composición de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) .....	44
6.5.2	Pruebas de la digestión anaerobia de sargazo.....	44
6.5.3	Rendimiento teórico de la digestión anaerobia.....	47
6.5.4	Cuantificación de biogás y metano producido.....	47
6.5.5	Análisis estadístico para selección del tamaño de partícula con mejor rendimiento	48
6.6	Caracterización del digestato obtenido .....	48
6.6.1	Determinación de elementos C, H, N y S o análisis último del digestato .....	48
6.6.2	Determinación de metales en el digestato .....	48
6.6.3	Porcentaje de humedad del digestato .....	48
6.6.4	Análisis de pH del digestato .....	49

6.7	Bioensayo del digestato como promotor en la germinación .....	49
6.8	Calculo de la huella de carbono normada por la ISO 14067 .....	50
<b>7</b>	<b>Resultados y discusión.....</b>	<b>51</b>
7.1	Recolección de sargazo .....	51
7.2	Morfología del sargazo.....	52
7.3	Caracterización de la materia prima e inóculo .....	53
7.3.1	Análisis último y metales del sargazo, FORSU e inóculo .....	53
7.4	Análisis de sólidos volátiles.....	58
7.5	Características de la materia prima para la DA.....	59
7.6	Producción de biogás.....	61
7.6.1	Producción de biogás a partir del tamaño de partícula .....	61
7.6.2	Producción de biogás a partir de la relación Carbono/Nitrógeno .....	64
7.6.3	Análisis de varianza (ANOVA).....	68
7.7	Potencial bioquímico de metano (PBM) .....	69
7.8	Volumen de metano .....	70
7.9	Partes por millón de H <sub>2</sub> S .....	71
7.10	Rendimiento teórico de la DA estimada mediante la ecuación de Buswell.....	72
7.11	Biodegradación del carbono .....	74
7.12	Biodegradación de sólidos volátiles .....	75
7.13	Caracterización del digestato.....	76
7.14	Comparación del Digestato con la normativa NTEA-006-SMA-2006....	77
7.15	Metales pesados permisibles dentro de la normativa nacional e internacional.....	79
7.16	Bioensayos de fitotoxicidad.....	81
7.17	Huella de carbono.....	83
<b>8</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>84</b>
<b>9</b>	<b>Recomendaciones .....</b>	<b>86</b>
<b>10</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>87</b>
<b>11</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>95</b>

## Índice de tablas

Tabla 1.- Relación Carbono-nitrógeno.....	21
Tabla 2. Relación entre sustratos y porcentaje de generación de gas metano (Acosta et al., 2005).....	22
Tabla 3.- Sustancias inhibitorias de la digestión anaerobia.....	24
Tabla 4. Porcentaje de macro y micro elementos en digestatos obtenidos por DA a partir de diferentes sustratos.....	30
Tabla 5. Aplicaciones alternativas para el digestato.....	31
Tabla 6. Coordenadas del sitio muestreado.....	40
Tabla 7. Fracción orgánica de residuos de cocina sintética .....	44
Tabla 8.- Condiciones del reactor.....	46
Tabla 9. Análisis de elementos del <i>Sargassum sp</i> , FORSU (Fracción Orgánica Residuos Sólidos Urbanos) e inóculo.....	53
Tabla 10. Análisis de elementos de sargazo.....	54
Tabla 11.- análisis de metales para <i>Sargassum sp</i> .....	55
Tabla 12.- Análisis de metales para <i>Sargassum sp</i> (Datos tomados de reporte SEMAR 305292).....	57
Tabla 13. Características del sargazo para la digestión anaerobia.....	60
Tabla 14.- Análisis de Varianza entre el tamaño de partícula y los volúmenes de biogás generados.....	68
Tabla 15.- Producción estimada de metano mediante la ecuación de Buswell para usar sargazo y FORSU como sustratos.....	73
Tabla 16.- Características del digestato resultado de la digestión anaerobia del <i>Sargassum sp</i> .....	76
Tabla 17.- Características fisicoquímicas presentes en los digestatos y su comparación con la NTEA-006-SMA-2006.....	78

## Índice de figuras

Figura 1.	trabajadores empleados en la recolección de sargazo de mayo a noviembre de Espinosa & Li, 2020.....	14
Figura 2.	Diagrama de la gestión sostenible de sargazo para la obtención de sub-productos de valor.....	16
Figura 3.	Etapas de la digestión anaerobia: degradación de macromoléculas por acción microbiana; Fermentación y Acidogénesis; conversión ácidos grasos volátiles (Acetogénesis); conversión acetato a metano; conversión hidrogeno a metano por microorganismos metanogénicos. (Elaboración propia Creado con BioRender.com). ....	18
Figura 4.	Composición de la pared celular del sargazo. (Ortega-Flores et al., 2022).....	28
Figura 5.	Zacate navajita ( <i>Bouteloua gracilis</i> ). Cortesía M.C. Jesús Manuel Ochoa Rivero .....	34
Figura 6.	Fases de la germinación.....	35
Figura 7.	Cambios estructurales de la semilla de soya.....	36
Figura 8.	Mapa del sitio de recolección. ....	40
Figura 9.	Procesos de lavado secado y homogenización.....	42
Figura 10.	a) Biodigestores de mono-digestión de sargazo y co-digestión de sargazo y FORSU. b) cribado para los tamaños de partícula 5 mm y 2 mm.....	45
Figura 11.	Zonas recolección del sargazo. ....	51
Figura 12.	Morfología del sargazo muestreado en las playas de Puerto Morelos.....	52
Figura 13.	Análisis termogravimétrico y DTG del <i>Sargassum sp.</i> .....	58
Figura 14.	Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con relación C/N=15.....	61
Figura 15.	Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con relación C/N=20.....	62
Figura 16.	Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con relación C/N=30.....	63
Figura 17.	Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con Tamaño de partícula 5 mm.....	64
Figura 18.	Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con Tamaño de partícula 2 mm.....	65
Figura 19.	Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con Tamaño de partícula 0.6 mm.....	66
Figura 20.	Gráfica de interacción del volumen acumulado por tamaño de partícula y su relación C/N. ....	68
Figura 21.	Potencial Bioquímico de metano acumulado (PBM).....	69
Figura 22.	Volumen acumulado de metano. ....	70



Figura 23. Generación de H <sub>2</sub> S en los reactores experimentales. ....	71
Figura 24. Porcentaje de carbono biodegradado durante el proceso de degradación anaerobia.....	74
Figura 25. Porcentaje de Sólidos volátiles biodegradados durante el proceso de degradación anaerobia.....	75
Figura 26. Concentración de zinc en el digestato. ....	79
Figura 27. Concentración de Arsénico en el digestato. ....	80
Figura 28. Germinación de <i>B. gracilis</i> en caja Petri con diferentes concentraciones de digestato.....	82
Figura 29. Índice de germinación de <i>B. gracilis</i> en diferentes concentraciones de digestato partícula de 2 mm. ....	82
Figura 30. Escenarios del impacto en cambio climático por emisiones de CO <sub>2</sub> a la atmósfera.....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Descripción</b>
<b>DA</b>	Digestión Anaerobia
<b>S/I</b>	Sustrato-inóculo
<b>C/N</b>	Carbono-nitrógeno
<b>CH<sub>4</sub></b>	Metano
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfuro de hidrógeno
<b>BSR</b>	Bacterias sulfato reductoras
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>LCT</b>	Life Cycle Thinking (perspectiva del ciclo de vida)
<b>kWh/año</b>	Kilo Watt por año
<b>Ton CO<sub>2</sub>/ año</b>	Toneladas de CO <sub>2</sub> por año
<b>mg L<sup>-1</sup></b>	Miligramos por litro
<b>CH<sub>4</sub>/gSV</b>	Metano por gramos de sólidos volátiles
<b>°C</b>	Grado centígrado
<b>Biogás/gSV</b>	Biogás por gramos de sólidos volátiles
<b>BPM</b>	Potencial bioquímico de metano
<b>FORSU</b>	Fracción orgánica de residuos solidos urbanos
<b>S</b>	Azufre elemental
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Agua
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>Cu</b>	Cobre
<b>Mo</b>	Molibdeno
<b>Sn</b>	Estaño
<b>Mn</b>	Manganeso
<b>Zn</b>	Zinc
<b>Ni</b>	Niquel
<b>Co</b>	Cobalto
<b>Fe</b>	Hierro

<b>As</b>	Arsénico
<b>NH<sub>3</sub></b>	Amoniaco
<b>OSHA</b>	Administración de Seguridad y Salud Ocupacional de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés
<b>pH</b>	Potencial Hidrógeno
<b>% C</b>	Porcentaje de carbón
<b>% O</b>	Porcentaje de oxígeno
<b>% SV</b>	Porcentaje de sólidos volátiles
<b>% N</b>	Porcentaje de nitrógeno
<b>% S</b>	Porcentaje de azufre
<b>% P</b>	Porcentaje de fósforo
<b>% K</b>	Porcentaje de potasio
<b>% Ca</b>	Porcentaje de calcio
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mg/mL</b>	Miligramos por mililitro
<b>mm</b>	Milímetros
<b>Ec.</b>	Ecuación

## RESUMEN

El masivo arribo de sargazo a las costas es un problema de carácter social, ambiental y económico. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo es evaluar los productos obtenidos de la digestión anaerobia (DA) del sargazo para su valorización desde la perspectiva circular para el uso del material no digerido (Digestato) como mejoradores de suelos.

Bajo las consideraciones teóricas, establecidas por el cálculo del potencial de metanización (BPM), se establecieron las relaciones C/N 15, 20 y 30 que favorecerían la digestión del sustrato en el desarrollo experimental. Además de considerar tres tamaños de partícula, 5, 2 y 0.6 mm, para su fermentación. El tamaño de partícula de 2 mm, mostró mejores resultados experimentales en la generación de biogás produciendo hasta 1763 cm<sup>3</sup>/gSV de biogás y hasta 1401.03 mL de CH<sub>4</sub>, mientras que la evaluación del potencial bioquímico de metano (PBM) experimental alcanzo un acumulado de 92.62 mL CH<sub>4</sub>/gSV en 35 días de tratamiento. De acuerdo con estos resultados es posible el obtener biogás de la DA del sargazo con una composición de metano aceptable para su valorización.

La alta concentración del sulfuro de hidrogeno en el biogás, de hasta 15,721.66 mg/L al inicio de la digestión anaerobia, aun cuando disminuye con el tiempo hace obligatorio el pretratamiento para reducir esta concentración según su aplicación.

El digestato obtenido luego de la DA tiene los nutrientes para ser valorizado como un mejorador de suelos según la NTEA-006-SMA-2006. Sin embargo, existe la limitante debido a que sobrepasa los niveles permisibles de metales pesados como arsénico 5 mg/Kg, encontrando en los digestatos evaluados valores desde los 19 mg/Kg hasta los 30 mg/Kg de arsénico. Además en las pruebas de germinación para la partícula de 2 mm se muestran índices que indican una toxicidad de moderada a baja en concentraciones entre el 60 y 100% de digestato puro, indicando que el digestato influye en los procesos de germinación.

El cálculo de huella de carbono, concluye que el impacto causado de implementar o no la DA como tecnología para el aprovechamiento del sargazo de las playas mexicanas se le atribuye un 66.18% a la recolección y transporte, dejando un 33.82% restante relacionado a la digestión anaerobia.

## 1 Introducción

El término alga se refiere a organismos fotosintéticos acuáticos que tienen metabolismo autótrofo y presentan clorofila *a*, característica que comparten con las plantas superiores (Dreckman, 2014). A pesar de la controversia generada en torno a su clasificación biológica y su estrecha relación con otros grupos como plantas, bacterias, hongos y protozoarios, las algas comparten una serie de características comunes que las han mantenido como una gran agrupación (poliefilética) (Dreckman & Senties, 2014).

Las macroalgas se dividen en 2 clases: macroalgas enanas (menores a 10 cm de longitud) y grandes macroalgas (mayores a 10 cm de longitud) (Vilchis & Dreckman, 2018). Ejemplares como *Rhodophyta* y *Sargassum* pueden ser detectadas a simple vista, son multicelulares y presentan diferentes colores (rojo, verde, café) y formas (filamentosas, foliformes acolchadas, ciliadas). Estas macroalgas son importantes en la producción primaria, sus **talos** sirven como alimento para otros microorganismos, así como refugio y medio de transporte para una gran variedad de especies, albergando así estadíos iniciales y adultos de diversos invertebrados y peces (Roque Sánchez et al., 2017).

De forma general, el sargazo pertenece al grupo de algas cafés o pardas (*Phaeocophyta*) que habita en los mares del mundo (Principalmente atlántico). El subgrupo de sargazo pelágico (el que flota de manera libre en el océano de la zona del caribe) se compone de dos especies *Sargassum natans* y *Sargassum fluitans*, siendo el primero el más abundante en las aguas del Atlántico (Thompson et al., 2021). El Sargazo en general son algas de color café pálido-amarillento de 20 a 80 cm de diámetro y se configuran a partir de un tallo ramificado de follaje abundante con filoides acerrados y numerosos nematocistos de menos de 1 cm de diámetro. El crecimiento óptimo oscila entre 24 ° y 30 °C y con salinidades de 36 hasta 42 partes por mil. Bajo condiciones óptimas de luz, temperatura y salinidad se puede duplicar hasta en 10 días (Uribe & Guzmán, 2020).

Desde 2011, se han observado de forma recurrente grandes cantidades de sargazo en lo que se llamó **recientemente** “el gran cinturón de *Sargassum* del atlántico” (Alzate & Domínguez et al., 2021). Se considera que el Golfo de México es la fuente dominante de sargazo hacia el Atlántico, el cual es transportado por la corriente de Lazo y posteriormente introducido a la corriente del Golfo, hacia el norte de cabo Hatteras, y es dispersado al este por los vientos predominantes del verano (Uribe & Guzmán, 2020) Los arribazones de sargazo juegan un papel ecológico en la nutrición de las playas y la estabilidad de la costa y proporcionan nutrientes para las plantas de dunas y las aves marinas que se alimentan de la fauna transportada por las macroalgas. Sin embargo, la afluencia masiva de

*Sargassum* y el deterioro posterior en la playa puede no ser estéticamente aceptable para los usuarios de la playa, lo que resulta en la afectación de las industrias turísticas locales; además de consecuencias ecológicas negativas en las zonas afectadas (Alzate & Domínguez et al., 2021).

Las preocupaciones fundamentales del gobierno mexicano nacieron principalmente desde el sector turístico. El problema generado por los arribazones masivos de sargazo a las playas habitadas se agrava ante la magnitud del volumen, ya que aunque se recolecte el destino final es un gran reto que puede convertirse en problemas de salud, bienestar social y desempleo. Por lo que el gobierno mexicano ha destinado millones de pesos para financiar programas de recolección, manejo, investigación entre otras actividades, con el fin de controlar los efectos sobre la economía (Rivera et al., 2020).

El sargazo puede ser aprovechado para el desarrollo de energías renovables a partir de digestión anaerobia (DA) que se define como un proceso biológico, que tiene lugar en ausencia de oxígeno, en el cual parte de la materia orgánica se transforma, por acción de los microorganismos en una mezcla de gases y está constituido principalmente por  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ . Sin embargo, la mono-digestión ha reportado problemas al utilizar la biomasa de algas por la presencia de materiales recalcitrantes, como polifenoles, fibras de celulosa, ligninas, además de la presencia de sulfatos, cloruro de sodio y metales pesados que podrían inhibir los procesos de la DA (Nkemka & Murto, 2010). Por lo que la co-digestión anaerobia (Co-DA) del sargazo y residuos orgánicos se presenta como una alternativa potencial para mejorar la producción de metano (Thompson et al., 2020).

El digestato generado a partir de los procesos de DA del sargazo puede ser utilizado como mejorador de suelos para el crecimiento de plantas, como alternativa al uso de fertilizantes químicos (Akila et al., 2019). Las crecientes necesidades de energía y fertilizantes, han demostrado que la digestión anaerobia es una tecnología eficiente y rentable para el tratamiento de residuos orgánicos y biomasa, capaz de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, y contribuir a la recuperación de recursos y economía circular (Angouria-Tsorochidou et al., 2022). Se ha investigado la viabilidad, los beneficios ambientales y socioeconómicos del biogás a partir de la tecnología de la DA, sin embargo, la información sobre el efecto del digestato como fertilizante de cultivos y como promotor en la germinación es escaso, ya que puede no ser seguro en cuestión de los patógenos y metales pesados que pueda poseer al final del proceso (Cucina, et al., 2021). El contenido de contaminantes y otros compuestos pueden ser variables dependiendo de la materia prima digerida lo cual es de importancia ya que muchos países tienen restringido su uso como fertilizante

debido a la escasa información sobre su calidad y seguridad (Lamolinara, et al., 2022).

## **2 Antecedentes**

### **2.1 La situación del sargazo en México**

#### **2.1.1 Sargazo en México**

Las playas del Caribe en Cancún, Playa del Carmen, Riviera Maya, Cozumel y Tulum ubicadas en el estado de Quintana Roo, México, constituyen uno de los destinos turísticos preferidos para los turistas nacionales e internacionales (Li, 2020). No obstante, a partir de 2011 varios puntos a lo largo de la costa del Caribe de México recibieron grandes cantidades de sargazo pelágico y en el año 2014 la cantidad de sargazo aumento drásticamente, registrando en septiembre de 2015 una biomasa de aproximadamente 2360 m<sup>3</sup> de macroalga por km<sup>-1</sup>, (11 millones de toneladas). En consecuencia, se alcanzó hasta 200 metros de ancho en las costas de Cancún y Puerto Morelos. En julio de 2019 se registraron en el Mar Caribe más de 10 millones de toneladas de *Sargassum*, cantidad similar a la obtenida en 2015 (Espinosa & Li, 2020) la cantidad excesiva puede generar problemas ambientales (afecta la reproducción de tortugas y aumenta la mortalidad de peces), su descomposición emite un olor desagradable y atrae vectores (insectos, moscas, entre otros) que afectan a nivel económico ya que disminuye la actividad pesquera y la visita de turistas (Optical oceanography lab, 2019).

### **2.2 El sargazo como materia prima en la digestión anaerobia**

El sargazo que llega a las playas mexicanas genera problemas porque restringe el acceso al océano con fines pesqueros y de recreación, otro problema es la descomposición de esta biomasa que produce sulfuro de hidrogeno (H<sub>2</sub>S), un gas tóxico y corrosivo con olor característico de huevo podrido. Una exposición prolongada a estas emisiones afecta la estabilidad ambiental cuando se libera a la atmósfera, así como los daños a la salud que puede ocasionar como nauseas, dolor de cabeza, irritación ocular y del tracto respiratorio, actualmente es escasa la explotación comercial para estas algas, por lo que los gobiernos enfrentan altos costos en la eliminación a través de sitios de disposición final (Thompson et al., 2021). La Figura 1 muestra las toneladas de sargazo recolectadas y los trabajadores empleados en 2020.

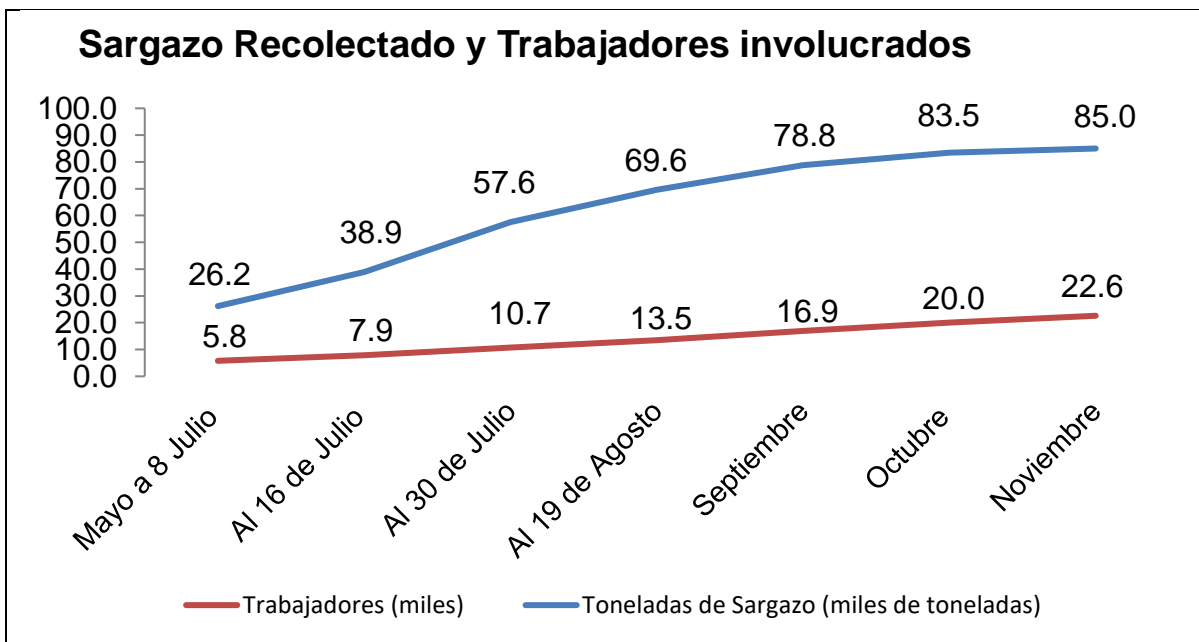


Figura 1. trabajadores empleados en la recolección de sargazo de mayo a noviembre de Espinosa & Li, 2020.

Estas algas pardas o macroalgas se encuentran saturadas de agua (80-90% de humedad) y son ricas en carbohidratos (40-60% peso seco), además su estructura está configurada con pared celular de lignina y bajos contenidos de celulosa (Peng et al., 2015). La composición de estas algas es útil para la conversión microbiana de materia orgánica en biogás, un combustible de energía renovable compuesto de metano (CH<sub>4</sub>) (Song et al., 2015; Thompson et al., 2019). La mono-digestión (biodegradación de un solo sustrato) del sargazo es inestable contribuyendo a una baja metanización esto puede ser atribuido con factores de inhibición como una baja relación de C/N y que contiene fibras no digeribles, concentraciones de amoníaco altas, sales como sulfuros y contenido de polifenoles. Para superar las deficiencias de la mono-digestión se recomienda la co-digestión con varios sustratos (Thompson et al., 2021).



## 2.3 Marco teórico

### 2.4 Economía circular (EC)

La Economía circular: es un sistema con la habilidad de restaurar retener y distribuir los materiales, componentes y productos de vuelta al sistema, siempre y cuando este proceso sea optimizado, además de ser amigable con el ambiente debe ser económica y socialmente viable. (Hahladakis, et al., 2020).

1. La económica circular se puede resumir en tres puntos principales:
2. La extensión del uso de recursos.
3. El diseño de productos procurando un menor uso de recursos y facilitando la reutilización.
4. Fomentar el mantenimiento de la mejor calidad posible.

La EC contempla desde el principio el circuito de la cadena de valor: uso de los materiales, diseño del producto, forma y modelo de producción, consumo energético, modelo de consumo y distribución, reparación y reutilización, volver al circuito de proceso productivo y cerrar el círculo (Gobierno de México, 2022). El enfoque de EC, permite dar un valor agregado a materiales y sustancias que actualmente se consideran residuos (Jorgensen S. et al. 2018)

Derivado de la EC, Stegmann 2020 define la bioeconomía circular (BC) como la “producción de recursos biológicos renovables y la conversión de estos recursos y flujos de desechos en productos de valor agregado, como alimentos, piensos, bioproductos y bioenergía”. Por otra parte Kumar et al. (2022) la definen como “El uso eficiente de sustratos para la producción sostenible de productos de valor agregado como biocombustibles, biomateriales, productos bioquímicos, etc”. Bajo estos conceptos se entiende que el punto principal de la BC se basa en “**close the loop**” que traducido se refiere a cerrar el ciclo en un modelo de economía circular. Para este propósito, es importante: utilizar el sustrato de manera eficiente, lograr una baja emisión de GEI, reducir dependencia de combustibles fósiles y obtener productos biodegradables. (Stegmann & Londo 2020; Kumar et al., 2022).

La biomasa se considera un gran recurso que puede reciclarse mediante diferentes tecnologías y utilizarse para fabricar diversos fertilizantes (figura 2) (Jin & Pezzuolo, 2022). Por lo tanto, el implementar modelos de bioeconomía circular, maximiza la recuperación de nutrientes valiosos de los flujos de residuos biológicos de una manera sostenible y amigable con el medio ambiente.

El digestato se propone como un biofertilizante orgánico de alta calidad, rico en elementos y nutrientes esenciales, como nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y oligoelementos como cobre (Cu) y zinc (Zn). Además de materia orgánica, aminoácidos, vitaminas y microorganismos benéficos, que pueden mejorar el contenido de sustancias húmicas del suelo y sentar las bases para mejorar la fertilidad del suelo (Jin & Pezzuolo, 2022).

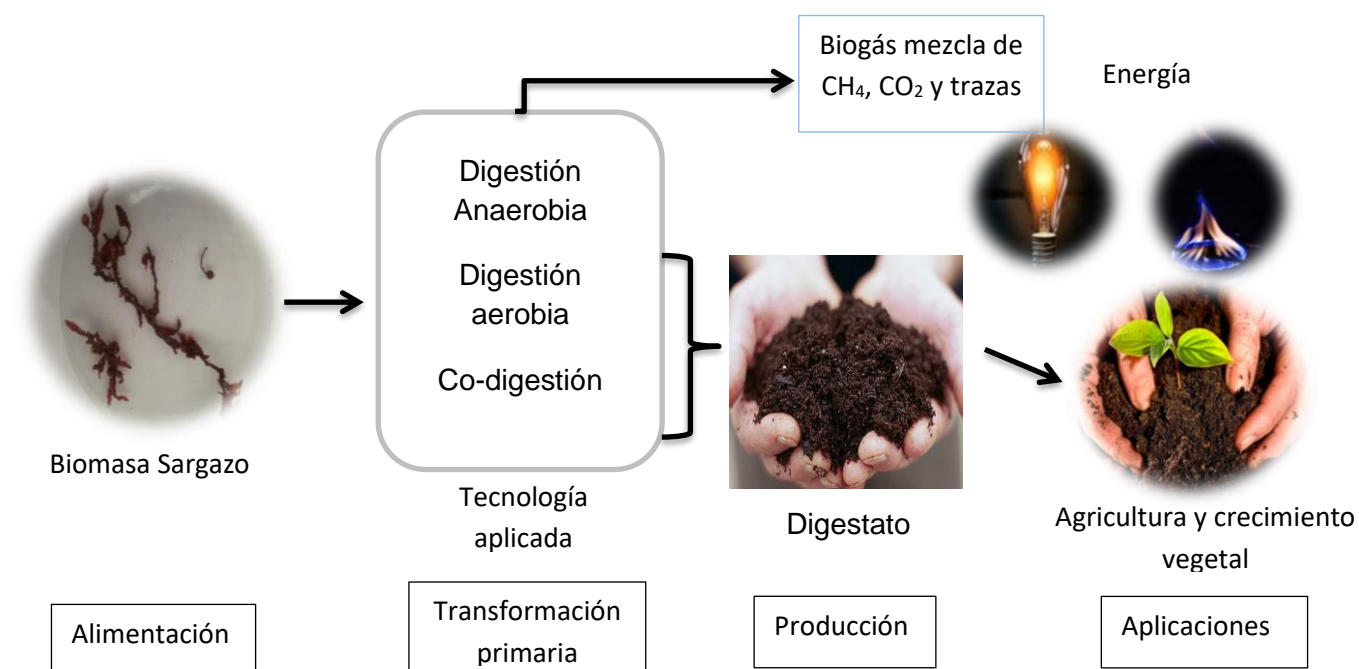


Figura 2. Diagrama de la gestión sostenible de sargazo para la obtención de sub-productos de valor.

## **2.5 Procesos de la digestión anaerobia**

### **2.5.1 Digestión anaerobia**

La digestión anaerobia (DA) se define como el proceso de degradación biológica de la materia orgánica en condiciones carentes de oxígeno, que tiene como subproducto final el biogás (López et al., 2018).

La DA puede considerarse un ecosistema en el que diversos microorganismos pertenecientes al dominio de las arqueas bacterias trabajan en la conversión de materia orgánica compleja para la obtención de  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  y  $\text{NH}_3$ , entre otros gases. Conforme suceden estas reacciones los microorganismos generan energía para su crecimiento (Mantilla et al., 2017).

### **2.5.2 Co-digestión anaerobia**

Es el proceso en el cual se combinan varias mezclas de sustratos orgánicos, con el fin de aumentar el potencial de producción de biogás por kilogramo de mezcla degradado. Por otro lado en la co-digestión se eliminan del 43 al 49% de Sólidos volátiles totales (SVT) comparado con solo degradar un compuesto como los lodos donde se elimina solo del 33 al 36% (Méndez, S. et al., 2017). La consecuencia de este proceso es aprovechar la descomposición de la parte orgánica de la mezcla de sustratos.

Se ha encontrado que para la co-digestión, el pre tratamiento y el diseño del digestor son claves para la optimización en la generación del biogás. Al realizar estos procesos (Co-digestión, pre tratamientos y diseño del reactor) se diluyen los efectos inhibidores de los sustratos, equilibra los micro y macronutrientes, aumenta la carga orgánica y beneficia los rendimientos en la obtención de metano por unidad de volumen del digestor. Además de aumentar la cooperación y diversificar las comunidades microbianas (Shah, Mahmood, et al., 2015)

### 2.5.3 Etapas del proceso DA

La digestión anaerobia según el tipo de residuo considera cuatro etapas, cuando es sólido (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis) y para residuo líquido se consideran 2 etapas (acidogénesis y metanogénesis). En la Figura 3 se presentan las etapas de los procesos de DA.

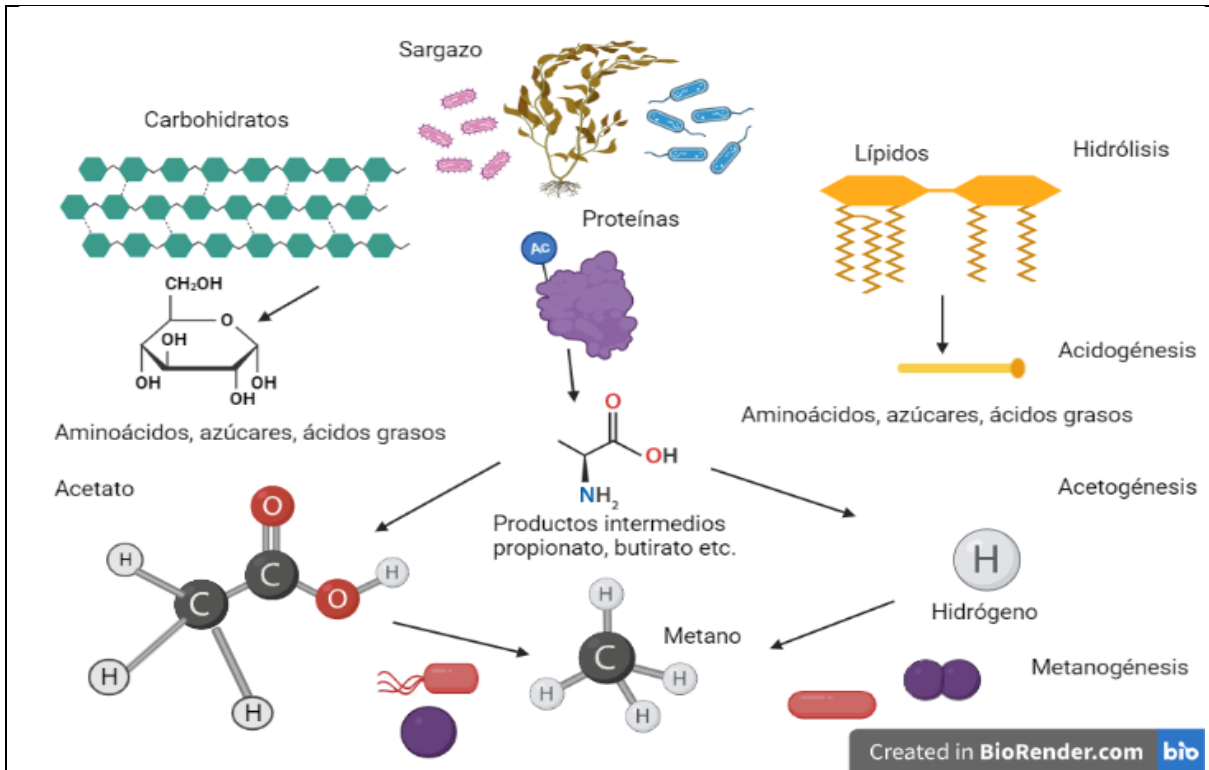


Figura 3. Etapas de la digestión anaerobia: degradación de macromoléculas por acción microbiana; Fermentación y Acidogénesis; conversión ácidos grasos volátiles (Acetogénesis); conversión acetato a metano; conversión hidrogeno a metano por microorganismos metanogénicos. (Elaboración propia Creado con BioRender.com).

#### 2.5.4 Hidrólisis

Involucra el potencial de las enzimas capaces de atravesar la membrana celular y se les denomina hidrolasas las cuales pueden solubilizar la materia orgánica y romper enlaces específicos con ayuda del agua (Corrales et al., 2015), transformando componentes de gran masa molecular como lípidos, polisacáridos, proteínas, grasas y ácidos nucleicos entre otros (Parra, 2015). Esta etapa puede ser el proceso limitante de la velocidad global cuando se trata de residuos con alto contenido de sólidos, también depende de la temperatura del proceso, tiempo de retención hidráulico, composición bioquímica de sustrato, tamaño de partícula, pH, concentración de  $\text{NH}_4^+$  y concentración de productos de hidrólisis (Mantilla et al., 2017). Las bacterias anaerobias que participan en esta fase son: *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium* que interactúan con algunas bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* (Corrales et al., 2015).

#### 2.5.5 Acidogénesis

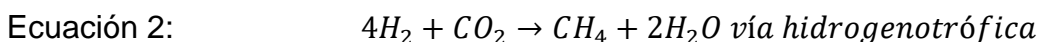
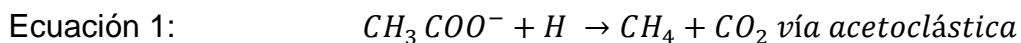
Los monómeros que se obtienen de la fase hidrolítica son compuestos solubles que sirven como aceptores y donadores de electrones (López et al., 2018), se degradan en ácidos orgánicos de cadena corta como ácido butírico, propiónico, acético, hidrogeno y  $\text{CO}_2$  (Parra, 2015). En los procesos anaerobios los microorganismos producen menor energía que en un proceso aerobio, esto genera que los microorganismos deban metabolizar mayor cantidad de azúcares y producir mayor cantidad de metabolitos (Corrales et al., 2015). La población de bacterias ácido génicas consiste en cerca del 90% del total del ecosistema, los microorganismos presentes en esta etapa son: *Acinetobacter Lwoffii*, *Acinetobacter sp*, *Actinomyces sp*, *Alcaligenes*, *Pasteurella sp*, *Staphylococcus hominis*, *Bacillus*, y *Klebsiella oxytoca*, *clostridium spp*, *peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Delsulphovibrio spp*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli* (Parra, 2015).

#### 2.5.6 Acetogénesis

En esta fase se aceleran los procesos metabólicos bacterianos, los ácidos grasos volátiles se convierten en ácido acético,  $\text{CO}_2$ , e hidrogeno. El ácido acético se produce por dos mecanismos: acetogénesis por hidrogenación como producto final de la reducción de  $\text{CO}_2$  más H y la acetogénesis por des hidrogenación donde las bacterias son inhibidas por las pocas cantidades de oxígeno  $\text{O}_2$ . Solamente sobreviven las que están asociadas al consumo de hidrogeno como bacterias homoacéticas y sulfato reductoras. Las bacterias homoacéticas más sobresalientes son: *Clostridium acetivum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium wooddi* (Corrales et al., 2015).

### 2.5.7 Metanogénesis

La producción de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> a partir de los productos intermedios se lleva a cabo por bacterias metanogénicas bajo condiciones anaerobias estrictas (Parra, 2015). Se describen dos rutas principales la primera la acetoclástica en esta los microorganismos crecen principalmente en su sustrato (acetato) y la segunda vía es la hidrogenotrófica en donde los microorganismos crecen en sustratos como H<sup>+</sup> y CO<sub>2</sub> como se observa en las Ecuaciones 1 y 2. Las bacterias metanogénicas son: *Bacteroides sp*, *Clostridium sp*, *Bifidobacterium sp*, *Sphaerophorus sp*, *Fusobacterium sp*, *Veillonella sp*, *Peptococcus sp*, *Desulfovibrio sp*. (Corrales, et al. 2015). También existen grupos de arqueas que realizan esta función las cuales son: *Methanosarcina* y *Methanosaeta*. *Methanobacterium*, *Methanobacillus* y *Methanococcus*



## 2.6 Factores que influyen en el proceso de la digestión anaerobia

Las condiciones ambientales y las interacciones que tengan los microorganismos con estas en los reactores anaerobios requieren de un equilibrio delicado en el sistema. Los principales factores que influyen en el proceso DA se mencionan a continuación (Corrales et al., 2015).

### 2.6.1 Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

La relación C/N es un indicador para controlar el sistema de la DA. Para este parámetro se recomienda un rango operativo de 20/1 a 30/1 con una relación óptima en 25/1 para un buen crecimiento microbiano en los sistemas de digestión, una relación no controlada o no adecuada puede resultar en la liberación de nitrógeno amoniacal total y posteriormente la acumulación de ácidos grasos volátiles, estos actúan como inhibidores de la DA (cuadro 1) (Yan & Song., 2015).

En sistemas de gran escala el ajuste de la relación C/N de la materia prima, es uno de los principales problemas ya que este proceso en reactores grandes donde no se puede controlar las condiciones ambientales como temperatura no puede funcionar a su máxima capacidad todo el año. Por otro lado, los sistemas anaerobios de menor escala son más atractivos y fáciles de manipular con las características y cantidad de materia prima para maximizar la ganancia de energía (Zeshan et al., 2012)

Tabla 1.- Relación Carbono-nitrógeno.

Factor	Relación	Efecto	Referencia
Relación C/N	Baja < 15	Acumulación de nitrógeno amoniacal total y ácidos grasos volátiles (inhibición)	Li et al (2011)
	Alta >30	Rápido consumo del nitrógeno por arqueas metanogénicas disminuye la producción de biogás	Kayhanian (1999)

### 2.6.2 Relación Sustrato-Inóculo (S/I)

La relación sustrato-inóculo (S/I) o inóculo-sustrato (I/S) es un parámetro importante en la DA que implica la adición de cierta cantidad de inóculo al sustrato y esta debe poseer los microorganismos que iniciaran las reacciones de la DA. También se relaciona con el inicio de la metanogénesis, el ajuste debe ser adecuado para cada sustrato ya que esto servirá como amortiguador de los ácidos grasos volátiles, si las relaciones son S/I son altas podría ser tóxico para los consorcios microbianos. Si la relación S/I es baja inducirá las enzimas necesarias para la DA. Las relaciones inóculo sustrato varían de 1-4 (Owamah et al., 2021). Los valores óptimos de I/S para sargazo no están documentados sin embargo la producción máxima de metano aumenta con una relación de I/S de 2 expresada en gramos de sólidos volátiles (gSV) (Boulangier et al., 2012).

### 2.6.3 Temperatura

La temperatura es un factor importante que afecta la velocidad de las reacciones bioquímicas para el crecimiento microbiano se tienen diferentes intervalos (Acosta et al, 2005):

Psicrófilo: menor a 20 °C

Mesófilo: entre 20 y 40 °C

Termófilo: mayor a 40 °C

Las bacterias que realizan fermentación tienen su tasa máxima de crecimiento entre 50 y 55°C en condiciones termofílicas, o bien un crecimiento óptimo (65% de tasa máxima) entre 30 y 40°C en condiciones mesofílicas (López et al, 2018)

### 2.6.4 Composición del residuo

Las sustancias que conformen el residuo (orgánico e inorgánico) influirán en la degradación anaerobia. Si es más complejo la generación de ácidos grasos volátiles es mayor y el rendimiento final de CH<sub>4</sub> es mayor siempre y cuando las condiciones favorezcan la DA, mientras que un 10% de la materia orgánica consumida es empleada para el crecimiento de células bacterianas y pared celular (Acosta et al, 2005). En la tabla 2 se muestra el rendimiento de gas CH<sub>4</sub> para diferentes sustratos.

Tabla 2. Relación entre sustratos y porcentaje de generación de gas metano (Acosta et al., 2005)

Componente	%CH <sub>4</sub>	m <sup>3</sup> / kg SV destruidos
Carbohidratos	50	0,886
Grasas	70	1,335
Proteínas	85	0,587



### **2.6.5 pH**

El efecto del pH es un indicativo o reflejo de la actividad enzimática de los microorganismos. Influye de manera general como:

- Cambios en los grupos hidrolizables de las enzimas (grupo carboxilo y aminos) (Acosta et al., 2005).
- Alteración de los compuestos no enzimáticos del sistema (ionización del sustrato, desnaturalización de la estructura de la enzima) (Acosta et al., 2005).

El cambio en el pH afecta directamente al proceso anaerobio, sobre todo en los organismos metanogénicos, estos son más susceptibles a las variaciones que otros microorganismos de la comunidad microbiana anaerobia. El pH óptimo se encuentra cercano a la neutralidad o incluso en tendencia a la alcalinidad con valores entre 7.8 y 8.2, sin embargo, las diferentes etapas del proceso necesitan diferente pH para realizar su función. Por ejemplo, en la fase acidogénica se requieren valores entre 5.5 y 6.5, cabe mencionar que el valor pH determina cuanta producción de biogás se obtendrá y afectará en su composición, por lo tanto se debe mantener en un rango de 6 a 8 (Mantilla et al., 2017). Otros autores indican que para mantener la actividad de arqueas metanogénicas en la digestión el pH debe estar en un rango de 6.8 a 7.5. La diferencia entre estos valores de pH puede acelerar la actividad de las poblaciones encargadas de la fermentación y acidificar el medio donde se encuentran inhibiendo la actividad de los organismos metanogénicos (López et al., 2018)

### **2.6.6 Inhibición y toxicidad**

La inhibición representa una reducción reversible de la actividad de los microorganismos, en cambio la toxicidad es un proceso irreversible, esto exige el crecimiento de una nueva población microbiana (López et al, 2018). Existen un número significativo de sustancias que actúan de forma letal sobre los microorganismos llevando a cabo procesos de inhibición en los mismos, entre los cuales destacan los metales pesados, fenoles, tiosulfatos, tiocianatos, cianuros, agentes oxidantes como cromatos y cloro, antibióticos y pesticidas e incluso las sales (Acosta et al, 2005). Algunas sales sirven como micronutrientes para las bacterias (sodio, calcio, potasio, magnesio, hierro, selenio, yodo, níquel, cobalto) (López, et al, 2018). La toxicidad dependerá de la concentración en que estos compuestos se encuentren presentes (Tabla 3) (Acosta et al, 2005).

Tabla 3.- Sustancias inhibitorias de la digestión anaerobia.  
(López et al., 2018)

Inhibidor	Concentración del inhibidor	Efecto
Oxígeno	>0.1 mg/L O <sub>2</sub>	Inhibición de bacterias anaerobias
Sulfuro de hidrógeno	>50 mg/L H <sub>2</sub> S	La inhibición se da cuando disminuye el pH
Ácidos grasos volátiles	>2,000 mg/L HAc (pH=7)	Aumenta la inhibición con el descenso del pH
Nitrato de amonio	>3,500 mg/L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (pH=7)	El efecto inhibitor se acelera con el aumento del pH y temperatura
Antibióticos desinfectantes	No se aplican	Efecto inhibitor específico de cada producto

## 2.7 Productos del proceso de la digestión anaerobia

### 2.7.1 Biogás

El producto más importante en el proceso de la digestión anaerobia es el biogás, que es una mezcla compuesta por un conjunto de gases. El CH<sub>4</sub> presente aproximadamente entre 50-70%, CO<sub>2</sub> en proporción 30-50, y otros gases como H<sub>2</sub>S, N, O e H (Thompson, 2020 & Akila, 2019). Su composición y abundancia dependen del material digerido y del funcionamiento del proceso (Romero et al., 2020). Su potencial calorífico inferior es aproximadamente 21 980.7 kJ/m<sup>3</sup>. Si bien el aprovechamiento de este biogás presenta interés económico en plantas grandes, su conversión a energía eléctrica resulta interesante cuando existen plantas de capacidad **equivalente** a 20 000 **habitantes equivalentes**. En pequeñas instalaciones la utilización puede satisfacer las necesidades básicas como cocina o alumbrado en pequeñas comunidades (Acosta et al., 2005).

Actualmente existe la importancia de reducir el uso de combustibles fósiles por lo que es necesario el desarrollo y utilización de recursos energéticos renovables. Las tecnologías renovables producen electricidad, calor y energía mecánica a partir de biomasa (cultivos energéticos, residuos agrícolas o forestales, fracción orgánica de residuos sólidos urbanos entre otros).

### 2.7.2 Producción de metano a partir de algas

La valorización de la biomasa y la optimización de los bioproductos han tenido un impacto y crecimiento a nivel de países europeos, asiáticos y americanos. Tomando en cuenta las crecientes necesidades de energía renovable, la digestión anaerobia demuestra ser una tecnología rentable para el tratamiento de residuos y biomasa orgánica, capaz de reducir emisiones de gases de efecto invernadero y contribuir a la recuperación de recursos y procesos clave para implementar modelos de economía circular.

La utilización de las macro algas para obtener metano a partir de la DA se ha estudiado en géneros como *A. nodosum*, *C. linum* y *L. digitata* como recurso secundario para la obtención de productos químicos y nutrientes de alto valor promoviendo la sostenibilidad, sin embargo el sargazo ha sido poco estudiado en este aspecto (Ali Wahab, 2022). Otras algas que se han explorado para la producción de metano son las algas verdes (*Chlorophyta*), o algas rojas (*Rhodophyta*) (Thompson et al., 2020). Para mejorar los rendimientos en la producción de biogás se emplean diversos pre tratamientos como lavados, procesos hidro-térmicos, químicos, disminución en tamaño de partícula entre otros (Maneein, 2021, Thompson, 2021).

### **2.7.3 Potencial Bioquímico de Metano (PBM)**

El potencial bioquímico de metano es un ensayo aplicado para la medición de la producción de metano que se realiza en reactores tipo batch y determina la biodegradabilidad anaerobia y la máxima producción de metano de diferentes sustratos en fracción líquida o sólida (Holliger et al., 2016).

### **2.7.4 Limitaciones en el uso del biogás**

Una de las desventajas más importantes en la potencial aplicación del biogás es su composición ya que existe la posibilidad de encontrar en ella sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) un gas que por sus propiedades corrosivas limita el uso de este como una fuente de energía renovable. El sulfuro de hidrógeno se forma durante la biodegradación de las sustancias orgánicas que contienen aminoácidos sulfurados, así como por la descomposición de sales mediante la acción de bacterias sulfato reductoras (SRB, por sus siglas en inglés) (Ventura et al., 2019). La corriente de  $H_2S$  presente en la corriente del biogás varía de 50 a 10 000 ppm, dependiendo del sustrato con el cual se esté generando dicho biogás (Malone et al., 2017; Wang S. et al., 2019). Comúnmente se puede percibir por su característico olor a “huevo podrido”. Desde el punto de vista económico, ambiental y de seguridad debe removerse del biogás para poder aprovecharlo de una manera segura (Pikaar et al., 2014).

## 2.8 Metales presentes en el sargazo

Las especies de sargazo poseen la capacidad de absorber metales; por lo tanto, la probabilidad de que sus lixiviados contribuyan a la contaminación por metales tóxicos cuando escurren en el mar y aguas subterráneas cuando estas macroalgas se vierten en depósitos terrestres inadecuados. Las asociaciones del sargazo con metales como cobre, hierro, zinc, plomo, arsénico y cadmio se debe a que contienen ácidos carboxílicos en sus estructuras además de fucoidanos y ácido alginico que constituyen entre el 20 y 40% del peso seco según autores como Carro & Barriada (2015) y Vázquez et al., (2021) pueden ser aprovechadas como biosorbentes.

Tomando en cuenta que los metales pesados pueden ser una fuente importante para la inhibición microbiana en los procesos de la DA, además, si el digestato se plantea utilizar como mejorador de suelos se debe tener un especial cuidado y análisis previo del sargazo por su capacidad de retener metales.

El sargazo se ha catalogado como un potencial recurso como fertilizante por su relación Nitrógeno:Fósforo:Potasio (1:10:3), además, es una fuente de oligoelementos como Cobre, Hierro y Zinc, que pueden considerarse nutrientes. El sargazo también puede contener elementos tóxicos como Arsénico, Cadmio y Plomo que pueden restringir el uso de esta biomasa como fertilizante y alimento para animales (Ortega-Flores et al., 2022).

La concentración máxima permitida de Arsénico en algas marinas para uso como fertilizante es de 41 mg/Kg (As Total) (Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, US EPA, 1993) y el digestato como mejorador de suelos es de 5 mg/kg (NTEA-006-SMA-RS-2006 Aplicable solo en el estado de México). La capacidad del sargazo para acumular As y otros oligoelementos está relacionada con la composición de polisacáridos de la pared celular como se observa en la Figura 4, principalmente alginato (ácido alginico) entre 10% y 40% de las algas (peso seco) contiene grupos funcionales que son grupos carboxílicos que son sitios de unión para la captación de cationes y fucoidano (fucoidanos sulfatados) 5% y 20%, estos polisacáridos dependen de la especie, etapas de crecimiento, variación estacional y condiciones climáticas (Ortega-Flores et al., 2022).

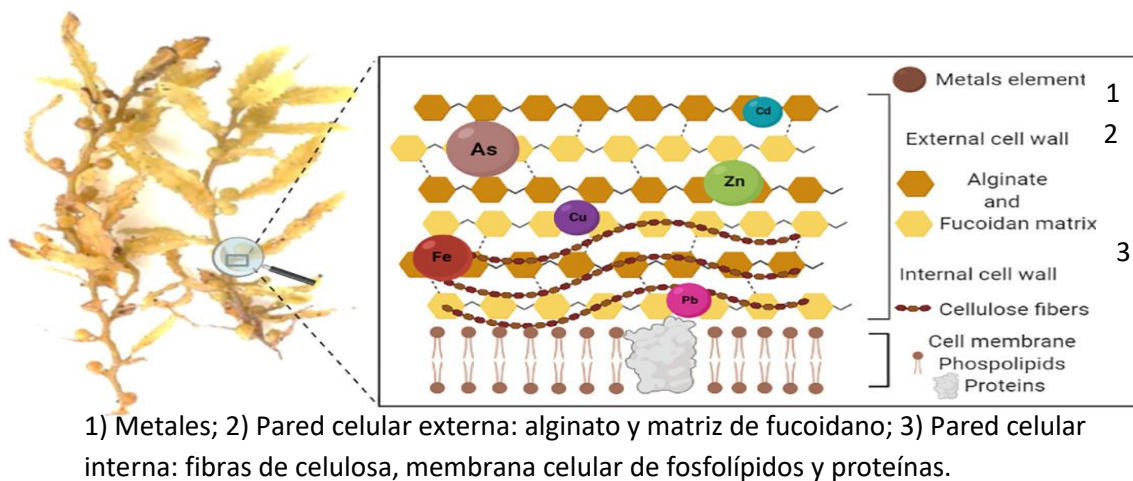


Figura 4. Composición de la pared celular del sargazo. (Ortega-Flores et al., 2022)

## 2.9 Digestato

El digestato posee características nutritivas para cultivos ya que contiene materia orgánica, elementos de nutrición vegetal como nitrógeno (N) fósforo (P) y potasio (K) y varios micronutrientes (Tabla 4). Se le puede definir como un recurso y no como un residuo. Existe un margen considerable para fomentar el uso del digestato por parte de los agricultores para mejorar el contenido orgánico del suelo (Roberta S. et al., 2021). El fin de utilizar digestato es reemplazar la dependencia excesiva de los fertilizantes químicos y sus problemas asociados que pueden ser degradación y cambio en la estructura del suelo, contaminación del suelo y aguas subterráneas. (Ezemagu et al., 2021).

La materia prima, la tecnología de procesamiento y las condiciones de operación del proceso influyen en las características del digestato, además se deben proponer políticas y regulaciones para la producción de este subproducto valioso con el fin de obtener beneficios económicos. Sin embargo, no existen sistemas de certificación de garantía de calidad por parte de empresas o el gobierno para respaldar la comercialización y el uso sostenible del digestato (Lamolinara et al., 2022). Existe la necesidad de desarrollar estrategias innovadoras de manejo de nutrientes destinados a valorizar este producto mientras se eliminan o inmovilizan compuestos no deseados, por lo tanto, se desarrollan diferentes tecnologías para posibilitar el manejo y/o la recuperación del digestato.

### **2.9.1 Características fisicoquímicas del digestato**

El digestato sólido de baja humedad tiene la facilidad de ser secado lo que facilita su transporte y uso final como fertilizante, también puede compostarse para estabilizar la materia orgánica presente mientras que en una fase líquida se requiere una separación mecánica (tamizado, prensa de tornillo o centrifugación) como primer paso para concentrar los sólidos en suspensión y elementos asociados en la fracción sólida (Angouria-Tsorochidou et al., 2022).

El lodo restante recuperado de la DA, puede ser alrededor del 90-95% de lo que se introdujo al sistema; ya que dependiendo del proceso y el diseño de la DA se descompone entre el 20 y 95% de la materia orgánica (Lamolinara et al., 2022).

El fosfato es un compuesto clave en los fertilizantes y su demanda está aumentando con el incremento de la población mundial. Es necesario garantizar su disponibilidad en el futuro. La opción más económica para manejar los digestatos es su aplicación directa como fertilizantes a suelos agrícolas lo que permitirá conservar los nutrientes y reducir el requerimiento de fertilizantes químicos. Se puede separar el digestato en dos fracciones la sólida rica en P y la líquida rica en N para evitar costos en transporte. La fracción sólida se puede utilizar para producir composta o transportar distancias más largas como fertilizante concentrado ya que esta fracción supone solo el 25-35% del digestato original, pero contiene 60-80% de su materia seca y casi todo su fósforo. (Campos et al., 2019). La aplicación de este producto puede contribuir a compensar la erosión del suelo. Además los valores de pH deben mantenerse por debajo de 8 para evitar las pérdidas de nutrientes por volatilización (Lamolinara et al., 2022).

Tabla 4. Porcentaje de macro y micro elementos en digestatos obtenidos por DA a partir de diferentes sustratos.

Origen del digestato	C(%)	N(%)	P(%)	S(%)	K(%)	Ca(%)	Mg(%)	Fe(%)	Referencia
Materia orgánica	49.24	3.74	N/A	0.29	N/A	N/A	N/A	N/A	(Pawlak-Kruczek et al., 2020)
RSU	24.1	1.5	0.7	0.2	1.6	10.4	1.4	3.2	(Parmar & Ross, 2019)
Desechos alimentos	45.95	2.68	N/A	0.32	N/A	N/A	N/A	N/A	(Akarsu et al., 2019)
Residuos de jardín	44	4.61	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	(Sharma et al., 2020)
Ensilaje maíz Estiércol Vaca	52.05	2.33	2.66	0.65	1.324	4.1	1.27	1.275	(Garlapalli et al., 2016)

RSU: Residuos sólidos urbanos.



### 2.9.2 Aplicaciones potenciales del digestato

Dentro de las aplicaciones alternativas para estos subproductos son la alimentación de microalgas, la fitorremediación y la generación de productos químicos especializados. En la tabla 5 se muestran algunas aplicaciones potenciales de los digestatos.

Tabla 5. Aplicaciones alternativas para el digestato.

Productos	Valorización	Descripción	Referencia
Fertilizantes	Agrícola	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Fracción líquida de la separación mecánica del digestato crudo.</li> <li>➤ Estruvita ((NH<sub>4</sub>)MgPO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O) por cristalización de fracción líquida.</li> <li>➤ Cenizas de incineración producto de la combustión de gránulos de digestato seco</li> </ul>	<p>(Al Seadi y Lukehurst, 2012)</p> <p>(Vaneekhaute et al., 2017)</p> <p>(Christel et al., 2014)</p>
Mejorador de suelos	Agrícola	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Fracción sólida de fibras, obtenida de la separación mecánica de digestato crudo.</li> <li>➤ Compost a partir de fracción sólida.</li> <li>➤ Biocarbón obtenido de la pirólisis de gránulos de digestato seco.</li> <li>➤ Vermi-compost a partir de digestato de fracción sólida.</li> </ul>	<p>(Al Seadi &amp; Lukehurst, 2012)</p> <p>(Teglia et al., 2010)</p> <p>(Dahlin et al., 2015)</p>

Biocombustible	Energía	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pellets secos de digestato o fracción sólida.</li> <li>➤ Bioetanol postratamiento para fermentación de digestato.</li> <li>➤ Bio-aceite de pirolisis de gránulos de digestato seco.</li> <li>➤ Biometano de post-tratamiento para digestato post-digestión o recirculación</li> </ul>	<p>(Kratzeisen et al., 2010)</p> <p>Balat et al., 2009</p> <p>Wei et al., 2018</p>
Biomateriales	Industriales	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Biopesticida a partir de digestato crudo o fracción sólida como medio de crecimiento después de la inoculación de <i>B. thuringiensis</i>.</li> <li>➤ Biocarbón (crudo o activado) a partir de pirólisis o gasificación de gránulos secos.</li> <li>➤ Bioplásticos (poli-vinil alcohol-co-etileno) obtenidos por hidrólisis y extracción de materia orgánica compleja soluble del digestato.</li> <li>➤ Biosurfactantes (los glicolípidos, los soforolípidos) del digestato</li> </ul>	<p>Rodríguez et al., 2019</p> <p>Uggetti et al., 2014</p> <p>Vaneeckhaute et al., 2017</p>

		mediante el uso de un inóculo de levadura ( <i>Starmella bombicola</i> ) en condiciones aireadas	
--	--	--	--

### 2.9.3 Digestato y su aplicación en la agricultura

Las necesidades actuales de agricultura sostenible y de la producción de alimentos orgánicos ha aumentado ya que existe una relación entre el crecimiento en la agricultura y la erradicación del hambre y pobreza (FAO, 2022). Por tal motivo la aplicación de digestato como fertilizante en la agricultura moderna es una opción factible para estos fines ya que evita o minimiza los impactos ambientales negativos. Estos inducen respuestas fisiológicas en las plantas, como promover el crecimiento vegetal, mejora la floración, y estimula la calidad de los productos comestibles. Además, devolver nutrientes vitales al suelo, como nitrógeno, fósforo, pueden compensar la erosión de los suelos (López-Padrón I., 2020). Por su alto contenido de micro y macronutrientes. Además, es más estable microbiológicamente y rico en amonio, en comparación con desechos orgánicos no digeridos (Moller, et al., 2012). Sin embargo, los agricultores distribuyen el digestato, en suelos agrícolas sin analizar su calidad, lo que puede aumentar el riesgo para la salud humana, la calidad del suelo y el crecimiento de las plantas (Cucina et al., 2021). Otras restricciones para el digestato como fuente de nutrientes incluyen legislativas; residuos, regulaciones ambientales y económicas; altos costos de infraestructura, transporte y complicaciones asociadas al olor. El uso en la agricultura también depende de si el digestato es susceptible a pérdidas significativas de nitrógeno por la volatilización inducida biológica y química, debido a las condiciones de almacenamiento, el método de aplicación en el suelo y condiciones ambientales durante su aplicación. (Mickan et al., 2022).

## 2.10 Semillas seleccionadas para la germinación con digestato de sorgazo

### 2.10.1 Zacate navajita (*Bouteloua gracilis*)

El zacate navajita es una especie de gran importancia forrajera y se considera como especie de importancia agronómica en las zonas áridas y semiáridas de México. Es un zacate perenne, amacollado con tallos de 25 a 70 cm de alto con hojas delgadas de 10 a 20 cm de largo, enrolladas en la base con 2 o 3 ramas rectas o curvadas, espigas de 1.5 a 4.5 cm de longitud (Figura 7), durante el invierno conserva 50% de su valor nutritivo y es el preferido por todo tipo de ganado (Morales-Nieto et al., 2009). Es un elemento que domina los pastizales del centro y norte de México (Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes y parte de Jalisco). Crece en suelos con pH ligeramente ácido entre 5.5 a 6.5, en suelos arenosos profundos o con pendientes suaves; cuando crece en suelos calcáreos con pH neutro entre 7.0 y 8.0 forma macollos de poca densidad y altura (20 cm. aproximadamente), mientras que puede desarrollarse en un rango de temperatura que va desde los -10 a los 40 °C y requiere precipitaciones anuales de 350 a 800 mm. En las zonas áridas y semiáridas difícilmente se establece por semilla ya que requiere un periodo entre 8 y 10 semanas de humedad para su germinación y establecimiento (García & Monroy, 2005). Debido a las condiciones del suelo en el estado de Chihuahua y la importancia de estos pastizales para la ganadería, el alto contenido de nutrientes orgánicos presente en el digestato puede ser una alternativa ya que puede enriquecer el suelo mejorando su estructura y capacidad de sorción. Se puede aplicar como alternativa a la fertilización mineral mejorando la productividad de los cultivos (tasas de crecimiento y rendimiento), así como permitir el desarrollo de estos pastizales.



Figura 5. Zacate navajita (*Bouteloua gracilis*). Cortesía M.C. Jesús Manuel Ochoa Rivero

### 2.10.2 Germinación de semillas

La germinación de semillas es la etapa inicial y una de las más fundamentales en el ciclo de vida de la planta comienza desde que se colocan las semillas en suelo o sustrato húmedo, hasta que emerge la radícula a través de la cubierta seminal. Es un proceso complejo de cambios fisiológicos y bioquímicos, que incluyen la absorción de agua, el cambio en la estructura subcelular, el crecimiento de la raíz y la yema, además se lleva a cabo la formación del sistema enzimático, mejora la respiración y la degradación de las sustancias almacenadas (Liu & Wang, 2022).

Existen factores bióticos y abióticos que interactúan y afectan el proceso de germinación (Chen et al., 2022). La germinación comienza con la imbibición de agua por parte de semillas maduras y secas, esta absorción es trifásica, que incluye la rápida imbibición inicial (Fase I), fase de retraso o lag (Fase II) y fase posterior (Fase III) (Figura 5). Cuando las semillas están saturadas de agua, la radícula continúa alargándose y gradualmente atraviesa la cubierta de la semilla emergiendo finalmente del hilio. A medida que la radícula se alarga, el hipocótilo comienza a alargarse y luego crece la plúmula. Se muestran los cambios estructurales de las semillas de soya durante la germinación en la Figura 6 (Liu & Wang, 2022).

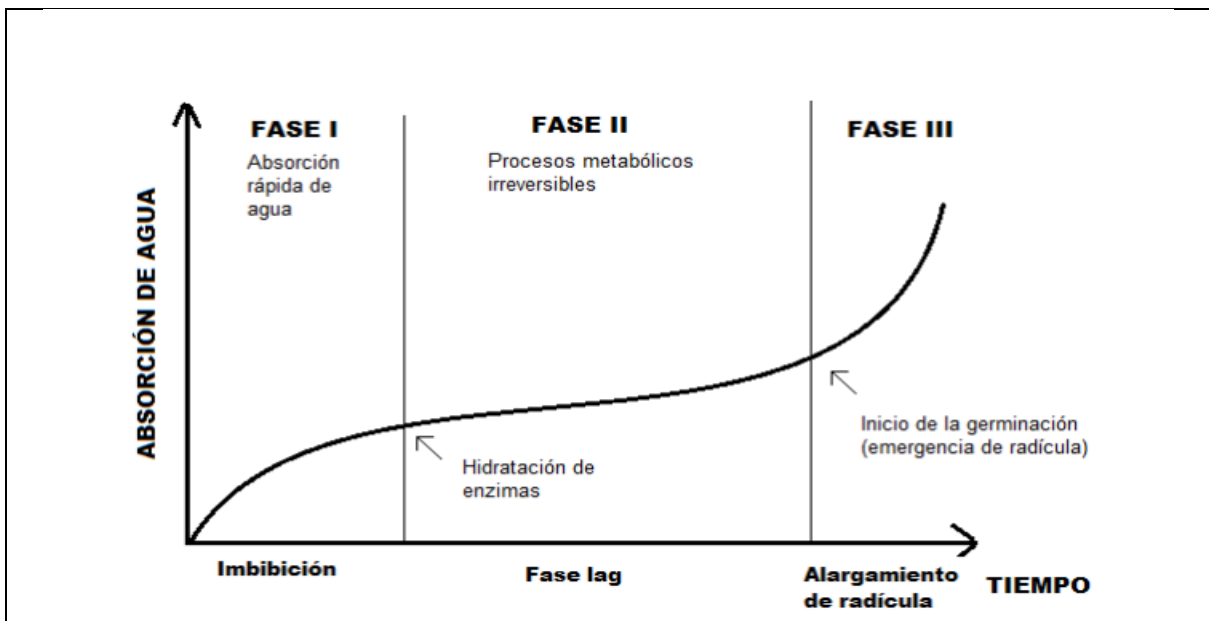


Figura 6. Fases de la germinación.

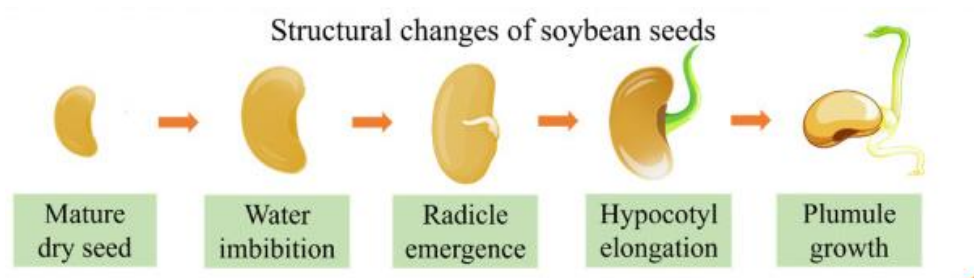


Figura 7. Cambios estructurales de la semilla de soya.

### 2.10.3 Índices de germinación

Los índices de germinación (IG) indican el grado de fitotoxicidad residual utilizando diferentes concentraciones del producto o germinador que se desea probar (digestato, compost, sustratos etc.). Los valores de IG menores al 50% indican alta toxicidad y entre el 50 y 80% indican toxicidad moderada y valores superiores al 80% indican ausencia de toxicidad (Cucina et al., 2021).

### **3 Justificación**

El arribo de sargazo se ha convertido en un problema de carácter social, ambiental y económico. Actualmente su manejo y disposición genera un gasto estimado de hasta 60 millones de pesos solamente considerando el material, equipos, mano de obra para la recolección y disposición final. Sin embargo, dada su composición y potencial aplicación como mejorador de suelo, es necesario desarrollar esquemas integrales de manejo tipo “close the loop”.

En la agricultura convencional se utilizan fertilizantes químicos de manera indiscriminada, muchos de los cuales terminan en los cuerpos de agua debido a los escurrimientos, degradando no solo el suelo, sino contaminando también las fuentes de agua. Por lo tanto, el aprovechamiento y transformación de los residuos orgánicos, como el sargazo, a través de procesos de digestión anaerobia, permitirá la generación de un subproducto de valor que puede ser aplicado como mejorador de suelo, en el cual se puede aprovechar la materia orgánica y los minerales que contiene de forma natural, una vez estabilizado el producto al finalizar el proceso de digestión.

En cuestión de sus potenciales aplicaciones también presenta limitaciones por falta de legislaciones aplicables y la falta de tecnologías aplicables a sargazo y sus subproductos.

## **4 Hipótesis**

Es posible establecer una cadena de valor al uso y disposición del sargazo, desde la perspectiva “close the loop”, al revalorizar los residuos, del proceso de la digestión anaerobia, para la obtención de biogás y digestato.

## **5 Objetivo Principal**

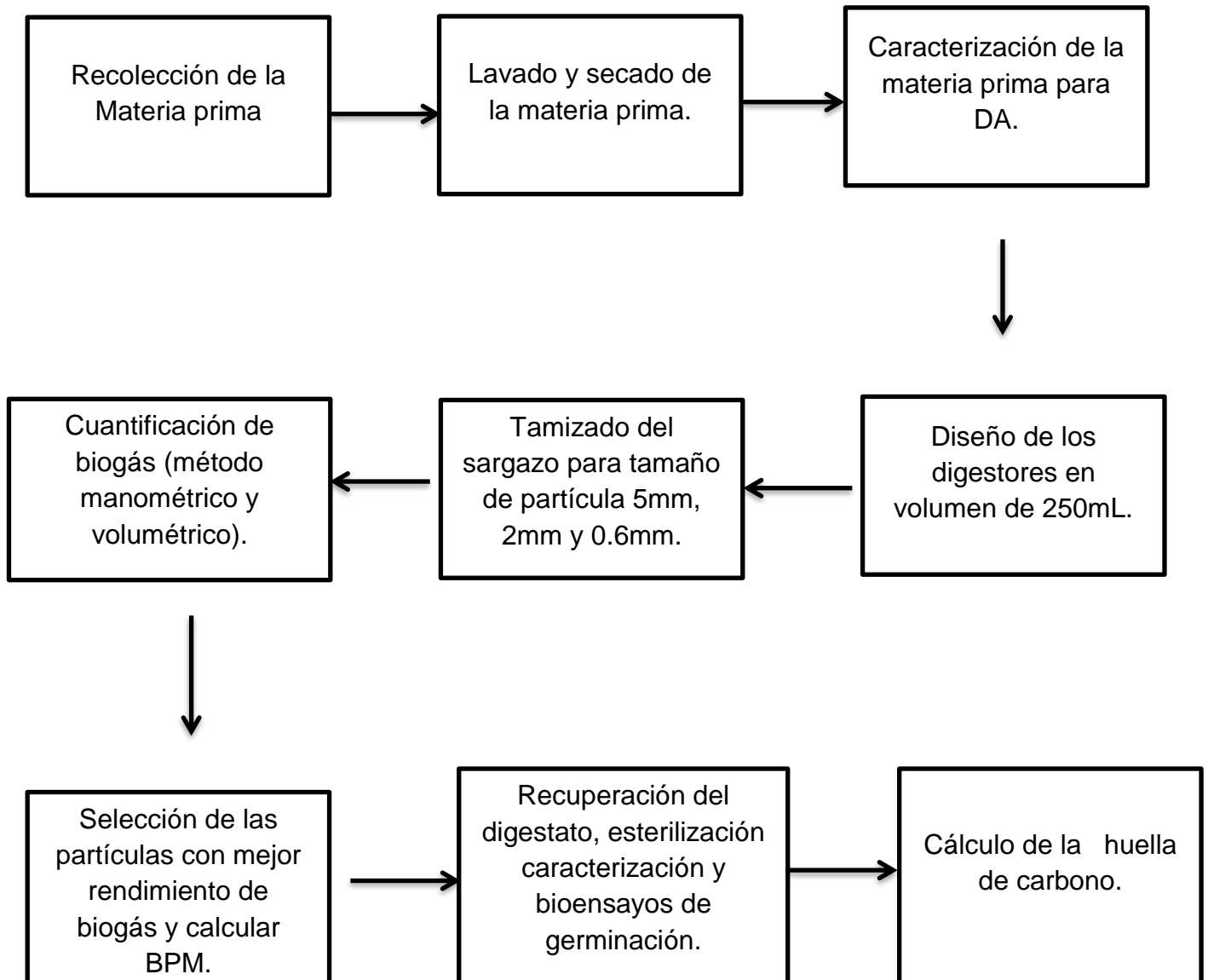
Evaluar los productos obtenidos de la digestión anaerobia del sargazo y comparar sus características contra la normativa mexicana en la búsqueda de su valorización desde la perspectiva “Close the loop”.

### **5.1 Objetivos Específicos**

- Caracterizar las propiedades fisico-químicas de la materia prima y el digestato obtenido en la DA.
- Realizar la digestión anaerobia del sargazo con diferente tamaño de partícula para la producción de biogás ajustando la relación C/N con residuos domésticos (Mezcla sintética).
- Obtener el volumen de metano y el potencial bioquímico de metano (PBM) de las partículas con mejor generación de biogás.
- Realizar una comparativa de las características de los digestatos obtenidos en la DA.
- Evaluar la fitotoxicidad residual del digestato elegido, mediante los índices de germinación.
- Determinar el impacto ambiental a través del análisis de cálculo de la huella de carbono de los procesos de digestión anaerobia.



### Diagrama de la estrategia experimental:



## 6 Metodología

### 6.1 Muestreo y recolección de la materia prima

La zona de recolecta se ubicó en las costas del norte de Quintana Roo, en la playa de Punta Brava de Puerto Morelos del 27 al 30 de abril de 2021. La Figura 8 muestra el área de estudio (a). Las coordenadas del sitio están en la Tabla 6.

Tabla 6. Coordenadas del sitio muestreado.	
28 de abril 2021	20° 51' 47" 86° 52' 09"
29 de abril 2021	20° 51' 57" 86° 52' 07"

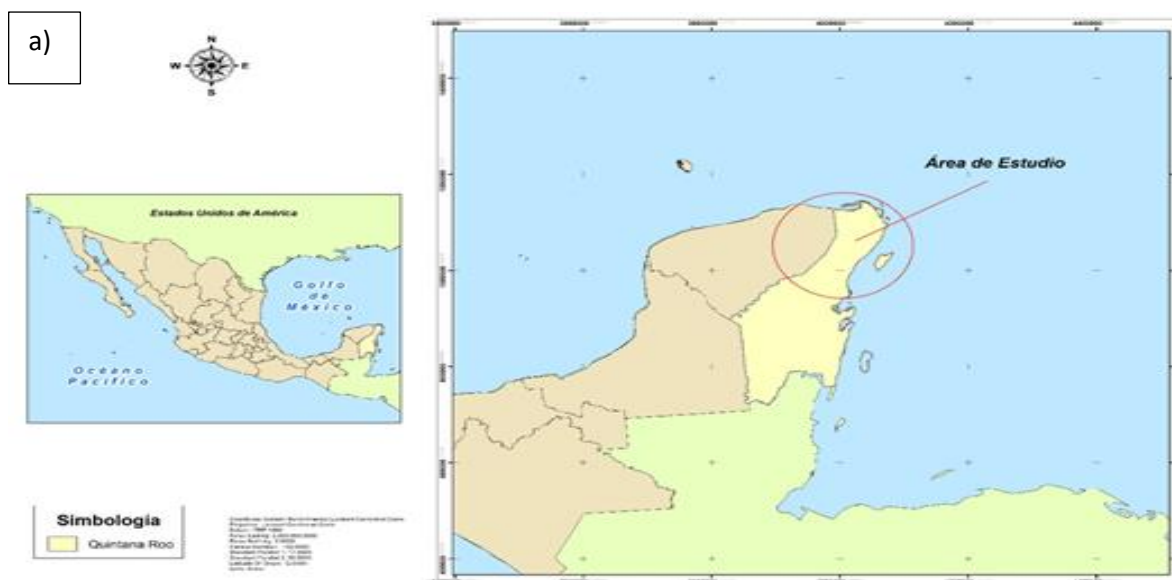


Figura 8. Mapa del sitio de recolección.

Los depósitos se separan por una distancia de 100 m, se tomaron las macroalgas en rejas de plástico y se sacuden para eliminar los restos de arena llenando bolsas de plástico negras de polietileno hasta recoger una cantidad aproximadamente de 10 kg se realizó el método de cuarteo en base a la norma ASTM C702/C702M - 18.

## **6.2 Lavado y secado del sargazo para su almacenamiento**

La biomasa recolectada se lavó con agua destilada para eliminar restos de arena y se colocó en horno-incubadora ECOSHEL a 70°C durante 24 horas para que pierda la humedad y se guardó en bolsas de plástico de polietileno para usarlas después en la digestión anaerobia (Figura 9).

## **6.3 Recolección de fracción orgánica residuos sólidos urbanos (FORSU)**

Los residuos sólidos se recolectaron durante el mes de noviembre en casa-habitación con el fin de tener una mezcla sintética con una composición conocida se tomaron cáscaras de diferentes frutas y verduras para co-digerir con el sargazo, las cuales se lavaron con agua destilada y se secaron en horno-incubadora ECOSHEL durante 24 horas y se almacenaron por separado las cascarras en bolsas de cierre hermético (ziploc). La fracción sintética de residuos fue una mezcla de cáscaras de plátano, tallos de brócoli, cáscaras de zanahoria, cáscaras de papa, restos de cilantro, cáscaras de pepino y restos de cebolla (Figura 9).

## Lavado, secado, triturado y homogenización de la materia prima



Figura 9. Procesos de lavado secado y homogenización.

## **6.4 Caracterización de la materia prima y digestato**

### **6.4.1 Determinación de elementos C, H, N, S o análisis último del sargazo y FORSU**

Se cuantificaron los elementos C, H, N y S presentes en los sustratos de la co-digestión mediante cromatografía de elementos en el equipo Thermo scientific Flash Smart, con una columna Porapak PQS y tamiz molecular con helio como gas de acarreo. Se determinaron las relaciones de carbono y nitrógeno para el diseño de los reactores anaerobios.

### **6.4.2 Determinación de metales en el sargazo, FORSU**

La identificación y presencia de metales y metaloides de las muestras de sargazo y FORSU se realizaron por espectrometría de emisión por plasma inductivamente acoplado, ICP-OES Thermo scientific modelo ICAP 6500.

### **6.4.3 Determinación de sólidos volátiles en sargazo y FORSU**

Se determinaron los sólidos volátiles (SV) de las muestras de sargazo y FORSU en calorímetro STA 2500 regulus, con helio como gas de arrastre y temperatura de 10 K/min en base a la Norma ASTM E113. Los datos obtenidos se usaron para determinar la relación inóculo-sustrato en el diseño de los reactores anaerobios.

### **6.4.4 Análisis de pH del sargazo y FORSU**

Se tomó 1 gramo del sargazo y FORSU y se adicionó en 10 mL de agua destilada, se agitó en agitador magnético y se midió el pH con potenciómetro Hanna.

## 6.5 Diseño de los digestores anaerobios

### 6.5.1 Composición de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU)

Los ajustes de las relaciones carbono-nitrógeno en los digestores anaerobios se llevó a cabo realizando una mezcla sintética, las proporciones y componentes del FORSU sintético propuestos para añadir al reactor con sargazo se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Fracción orgánica de residuos de cocina sintética	
Residuo	%
○ Cáscara de plátano.	○ 34 %
○ Restos de brócoli.	○ 10 %
○ Cáscara de zanahoria.	○ 5 %
○ Cáscara de papa.	○ 19 %
○ Restos de cilantro.	○ 7 %
○ Restos de cebolla.	○ 4 %
○ Cáscaras de pepino.	○ 22 %
<b>Total</b>	<b>100%</b>

### 6.5.2 Pruebas de la digestión anaerobia de sargazo

La digestión anaerobia de sargazo y co-digestión con FORSU se realizó en digestores batch o botellas de HDPE Nalgene 0.25 L, selladas con tapa/septa de PTFE/silicona (0.006 pulgadas) de espesor. Se utilizó como inóculo lodos activados provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales Sur de la ciudad de Chihuahua, Chih., previamente aclimatados a la digestión de sargazo. Los sustratos fueron las muestras de sargazo y FORSU secadas a 70 °C en estufa durante 24 horas posteriormente se trituraron se pasaron por tres diferentes tamaños de malla (5 mm, 2 mm y 0.600 mm) (figura 10), para ser cargados en un diseño de 3x3 dando un total de 9 combinaciones y un total de 27 biodigestores, considerando 2 repeticiones, los cuales fueron identificados como DS5, DS2, DS0.6, CDSF5, CDSF2, CDSF0.6, CDSF2.5, CDSF2.2, CDSF2.06. Además se manejaron 3 reactores como testigo o TI (testigo inóculo) el cual solo contiene inóculo se mantuvieron a temperatura de 37±5 °C en horno-incubadora ECOSHEL durante un periodo de 30 días. Antes de cerrar el reactor se midió el pH de la mezcla con un potenciómetro Hanna.

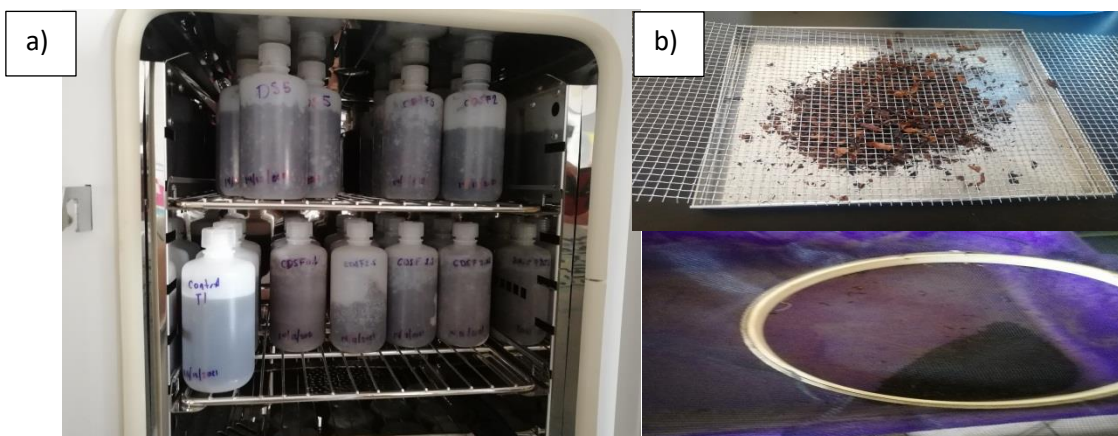


Figura 10. a) Biodigestores de mono-digestión de sargazo y co-digestión de sargazo y FORSU. b) cribado para los tamaños de partícula 5 mm y 2 mm.

La Tabla 8 indica el diseño que tienen los reactores anaerobios con la finalidad de obtener los productos derivados de esta tecnología como el biogás y el digestato a partir de la degradación de los compuestos orgánicos del sargazo en mono-digestión y la co-digestión entre el sargazo y la fracción del FORSU (sintética) con inóculo adaptado previamente al sargazo como sustrato.

Tabla 8.- Condiciones del reactor.

Tamaño del Reactor	250 ml
Carga total	200 ml

Contenido	Reactor 1 DS	Reactor 2 CDSF	Reactor 3 CDSF2	Control TI
Inóculo	60 g	20 g	10 g	100 g
Sargazo	30 g	40 g	90 g	-
Agua	110 ml	136 ml	95 ml	100 ml
FORSU	-	4 g	5 g	-
Relación C/N	15	20	30	10
Relación I/S	2	3	3	-
Tamaño partícula	5, 2, 0.6 mm	5, 2, 0.6 mm	5, 2, 0.6 mm	-

(DS: Digestión sargazo, CDSF: Co-digestión sargazo FORSU, TI: Testigo Inóculo, FORSU: Fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, C/N: Carbono: Nitrógeno, I/S: Inóculo:Sustrato.)



### 6.5.3 Rendimiento teórico de la digestión anaerobia

La estimación en la producción de metano se realizó mediante cromatografía de elementos C, H, O, N y S. en equipo Thermoscientific Flash Smart, con columna Porapak PQS y tamiz molecular con helio como gas de acarreo. A partir de la composición química elemental que se estimó la producción estequiométrica de metano de los digestores con la ecuación de Buswell (3) (Seadi et al. 2008).

$$PBM_{teorico} \left( \frac{cm^3 CH_4}{gSV} \right) = \frac{22.4 \left( \frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} \right) 1000}{12n + a + 16b + 14c}$$

Ecuación 3.- Ecuación de Buswell

### 6.5.4 Cuantificación de biogás y metano producido

Se realizó la lectura de presión del biogás antes y después de las mediciones de metano mediante un sensor de presión. Posteriormente se capturó el biogás mediante método volumétrico que consistió en utilizar una probeta invertida con agua hasta el tope sujeta a un soporte universal en un recipiente con agua, con un equipo de venoclisis se colocó un extremo de la manguera dentro de la probeta y el otro extremo tendrá un agujero que atravesó la septa para obtener una medición en  $cm^3$  de la cantidad producida cada día con estos datos se obtuvo un modelo matemático lineal que relacionó la presión final contra el volumen purgado (Anexo 2) y este se utilizó para calcular los volúmenes iniciales del sistema de digestión. La cuantificación de metano en el biogás se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases INFICON micro GC fusión con columna Molsieve 5A detector TDC y helio como gas de arrastre (anexo 1). El potencial bioquímico de metano se obtuvo mediante la expresión (2).

$$PBM = \frac{mL CH_4}{grSV (añadidos)}$$

Ecuación 4.- Potencial Bioquímico de Metano

### **6.5.5 Análisis estadístico para selección del tamaño de partícula con mejor rendimiento**

Se realizaron un total de 9 tratamientos, resultando de un diseño de tratamientos factorial 3x3. El factor A fue el tamaño de partícula con tres niveles (5, 2 y 0.6 mm). El factor B fue la relación C/N con tres niveles (15, 20 y 30). El factor C es la interacción entre el factor A y el factor B. El análisis estadístico se hizo en el programa de computadora Minitab 19, usando un análisis factorial, para identificar diferencias por el factor A, por el factor, B, por el factor C, así como para las interacciones dobles y para el triple AxBxC. Se utilizó un nivel de significancia de 95%; es decir,  $\alpha=0.05$ .

## **6.6 Caracterización del digestato obtenido**

### **6.6.1 Determinación de elementos C, H, N y S o análisis último del digestato**

Se cuantificaron los elementos C, H, N y S presentes en el digestato resultado de la de la co-digestión mediante cromatografía de elementos en equipo Thermoscientific Flash Smart, con columna Porapak PQS y tamiz molecular con helio como gas de acarreo. Se determinaron las relaciones de Carbono y Nitrógeno para el diseño de los reactores anaerobios.

### **6.6.2 Determinación de metales en el digestato**

La identificación y presencia de metales y metaloides de las muestras de digestato se realizó por espectrometría de emisión por plasma inductivamente acoplado, ICP-OES Thermo scientific modelo ICAP 6500.

### **6.6.3 Porcentaje de humedad del digestato**

Se pesaron 5 gramos de la muestra de digestato en vidrio de reloj en balanza Velab (peso inicial), luego se colocaron en horno-incubadora ECOSHEL a temperaturas entre 110 a 120°C durante 1 hora, se retira el vidrio de reloj con la muestra se deja enfriar por 10 minutos y se pesó en balanza Velab (peso final). Calcular mediante la ecuación 5.

$$\%H = \frac{(\text{peso inicial} - \text{peso final})}{(\text{peso inicial})} \times 100$$

## Ecuación 5.- Porcentaje de humedad.

### 6.6.4 Análisis de pH del digestato

Se tomó 1 gramo del digestato y se adicionó a 10 mL de agua destilada, se agitó con agitador magnético y se midió el pH con potenciómetro Hanna.

### 6.7 Bioensayo del digestato como promotor en la germinación

Se utilizaron semillas de *Bouteloua gracilis* donadas por el INIFAP. Se realizó la desinfestación de las semillas lavando con detergentes (SDS), y posteriormente se sumergieron en una solución de etanol al 70%, y finalmente, en una solución de hipoclorito de sodio y tween 20, para posteriormente ser enjuagadas con agua destilada y se almacenaron en una caja de Petri estéril. Todo el procedimiento se realizó dentro de la campana de flujo laminar.

El Índice de Germinación (IG) se determinó modificando la prueba de fitotoxicidad descrita por Solé-Bundó et al. (2017), quienes usaron digestatos sólidos puros y esterilizados en autoclave con el fin de eliminar la microbiota, para esto se realizó a partir del digestato puro y estéril una solución madre al 100% extraída con agua destilada y 5 diluciones (20, 40, 60, 80 y 100% v/v en agua destilada) como medios de germinación, mientras que se usó agua destilada como control. Se colocaron 25 semillas en algodón humedecido con 30 mL de cada solución de germinación y luego se colocaron en una caja Petri. Cada tratamiento se replicó 2 veces. Las cajas de Petri se cerraron con film plástico para evitar la pérdida de agua y se mantuvieron en la oscuridad durante 48 h ( $20 \pm 2$  °C). Al final de la incubación, el IG se determinó midiendo el número de semillas germinadas, y se expresó como porcentaje del control.

## **6.8 Cálculo de la huella de carbono normada por la ISO 14067**

Se utilizó el Software open LCA 11.1 para el cálculo de la huella de carbono que realiza con base en la norma ISO 14067. Se toma como unidad funcional un metro cúbico de biogás generado por sargazo. Se utilizó el método de evaluación de impactos de ciclo de vida ReCiPe midpoint (H) y la base de datos Ecoinvent para la construcción del inventario.

## 7 Resultados y discusión

### 7.1 Recolección de sargazo

Para recolectar el sargazo se realizó un recorrido por la orilla de la playa Punta Brava en Puerto Morelos del 27 al 30 de abril del 2021, donde encalla el sargazo que es recolectado por las sargaceras, mientras que otra parte del sargazo se acumula en depósitos a lado de las playas, el cual será recolectado por servicios particulares de recolección de escombros. La Figura 11 muestra las zonas de recolección de la muestra y de los servicios, tanto particular como por parte del gobierno local (sargaceras).



Figura 11. Zonas recolección del sargazo.

## 7.2 Morfología del sargazo

El sargazo encontrado pertenecía al grupo de las algas café o pardas (Figura 12) el cual habita alrededor de los mares del mundo, según Thompson et al. (2021) quien comenta que el sargazo se compone de dos especies *Sargassum natans* que posee aerocistos que son vesículas llenas de gas cerca de las frondas con una espícula (alrededor del 80-90%), mientras que morfológicamente la especie que no contiene espículas en sus aerocistos es *Sargassum fluitans* (entre 20-10%). Se encontró que La playa de Punta brava en Puerto Morelos recibe las dos especies de sargazo en las temporadas de primavera a verano.

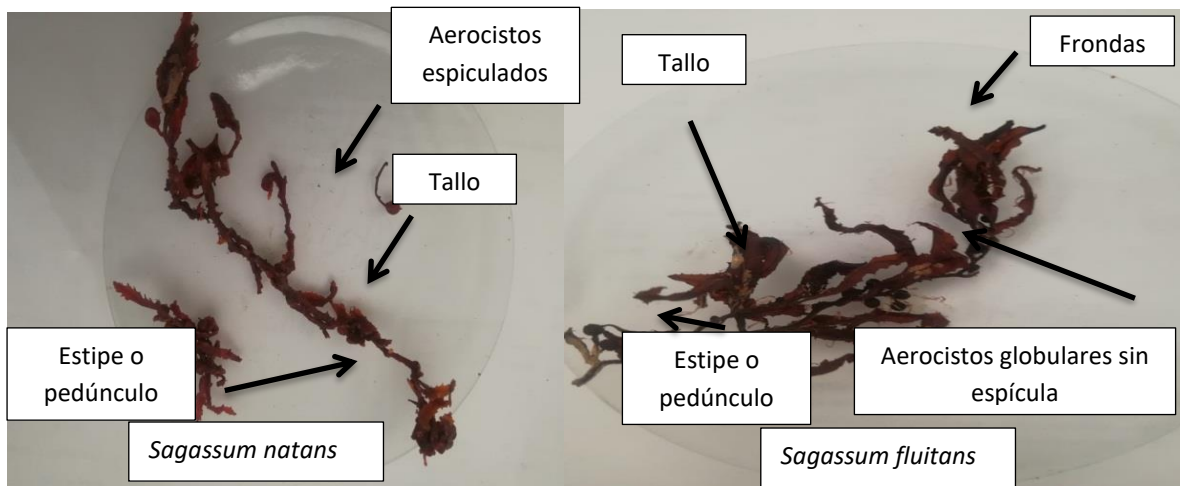


Figura 12. Morfología del sargazo muestreado en las playas de Puerto Morelos.

### 7.3 Caracterización de la materia prima e inóculo

#### 7.3.1 Análisis último y metales del sargazo, FORSU e inóculo

En la Tabla 9 se muestran los valores de C, N, H y O del análisis de elemental del *sargassum spp*, inóculo y FORSU (Fracción Orgánica Residuos Sólidos Urbanos). El nitrógeno y los compuestos de carbono, fosforo, potasio y otros elementos son nutrientes básicos para el crecimiento de los microorganismos (Slopiecka et al., 2022, Thompson et al., 2021). Esta caracterización es importante para el diseño del reactor anaerobio ya que se puede obtener la relación carbono-nitrógeno de los sustratos de manera individual o para ajustar las relaciones en la mezcla de dos o más sustratos. La baja cantidad de nitrógeno presente en la composición del sargazo evitara la generación de nuevas células bacterianas, ya que se consumirá rápido, como consecuencia existirá una inhibición en los reactores si solo se utilizará sargazo sin la adición de inóculo y/o sustrato al sistema de digestión disminuyendo así la producción de biogás, además la presencia de azufre en la composición elemental del sargazo indica que de generarse biogás habrá sulfuro de hidrógeno, lo cual tendrá impacto en el pH del sistema causando inhibición o competencia directa entre comunidades de arqueas y sulfato-reductoras..

Tabla 9. Análisis de elementos del *Sargassum sp*, FORSU (Fracción Orgánica Residuos Sólidos Urbanos) e inóculo.

Elementos	Sargazo ( <i>Sargassum sp.</i> )	FORSU Sintético	Inóculo
C%	37.477	33.835	31.693
H%	4.633	3.859	3.548
N%	0.843	4.686	3.007
S%	1.298	N.D.	N/D

Los valores del análisis elemental son similares en algunos aspectos según lo reportado por autores como Farghali et al., (2021) y Thompson et al., (2020) donde se encuentra un bajo contenido de nitrógeno y se reporta la presencia de azufre (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de elementos de sargazo.

Elementos	Sargazo ( <i>Sargassum fulvellum</i> ) (Farghali et al., 2021)	Sargazo pelágico ( <i>Sargassum sp.</i> ) (Thompson et al., 2020)
C%	12 a 40 %	27.50
H%	N/D	4.16
N%	0,6 a 2,0	1.21
S%	N/D	0.82%

La Tabla 11 muestra el análisis de metales encontrados en el sargazo, FORSU e inóculo. Como se mencionó antes las especies de sargazo poseen la capacidad de absorber metales; por lo tanto, existirá interacción de estos metales en los procesos de DA, no obstante, la presencia de estos dependerá de las concentraciones en las que se encuentren presentes en la pared celular externa y que tan adheridos estén a la matriz de fucoïdanos y alginatos. Su influencia directa en los digestores dependerá de la capacidad de los microorganismos para interactuar con cada uno de estos elementos, ya que algunos como el fósforo y potasio pueden ser precipitados debido a los procesos de hidrólisis quedando libres en la fase líquida, estos toman importancia porque su presencia en esta fase tendrá la función de buffer que ayudara a regular el pH de los reactores, por otra parte, el magnesio y el sodio pueden encontrarse como sales disueltas en el digestor, se observan altas concentraciones de estos metales en el inóculo, debido a que se acumulan fácilmente en presencia de amoníaco, además el calcio que se encuentra en mayor concentración en el sargazo y FORSU al ser liberado por las reacciones bioquímicas puede asociarse al Na, estos pueden interactuar de forma negativa ya que afectarían directamente en la presión osmótica deshidratando las células bacterianas y causando la inhibición del sistema, por lo que se debe tener cuidado al momento de mezclar cada sustrato en los reactores para lograr un equilibrio que favorezca la acumulación de biogás y que la digestión se sostenga el tiempo establecido experimentalmente. Los elementos clasificados como micronutrientes en la tabla son aquellos que se requieren en cantidades mínimas para el crecimiento microbiano o como cofactores para las enzimas microbianas.



Tabla 11.- análisis de metales para *Sargassum sp.*

Elementos	Inóculo (mg/Kg)	Sargazo Puerto Morelos (mg/kg)	FORSU (mg/kg)
Macro-nutriente:			
Na	96,756.68	3,081.57	947.40
Mg	22,230.82	17,923.92	2,295.46
Al	247.69	N/D	5.65
P	1,413.38	1,145.71	N/D
K	159,115.07	1,158.85	27,903.15
Ca	44,867.80	153,584.78	127,297.85
Micro-nutriente			
V	N/D	N/D	N/D
Cr	N/D	N/D	N/D
Mn	55.54	26.03	38.28
Fe	332.29	86.18	64.27
Co	N/D	N/D	N/D
Ni	N/D	N/D	N/D
Cu	N/D	13.97	N/D
Zn	52.38	20.71	28.25
Elementos traza			
As	4.11	26.96	N/D
Cd	N/D	N/D	N/D
Hg	N/D	N/D	N/D
Pb	N/D	N/D	N/D

Dentro de los elementos traza que se consideran tóxicos para los microorganismos afectando su crecimiento y limitando las reacciones bioquímicas se encontró el arsénico (As) presente en el sargazo que de acuerdo con autores como Océanne-Amaya et al. (2022); Ortega-Flores et al. (2022) Vázquez-Delfín et al. (2021) y Abdullah Al Mamun et al. (2020) estas algas tienen una importante participación en el ciclo del As por su alta afinidad con este metal, mencionan también que la presencia de fósforo además de grupos funcionales sulfatados y las concentraciones de nitrógeno presente en la pared celular del sargazo influyen en la acumulación de este metal. La concentración de arsénico presente en el sargazo e inóculo no deberían afectar los procesos de DA ya que la concentración se diluirá con la adición de agua a los reactores, sin embargo, se debe tener en cuenta al finalizar la DA ya que las aplicaciones potenciales que se puedan plantear para el digestato requerirán la ausencia de metales pesados.

Los metales encontrados en la caracterización de sargazo de la temporada 2020 poseen similitudes con el sargazo de la temporada de 2021, exceptuando algunos elementos. Sin embargo, se encontraron diferencias respecto la caracterización realizada por Thompson et al. (2020) donde incluso determinan otros metales traza (Tabla 12).

Tabla 12.- Análisis de metales para *Sargassum sp* (Datos tomados de reporte SEMAR 305292).

Elementos	Reporte SEMAR, 2020-2021 (mg/kg)	Thompson et al, 2020 (mg/kg)
Macro-nutriente:		
Na	4,401.81	14,890.69
Mg	20,424.14	8,233.78
Al	N/D	2,300.08
P	1,375.21	855.13
K	4,426.34	49,973.09
Ca	169,799.61	48,895.20
Micro-nutriente		
V	N/D	25.76
Cr	N/D	12.96
Mn	66.06	337.51
Fe	61.80	2,398.37
Co	N/D	6.51
Ni	N/D	34.90
Cu	7.58	25.08
Zn	9.60	105.65
Elementos traza		
As	32.19	35.22
Cd	N/D	0.79
Hg	N/D	1.36
Pb	N/D	0.40

#### 7.4 Análisis de sólidos volátiles

En la Figura 13 se muestra el termograma (TG) de la muestra de *Sargassum sp.* Este indica que la volatilización a la temperatura de 550°C es del 50.41% este valor representa la medida de la materia orgánica biodegradable (Slopiecka et al., 2022). Otros autores identificaron el rango de SV de diversas biomásas entre 3.93 y 96.96% (Manals-Cutiño et al., 2011; Moset et al., 2015; Zong et al., 2020).

El análisis también indica la derivada de la curva del TG (DTG) donde se identifican 2 picos principales con tasas máximas de pérdida de peso de 2.19 y 2.01 %/min a las temperaturas de 277.7 y 335.7 °C. Estas temperaturas se relacionan con la volatilización de polisacáridos como celulosa y hemicelulosa (Abraham et al., 2011), estas regiones se asocian también con la descomposición de carbohidratos y proteínas en rangos de 150 hasta 360° C (Ong, 2019, Yang et al., 2019).

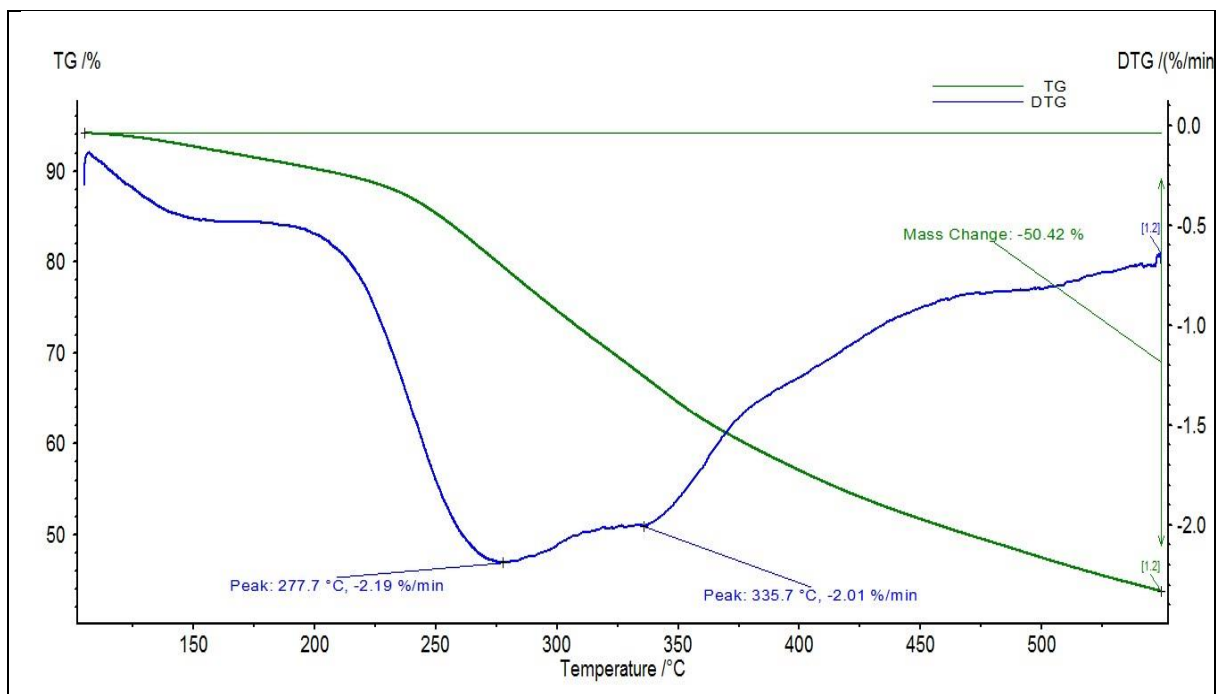


Figura 13. Análisis termogravimétrico y DTG del *Sargassum sp.*

## 7.5 Características de la materia prima para la DA

Se muestran en la Tabla 13 las características que se tomaron en cuenta para cargar los reactores anaerobios. Se observa que la cantidad de humedad del sargazo es del 83.71%. Autores indican que las macroalgas son sustratos que poseen entre 70 y 90% en peso de humedad (Thompson et al., 2020; Farghali et al., 2021), mientras que el FORSU solo consta de 58.82% de agua.

El pH influye en la solubilidad de los compuestos y el crecimiento microbiano. En un digestor este parámetro será importante para determinar la estabilidad del proceso y para el digestato obtenido. Los autores recomiendan valores de pH entre 6.8 hasta 7.5 respectivamente. En este caso el sargazo tiene un pH 7.4 lo cual está dentro de los valores establecidos, mientras que el inóculo posee un pH 7.8 y el FORSU sintético tiene un pH 6.2, los cuales están fuera de estos límites, esto puede provocar que existan variaciones durante la DA con cambios de pH que pueden alterar el desarrollo microbiano o una incorrecta degradación de los compuestos e incluso favorecer el crecimiento de bacterias sulfato reductoras (Slopiecka et al., 2022, Thompson et al., 2021).

Un elemento importante para el control de los procesos es la relación C/N donde los autores indican que los valores óptimos se deben mantener entre los 20 a 30 (Slopiecka et al., 2022; Thompson et al., 2021; Yan et al., 2015). La caracterización individual de los sustratos e inóculo están fuera de los parámetros óptimos para la DA el sargazo tiene una relación de 44.45 en este caso habría un alto consumo de nitrógeno por la actividad microbiana y menor producción de biogás, por su parte en el inóculo C/N= 10.53 y el FORSU C/N=7.22 donde su relación C/N es menor a los valores óptimos, en este caso existiría la producción de amoníaco afectando directamente al pH causando una inhibición de las arqueas metanogénicas. El pH final de los reactores quedo en una rango de 6.5 a 7.3 esto debido a que se ajustaron las relaciones C/N en rangos de 15, 20 y 30 permitiendo que se establecieran las comunidades microbianas que favorecen los procesos de la DA.

Los sólidos volátiles presentes en cada materia prima se encuentran cercanos al 50% o más, estos valores indican que los elementos elegidos para la carga de los reactores tienen una base de moléculas biodegradables, además este valor será importante para el cálculo de potencial bioquímico de metano ya que está estrechamente relacionado con la generación de biogás. Thompson et al. (2021) indica que para el sargazo se han reportado valores de 37% en peso seco.

Tabla 13. Características del sargazo para la digestión anaerobia.

Características	Sargazo Puerto Morelos(2021)	FORSU	Inóculo
%humedad	83.71%	58.82%	N/A
pH	7.4 ± 0.1	6.2 ± 0.1	7.8 ± 0.1
C/N	44.45	7.22	10.53
%SV	50.42%	59%	51.80%

## 7.6 Producción de biogás

La eficiencia de producción de biogás está relacionada a factores como pH, temperatura, tasa de carga orgánica, relación C/N y el tamaño de partículas, en este proyecto la relación C/N y el tamaño de partícula fueron los parámetros que se tomaron en cuenta para estudiar la producción de biogás.

### 7.6.1 Producción de biogás a partir del tamaño de partícula

Las Figuras 14, 15 y 16 muestran los tres diferentes tamaños de partícula (5, 2 y 0.6 mm) ajustados a una relación C/N específica (15, 20 y 30).

Se observa en la Figura 14 que la mayor cantidad de biogás acumulado es de 1763 cm<sup>3</sup>/gSV tamizando la materia prima a un tamaño de partícula de 2 mm (rojo). Mientras que la segunda mejor producción fue la partícula de 5 mm (negro) obteniendo un acumulado de 1440 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV, y la partícula más pequeña con tamaño de 0.6 mm (verde) aportó una producción de 1196 cm<sup>3</sup> de biogás /gSV para un tratamiento de 30 días y una relación de 15.

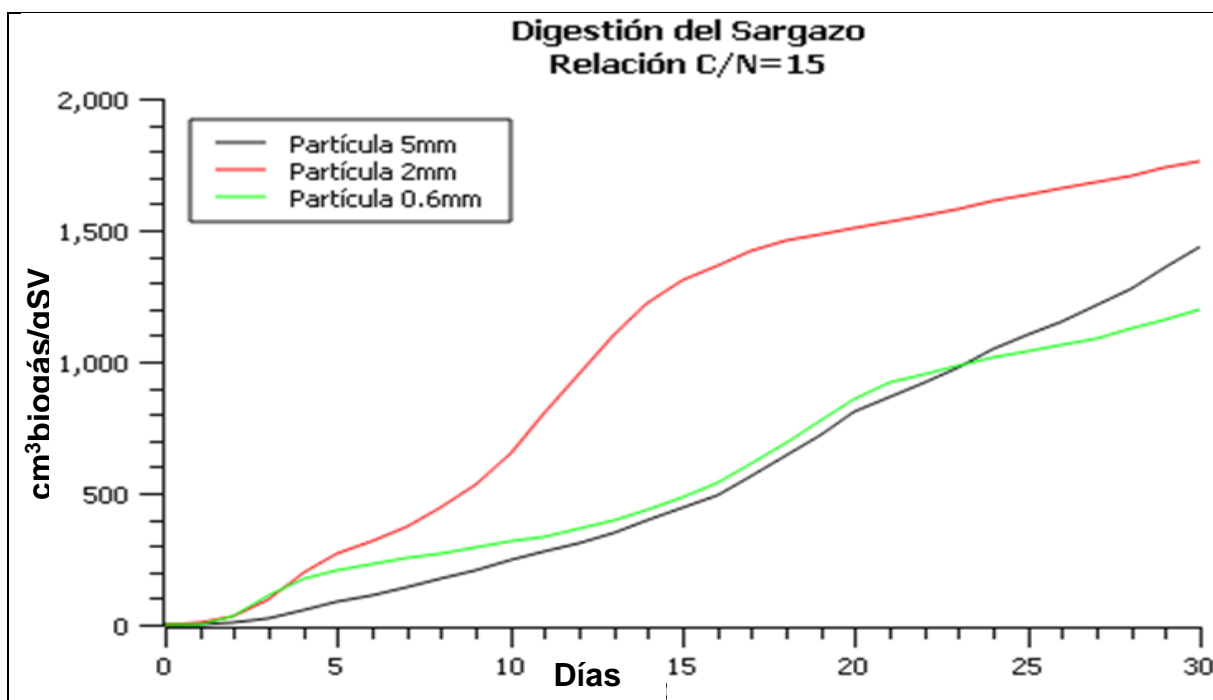


Figura 14. Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con relación C/N=15

El ajustar los biodigestores a una relación C/N de 20 como se muestra en la Figura 15 donde se indican que la partícula de 2 mm (rojo) generó un acumulado de 976 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV siendo el de mejor producción, mientras que el tamaño de partícula de 5 mm generó un acumulado de 804 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV y el tamaño de partícula de 0.6 mm acumulo 591 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV.

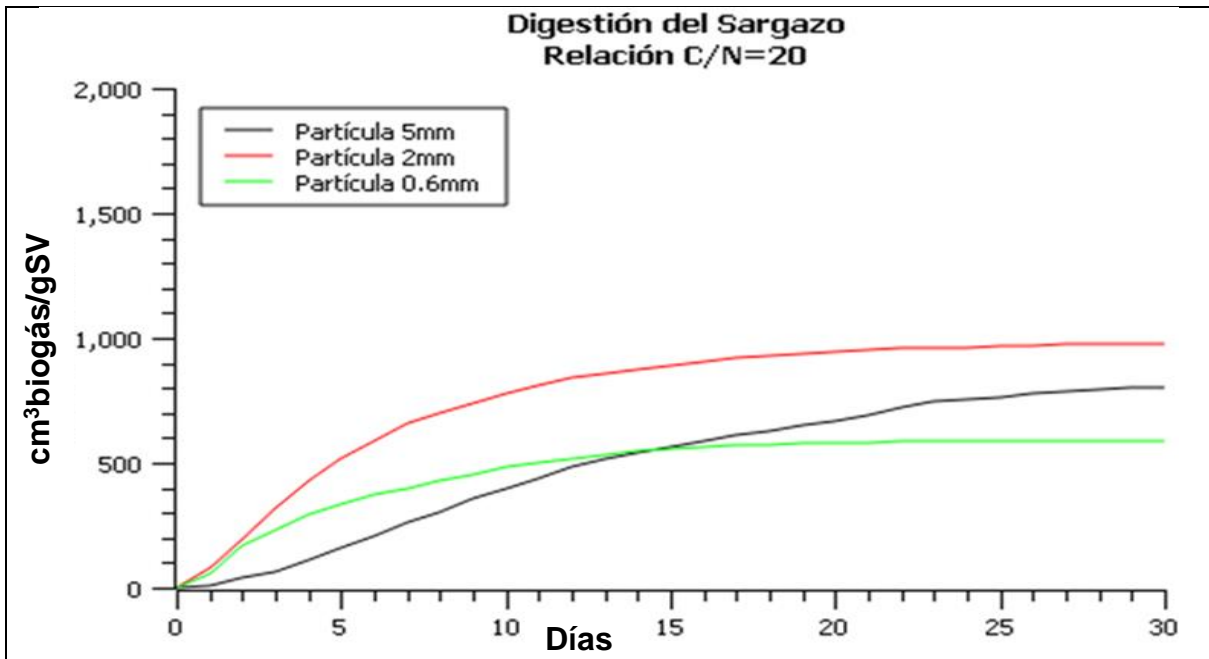


Figura 15. Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con relación C/N=20



La Figura 16 indica los acumulados de biogás al realizar el ajuste a una relación C/N de 30. Se observa en la gráfica que los tratamientos en esta relación solo acumularon biogás los primeros 5 días, sin embargo, el tamaño de partícula 2 mm (rojo) sigue siendo el de mejor rendimiento ya que acumulo hasta 307 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV, y la partícula de 0.6 mm (verde) hasta 263 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV, siendo en este caso la de menor acumulación la partícula de 5 mm (negro) con un acumulado de 117 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV.

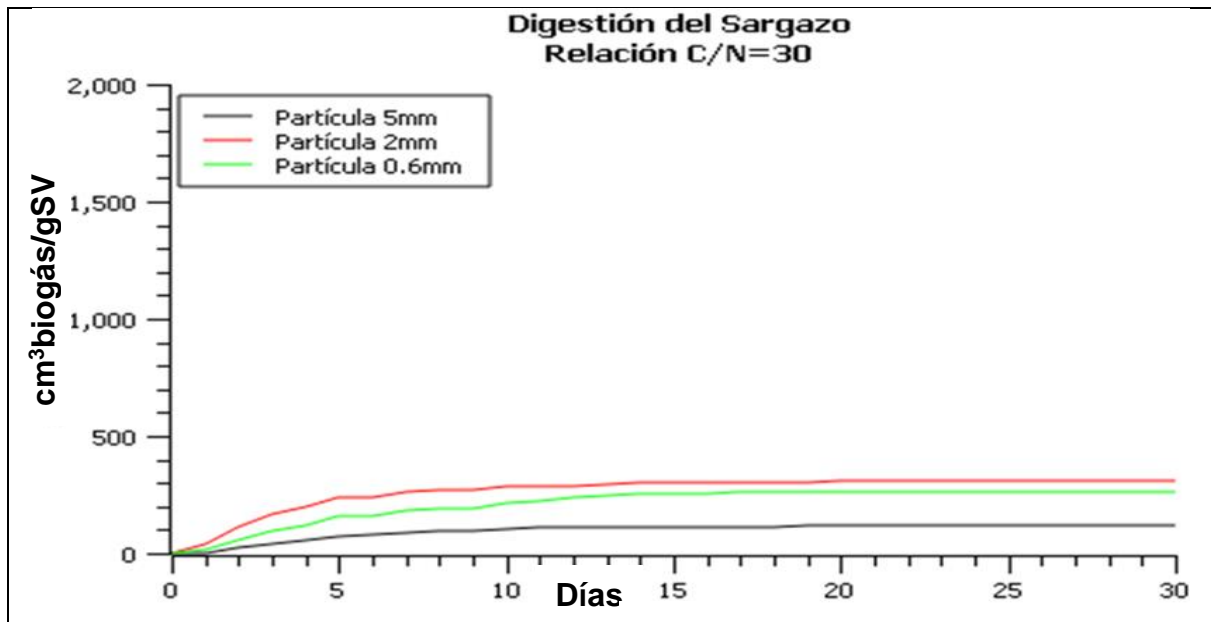


Figura 16. Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con relación C/N=30

### 7.6.2 Producción de biogás a partir de la relación Carbono/Nitrógeno

La Figura 17 indica las diferentes relaciones C/N y su acumulación de biogás utilizando una partícula de 5 mm. Se observa que la relación C/N=15 (negro) tiene el mayor acumulado de biogás con 1440 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV, la relación C/N=20 (rojo) generó un acumulado de 804 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV y finalmente la relación C/N=30 solo acumulo 117 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV. Así que para aprovechar la mayor acumulación de biogás en un tratamiento de 30 días para este tamaño de partícula será necesario ajustar la relación a 15.

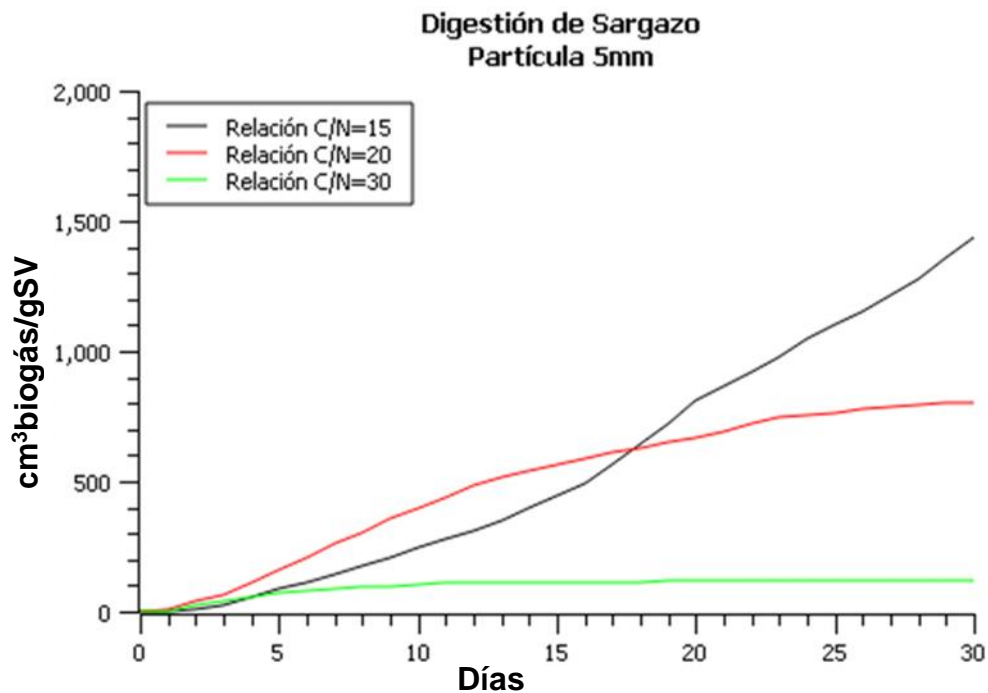


Figura 17. Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con Tamaño de partícula 5 mm.

El tamizar la materia prima a un tamaño de partícula de 2 mm como se observa en la Figura 18 indica que la relación de 15 (negro) acumula la mayor cantidad de biogás con un valor de 1763 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV, una relación de 20 (rojo) acumula hasta 976 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV mientras que la relación de 30 (verde) acumula solo 307 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV.

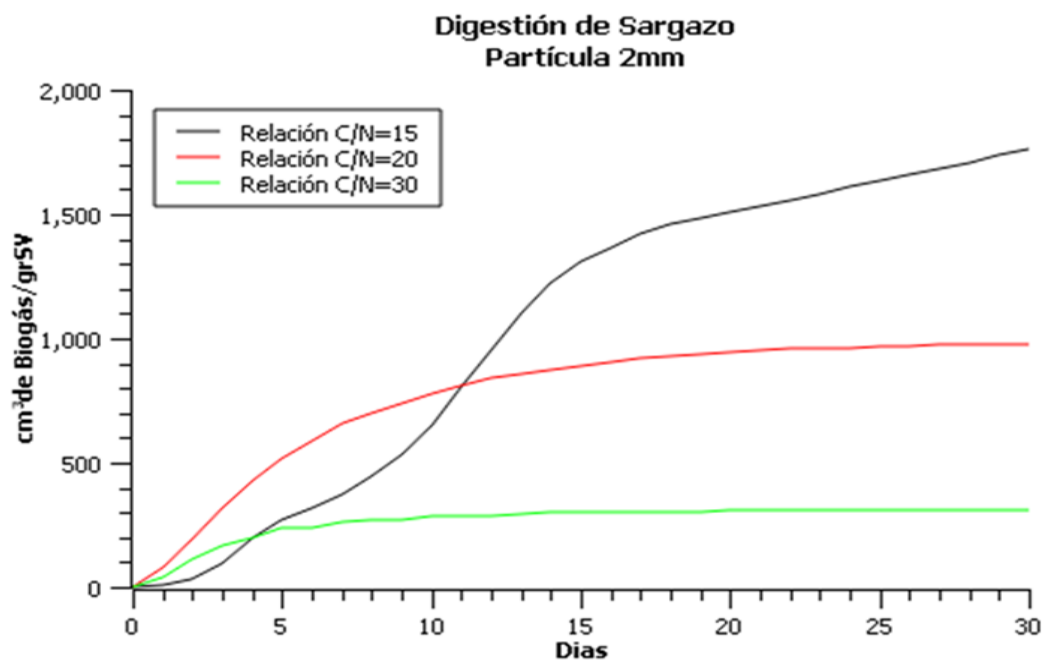


Figura 18. Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con Tamaño de partícula 2 mm

La Figura 19 muestra las diferentes relaciones C/N 15, 20 y 30 ajustados para un tamaño de partícula de 0.6 mm donde la mejor producción fue de 1196 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV en una relación de 15 (negro) y la segunda mejor producción para esta partícula es de 591 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV en una relación de 20 (rojo), finalmente la relación de 30 (verde) produce hasta 263 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV siendo la menor producción en este bioreactor.

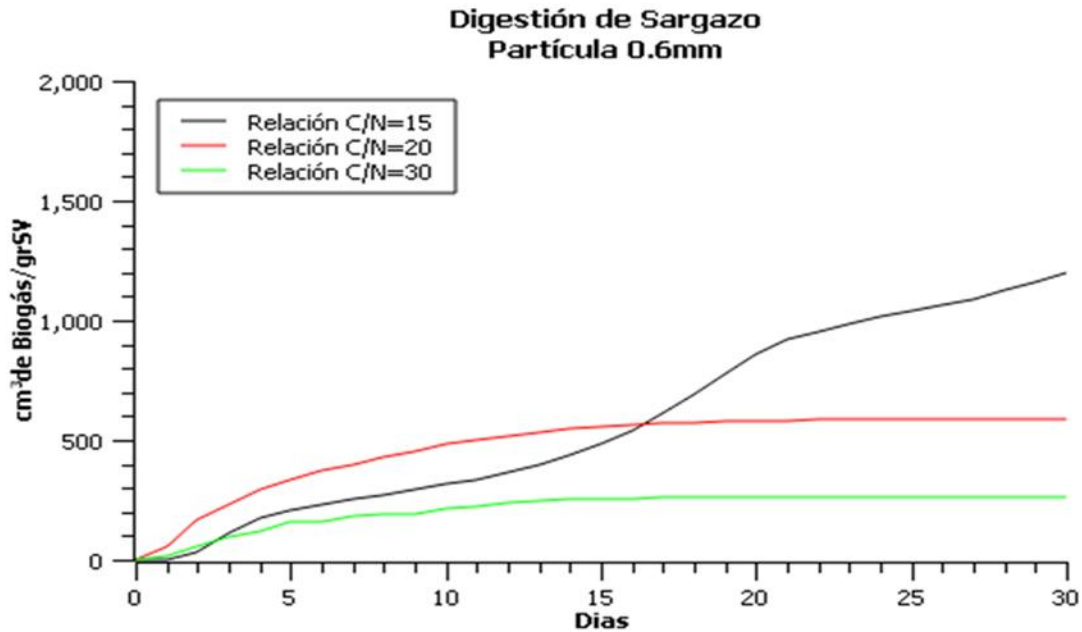


Figura 19. Producción acumulada de biogás en digestión anaerobia de sargazo con Tamaño de partícula 0.6 mm

Los acumulados de biogás generados fueron a partir de condiciones operacionales específicas como temperatura constante a  $37 \pm 5$  °C, el volumen de los reactores se estableció de 200 mL, un pH establecido de entre 6.5 a 7.5 y un tratamiento de 30 días. Mientras que las condiciones variables fueron (1) los tamaños de partícula y (2) la relación C/N.

La falta de agitación en los reactores así como el acomodo de las partículas en el interior del digesto influyeron en los resultados obtenidos de biogás generado. Algunos autores Akila et al. (2019), Thompson et al. (2021), Vergara et al. (2008) determinan diferentes condiciones de operación y tiempos de experimentación obteniendo diferentes acumulados de biogás con macro algas rojas, verdes y cafés las cuales se consideran viables para ser biotransformadas. Al evaluar el potencial obtención de biogás se encontró que las condiciones experimentales y el pre tratamiento de tamizaje acumulan valores entre  $263 \text{ cm}^3$  de biogás/gSV y  $1763 \text{ cm}^3/\text{gSV}$  rangos que se encuentran dentro de los valores reportados en la literatura donde los promedios varían entre 116 hasta los  $673 \text{ cm}^3$  de biogás e incluso los valores reportados en esta investigación son superiores.

### 7.6.3 Análisis de varianza (ANOVA)

El valor de p es menor al nivel de significancia de 0.05 por lo que existen diferencias significativas entre las medias de las partículas, las relaciones C/N y su interacción. Se observa en la Figura 20 la interacción entre las medias para los diferentes volúmenes de biogás obtenidos previamente. Para obtener la mayor cantidad de biogás a partir de sargazo con las condiciones operacionales de este estudio se debe realizar con el tamaño de partícula del sargazo a 2 mm y una relación C/N de 15.

Tabla 14.- Análisis de Varianza entre el tamaño de partícula y los volúmenes de biogás generados.

Factor tipo	Niveles	Valores
Relación C/N	3	1,2,3
Partícula	3	1,2,3

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
C/N	2	42498356	21249178	177.90	0.000
Partícula	2	15189077	7594539	63.58	0.000
Partícula*C/N	4	434461	1076115	9.01	0.000
Error	828	98897385	119441		
Total	836	160889280			

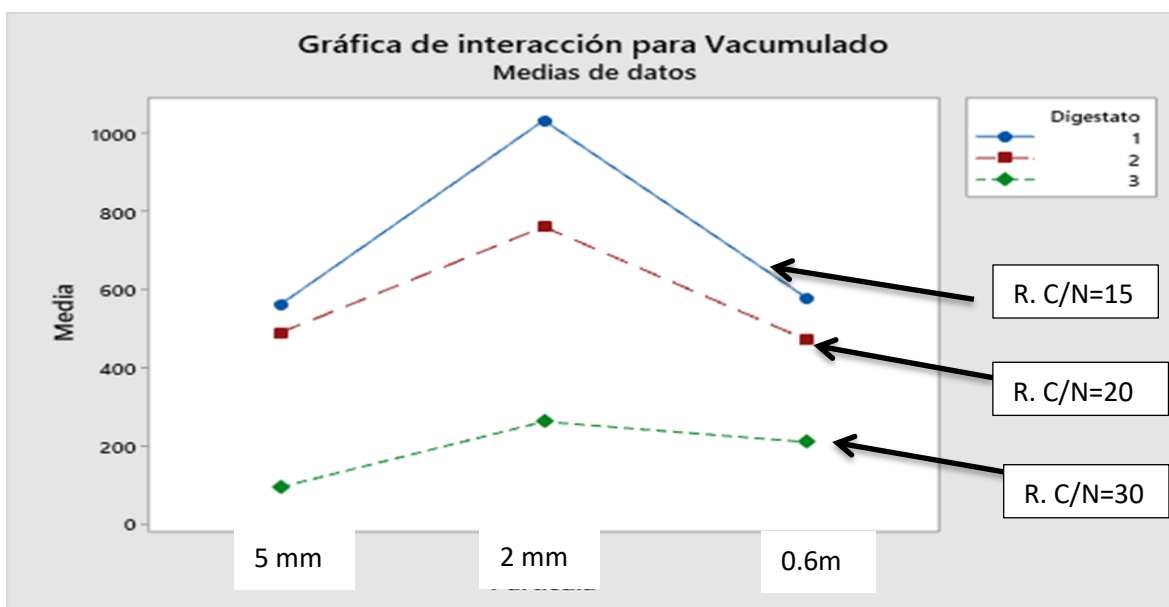


Figura 20. Gráfica de interacción del volumen acumulado por tamaño de partícula y su relación C/N.

## 7.7 Potencial bioquímico de metano (PBM)

La Figura 21 muestra el potencial acumulado respecto al tiempo el tamizar el sargazo a una partícula de 2 mm y una relación C/N=15 no solo da el mejor rendimiento en la generación de biogás si no que alcanza un potencial acumulado de hasta 92.62 mL CH<sub>4</sub>/g SV mientras que la partícula de 5 mm la cual se seleccionó por su parecido en cuanto a producción de biogás, además de un manejo más sencillo comparado con la partícula de 0.6 mm. En esa misma relación (C/N=15) solo alcanzo un potencial acumulado de 68.99 mL CH<sub>4</sub>/g SV. El potencial para el sargazo de las playas de Cancún es relativamente bajo comparado con lo mencionado por algunos autores que reportaron diferentes valores para otras especies del género *Sargassum*. Thompson et al. (2021) reportaron hasta 116.72 mL de CH<sub>4</sub>/gSV. Maneein et al. (2021) reporto para sargazo de la especie *muticum* valores en el rango de 128.2 y 139.7 mL CH<sub>4</sub>/gSV, esto sugiere que los tratamientos de tamizaje no aumentan la producción de metano, no obstante es importante mencionar que las condiciones experimentales y tratamientos a la materia prima son variables, por lo que a pesar de ser un valor relativamente bajo este tendrá margen de mejora si se modifican los parámetros del reactor.

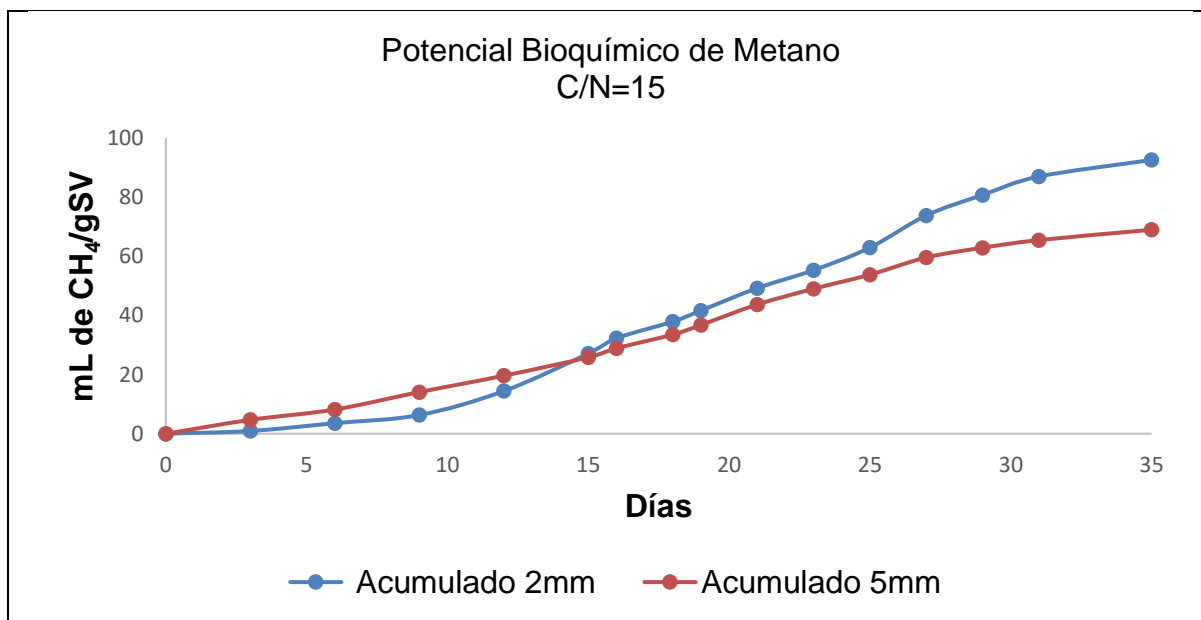


Figura 21. Potencial Bioquímico de metano acumulado (PBM).

## 7.8 Volumen de metano

La Figura 22 muestra el volumen acumulado de metano para las partículas 2 mm y 5 mm, las cuales fueron elegidas previamente por su buen rendimiento en la acumulación de biogás. Este biogás debe poseer en su composición metano ( $\text{CH}_4$ ) para ser valorizado por lo que se han empleado diversos pretratamientos con la finalidad de aumentar la producción de  $\text{CH}_4$ , el pretratamiento empleado en este experimento fueron los diferentes tamaños de partícula donde se registraron luego de 35 días de monitoreo se obtuvieron producciones acumuladas de hasta 1401.03 mL de  $\text{CH}_4$  para el sargazo tamizado en tamaño de partícula 2 mm y una relación C/N=15 mientras que para la partícula de 5 mm en la misma relación de C/N se alcanzó un acumulado de 1043.66 mL de  $\text{CH}_4$ . Se observa que la producción de metano es lenta en la partícula de 2 mm hasta al día 15 donde se cruza contra la partícula de 5 mm y a partir de ese punto aumenta su producción. El acumulado de metano concuerda con valores reportados por otros autores como Maneein et al. (2021) quien reporto un acumulado de hasta 1500 mL de metano, mientras que Soto (2015) reporto apenas 700 mL de metano acumulado.

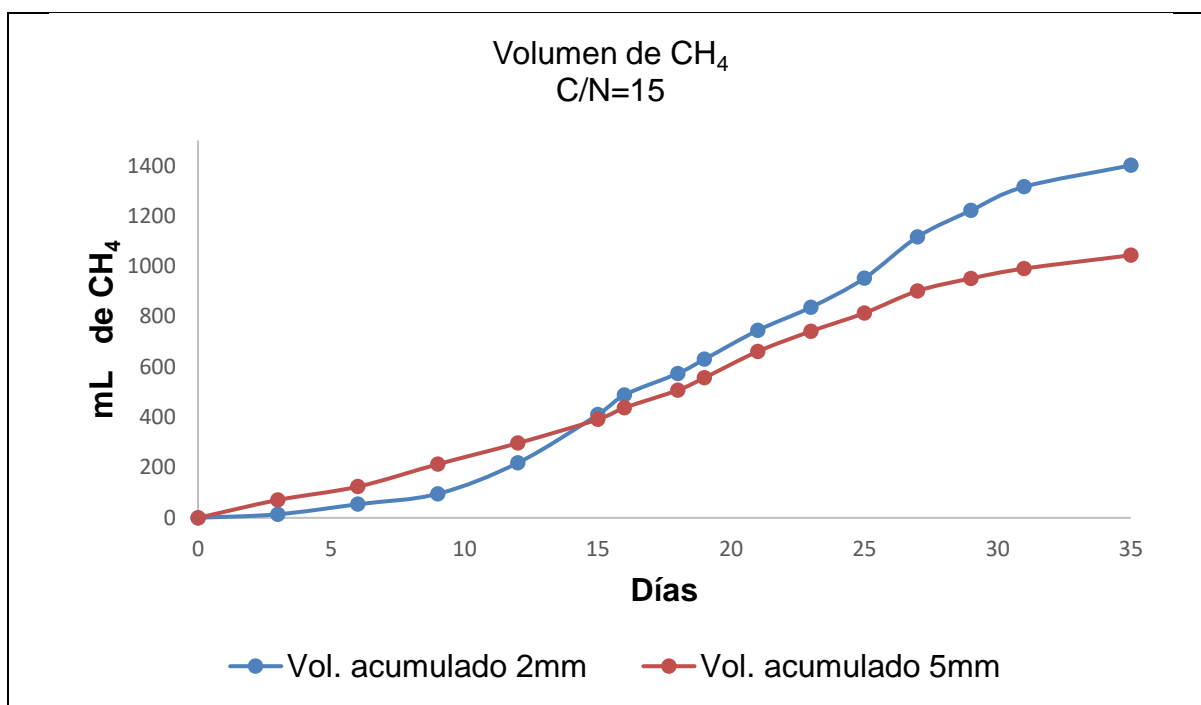


Figura 22. Volumen acumulado de metano.



## 7.9 Partes por millón de H<sub>2</sub>S

Si bien no se reportan por los autores los niveles de H<sub>2</sub>S producidos durante la DA de algas Thompson et al. (2021) Mencionan que un tratamiento hidrotermal disminuye del 3 al 1% la producción de este gas, además es importante mencionar que la OSHA (Administración de Seguridad y Salud Ocupacional de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés) afirma que las concentraciones máximas aceptables para la exposición humana es de 20 ppm durante 8 horas; una exposición a concentraciones más altas tendrá efectos negativos para la salud (Kolluru et al., 2013).

La Figura 23 muestra las partes por millón (ppm) de H<sub>2</sub>S producidos a lo largo del proceso de DA, los cuales se determinaron mediante cromatografía de gases, se observa que dentro de los primeros 6 días se genera la mayor cantidad de H<sub>2</sub>S tendiendo su producción máxima en el día 6 esto indica que existe la bioconversión de azufre por las bacterias sulfatoredutoras, y que el reactor tendrá una baja concentración de CH<sub>4</sub>. De acuerdo con las vías metabólicas desde la hidrólisis hasta la metanogénesis, el sistema tiende a estabilizarse lo cual se puede observar a partir del día 15, cuando aumenta la concentración de gas CH<sub>4</sub>, permitiendo las condiciones favorables para las comunidades de arqueas, aunque de manera general las concentraciones de H<sub>2</sub>S aún son demasiado altas, por lo tanto será importante el considerar implementar tecnologías de purificación o eliminación para evitar daños a la salud y a los equipos.

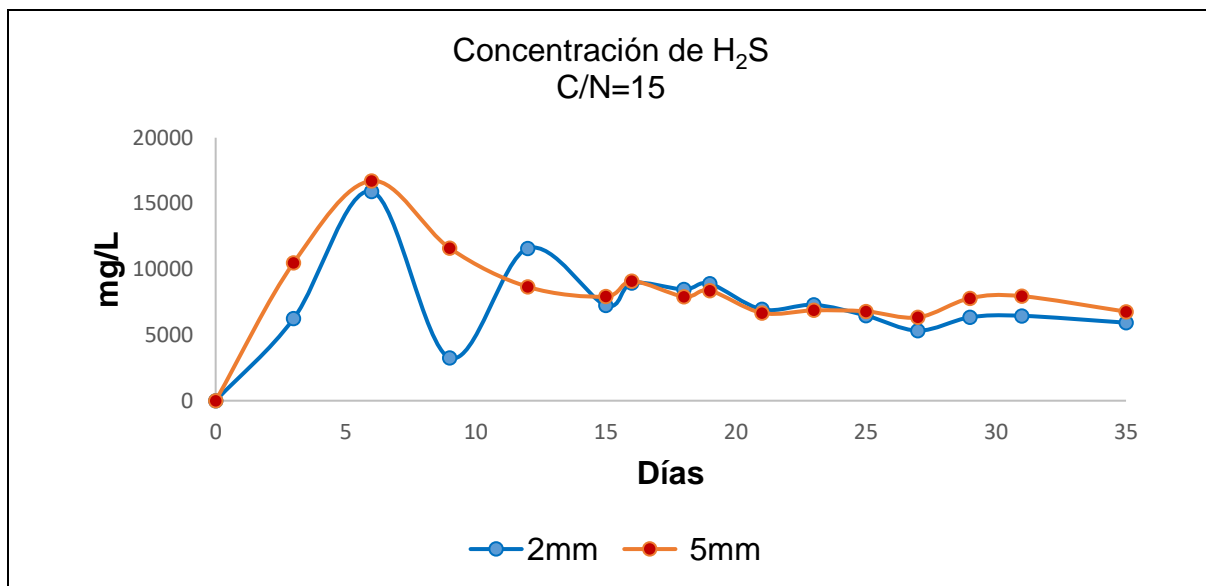


Figura 23. Generación de H<sub>2</sub>S en los reactores experimentales.

## **7.10 Rendimiento teórico de la DA estimada mediante la ecuación de Buswell**

De acuerdo al análisis elemental (C, H, N, S, O) realizado al sargazo se obtuvo la fórmula empírica, mediante la cual se estimó la cantidad máxima de metano esperada considerando el consumo total de los sólidos volátiles presentes en el sustrato (Tabla 15) esta fórmula es una sobreestimación de la cantidad esperada experimentalmente. Se puede observar que los resultados obtenidos de fórmula empírica y producción estimada concuerdan con los resultados obtenidos por Kennedy & González, 2021, Morales & López, 2022 y Thompson et al. (2020). Las diferencias entre la producción experimental se debe principalmente a las condiciones experimentales planteadas por cada autor. Además el añadir al sistema inóculo previamente aclimatado en reactores de escala laboratorio de poco volumen acorta los días de arranque y producción para favorecer la DA. De acuerdo a los autores el potencial bioquímico esperado para estas macro algas es dentro del rango (120 a 280 cm<sup>3</sup> de CH<sub>4</sub>/g SV) (Nkemka & Murto, 2010, Márquez et al. 2014, Saratale et al. 2018, Tedesco et al. 2018, Thompson et al. 2020).

Tabla 15.- Producción estimada de metano mediante la ecuación de Buswell para usar sargazo y FORSU como sustratos.

	<b>Formula empírica</b>	<b>Producción estimada mL<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/gSV</b>	<b>Producción experimental mL<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/gSV</b>	<b>Tratamiento DA</b>
Sargazo Puerto Morelos (2021) 35 días	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> O <sub>29</sub> N	274	92.62	Tamizado en diferente tamaño de partícula. Reactor de 250 mL. Inóculo adaptado y variación R. C/N
Sargazo (2020) (Morales-Duran & López-Aguilar, 2022) 99 días – 172 días	N/D	N/D	140–161	Inóculo sin previa adaptación. Variación en relación I/S. Reactores mayores a 10L.
Sargazo (2020) (Kennedy & González, 2021) 40 días	C <sub>26</sub> H <sub>39</sub> O <sub>29</sub> N	302	183 – 348	Inóculo de planta tratadora de aguas residuales. Reactor 200 mL Variación en la relaciones I/S y carga del reactor
Sargazo Thompson et al. (2020) 21 días	C <sub>27</sub> H <sub>4</sub> O <sub>34</sub> N	142.8	116.72	Pretratamiento hidrotermal, acorta la fase hidrolítica.

### 7.11 Biodegradación del carbono

La biodegradación del carbono indica la transformación de este elemento en compuestos gaseosos (Bareha, 2021). La formación de  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$  durante la DA será de gran importancia ya que este dependerá de la bioconversión de C orgánico en el biogás. La Figura 24 muestra los porcentajes de carbono degradados en el proceso e indica que en el caso de los reactores con relación C/N=15 tienen mayor porcentaje de biodegradación, esto claramente expresa que existe una relación entre la generación de biogás y la conversión de carbonos a  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ , ya que previamente se observó que las mayores acumulaciones de biogás ocurrieron en los reactores esta relación C/N, además las partículas de 2 mm y 0.6 mm tienen una mayor degradación de hasta 32 y 34% respectivamente.

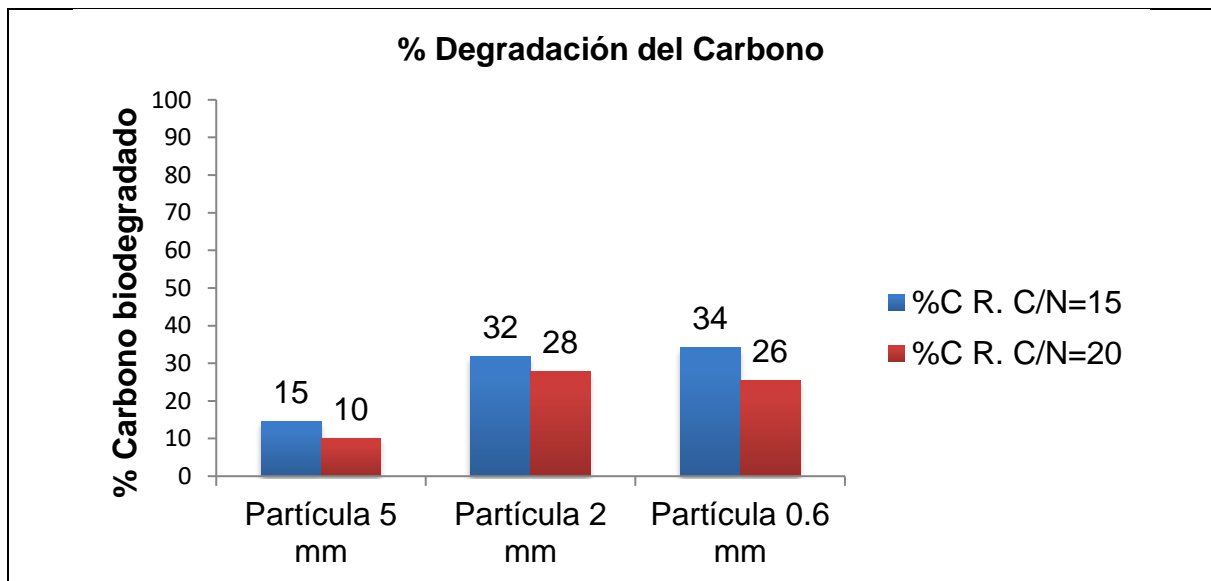


Figura 24. Porcentaje de carbono biodegradado durante el proceso de degradación anaerobia.

### 7.12 Biodegradación de sólidos volátiles

Liu et al. (2021) menciona que la destrucción de los SV depende de la liberación de constituyentes intracelulares y extracelulares de los sustratos. En la Figura 25 se observan los resultados de la degradación de sólidos volátiles se muestra que la relación C/N de 20 posee mayor porcentaje de degradación comparado con la relación de 15, esto tiene correlación con la conversión de productos intermedios que se liberan al momento de la ruptura de moléculas de gran tamaño como polisacáridos, lípidos, entre otros, a compuestos más sencillos derivados de estos como azúcares y ácidos grasos, debido a que existe un consorcio microbiano que cambia en cuanto a composición y estructura dependiendo de las condiciones y acumulación de metabolitos resultantes de la biodegradación en los digestores, el que exista mayor degradación en los digestores de relación C/N=20 sugiere que la comunidad microbiana realiza con mayor facilidad la ruptura de compuestos, a pesar de que estos reactores acumulan menor cantidad de biogás, por lo tanto existe la posibilidad de que el metabolismo microbiano este generando metabolitos secundarios que pueden afectar la actividad de las arqueas metanogénicas resultando en la baja acumulación de biogás discutida previamente.

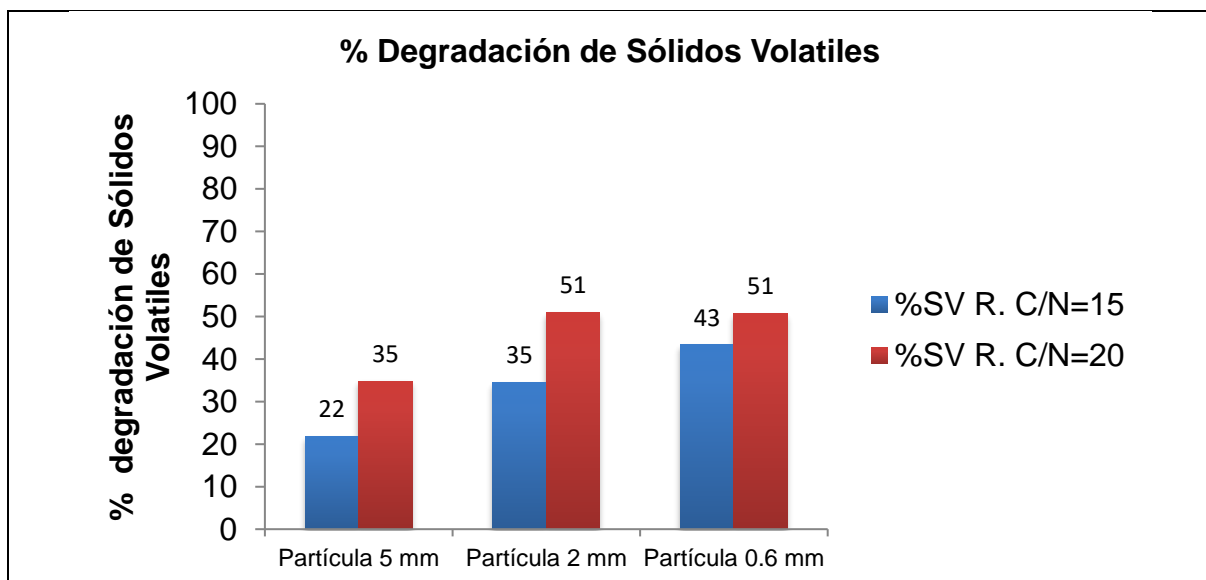


Figura 25. Porcentaje de Sólidos volátiles biodegradados durante el proceso de degradación anaerobia.

### 7.13 Caracterización del digestato

Se determinó la caracterización elemental en porcentaje de los digestatos recuperados luego de 30 días de tratamiento. En la tabla 16 se muestran los resultados de carbono y nitrógeno para los digestatos obtenidos de la DA comparando entre partículas del mismo tamaño, pese a que tienen diferencias en cuanto a la carga entre digestores y el ajuste de las relaciones C/N no existe una diferencia tan grande entre los valores obtenidos para estos elementos. Si bien el consumo de carbono se relaciona con la generación de productos como CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, y el nitrógeno se utiliza para el crecimiento microbiano, aun cuando el digestato no parece tener diferencias, la acumulación de biogás si difiere entre partículas. Se observan también los porcentajes de sólidos volátiles que quedaron al final de la digestión, la bioconversión de estos SV para la producción de biogás está ligada a la obtención de productos intermedios que interactúan en las fases de acidogénesis y acetogénesis por lo que las partículas de 0.6 donde existe menor cantidad de SV acumularon más compuestos en estas fases, debido a que no es posible determinar las características o el tipo de compuestos en los reactores, es complicado establecer si estos compuestos afectaron de alguna manera la producción de biogás. Por otra parte los digestatos de partícula 2 y 0.6 mantienen mayor porcentaje de calcio debido a que no lo precipitaron a la fase líquida esto puede estar relacionado con los pocos cambios en el pH durante la DA, las propiedades de este metal son de importancia ya que se relaciona con la capacidad de intercambio catiónico (FAO, 2022). Las características de estos digestatos muestran que son ricos en elementos que pueden ser aprovechados para su aplicación en suelos.

Tabla 16.- Características del digestato resultado de la digestión anaerobia del *Sargassum sp.*

Parámetros	Digestato					
	5	5	2	2	0.6	0.6
Partícula (mm)	5	5	2	2	0.6	0.6
Relación DA (C/N)	15	20	15	20	15	20
C (%)	32.03	33.67	25.59	27.07	24.68	27.9
N (%)	1.69	1.66	1.51	1.74	2.05	1.88
Ca (%)	6.69	6.08	13.59	13.77	15.26	11.32
SV (%)	39.42	32.85	33	24.74	28.55	24.86

### **7.14 Comparación del Digestato con la normativa NTEA-006-SMA-2006**

La normativa NTEA-006-SMA-2006 indica diferentes características que se deben tomar en cuenta para que en caso de aplicar el digestato como mejorador de suelos y este no tenga un impacto negativo en el suelo. La Tabla 17 muestra los valores obtenidos en la caracterización fisicoquímica del digestato comparando la relación C/N y las partículas de las que se obtuvieron, observamos que solo el tamaño de partícula de 0.6 mm y relación 15 cumple con los requisitos establecidos por esta normativa, mientras que en esta misma relación las otras dos partículas tienen mayor relación C/N por lo que aún no se consideran aptos para ser aplicados en suelos, las partículas de digestatos obtenidos a partir de una relación de 20 tienen la problemática que su relación C/N y el pH no están dentro de los valores permitidos establecidos por la norma NTEA-006-SMA-2006. Además de que se deben cumplir estos parámetros observamos diferencias en las concentraciones de elementos considerados nutrientes para las plantas como fósforo y potasio (Alif & Palencia, 2013; Moro-Flores et al., 2021), esto es debido a que en la DA las bacterias pueden aprovechar estos nutrientes para el mantenimiento del reactor, intercambio entre la fase líquida y la fase sólida del sustrato y su precipitación debido al consumo de la biomasa, a pesar de esto las concentraciones están dentro de los valores permitidos.

Tabla 17.- Características fisicoquímicas presentes en los digestatos y su comparación con la NTEA-006-SMA-2006.

Características	Partícula 5mm				NTEA-006-SMA-RS-2006
	C/N=15		C/N=20		
pH	6.5	✓	6.1	x	6.5 a 8
Relación C/N	18.89	x	20.24	x	< a 12%
Fosforo (P)	0.109	✓	0.137	✓	> a 0.10% o 1000 ppm
Potasio (K)	4.10	✓	5.494	✓	> a 0.25% o 2500 ppm
Características	Partícula 2mm				NTEA-006-SMA-RS-2006
	C/N=15		C/N=20		
pH	7.2	✓	5.7	x	6.5 a 8
Relación C/N	16.86	x	15.59	x	< a 12%
Fosforo (P)	0.182	✓	0.208	✓	> a 0.10% o 1000 ppm
Potasio (K)	4.57	✓	4.74	✓	> a 0.25% o 2500 ppm
Características	Partícula 0.6mm				NTEA-006-SMA-RS-2006
	C/N=15		C/N=20		
pH	7.2	✓	5.8	x	6.5 a 8
Relación C/N	11.68	✓	14.82	x	< a 12%
Fosforo (P)	0.267	✓	0.183	✓	> a 0.10% o 1000 ppm
Potasio (K)	4.34	✓	5.52	✓	> a 0.25% o 2500 ppm



### 7.15 Metales pesados permisibles dentro de la normativa nacional e internacional

Se muestra en las Figura 26 las concentraciones del análisis de zinc en los digestatos de cada relación C/N. En el momento que inicia la DA los metales son liberados del sustrato sólido, se observa que la partícula de 5 mm en ambos digestatos posee la mayor cantidad de zinc, pero la relación de 15 posee más zinc acumulado al término de la DA, los demás digestatos están en concentraciones entre 6.30 mg/Kg hasta 16.03 mg/Kg, este elemento se encuentra dentro de los límites permitidos por la NTEA-006-SMA-RS-2006 y la NOM-004-SEMARNAT-2002, incluso este metal en las concentraciones adecuadas puede ser considerado un microelemento para los microorganismos del suelo.

Limite permisible: NTEA-006-SMA-RS-2006: 90 mg/kg  
Limite permisible: NOM-004-SEMARNAT-2002: 2800 – 7,500 mg/kg

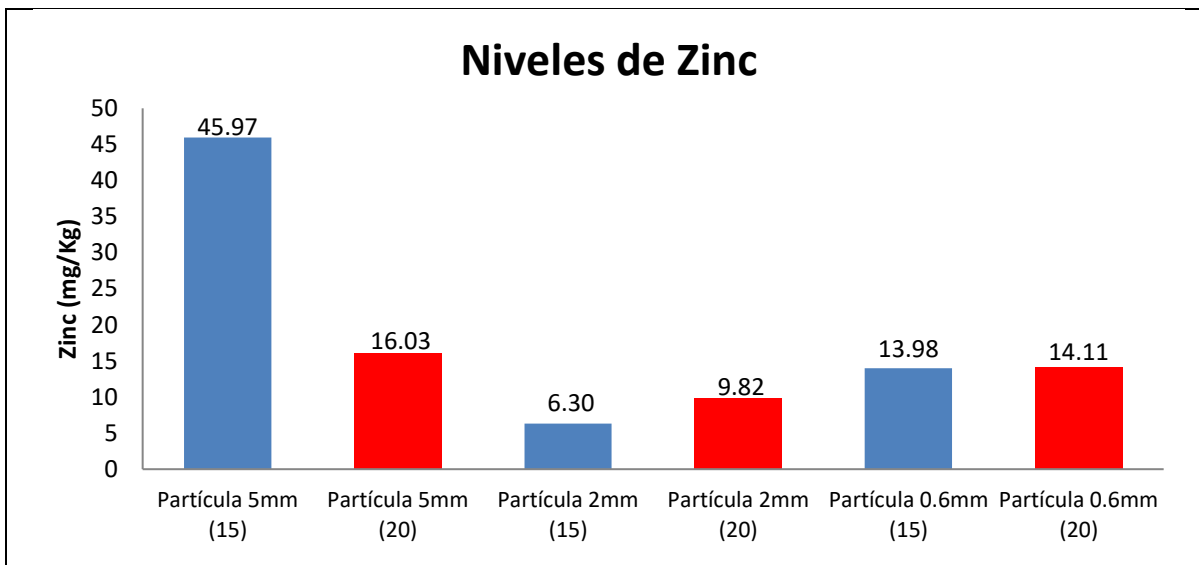


Figura 26. Concentración de zinc en el digestato.

Se observa en la Figura 27 las concentraciones del análisis de arsénico para los diferentes digestatos, las concentraciones claramente están por encima de los límites establecidos por la NTEA-006-SMA-RS-2006, pero si se compara contra la NOM-004-SEMARNAT-2002 los valores se encuentran por debajo de los límites establecidos (entre 18.96 – 30.13 mg/Kg, respectivamente) por lo cual se podría llevar a un sitio de disposición final. No obstante, este elemento no se considera esencial debido a su toxicidad. Sin embargo, este se encuentra de manera variable en las frondas, tallos y vesículas del sargazo ya que sus grupos funcionales capturan el metal en su paso por el océano (Océanne-Amaya et al., 2022). Debido a que el digestato tiene arsénico se requiere de tratamientos que eliminen el metal antes de analizar sus posibles aplicaciones. (Los datos fueron verificados con un control interno de 0.5 ppm).

Limite permisible: NTEA-006-SMA-RS-2006: 5 mg/kg  
 Limite permisible: NOM-004-SEMARNAT-2002: 41 – 75 mg/kg

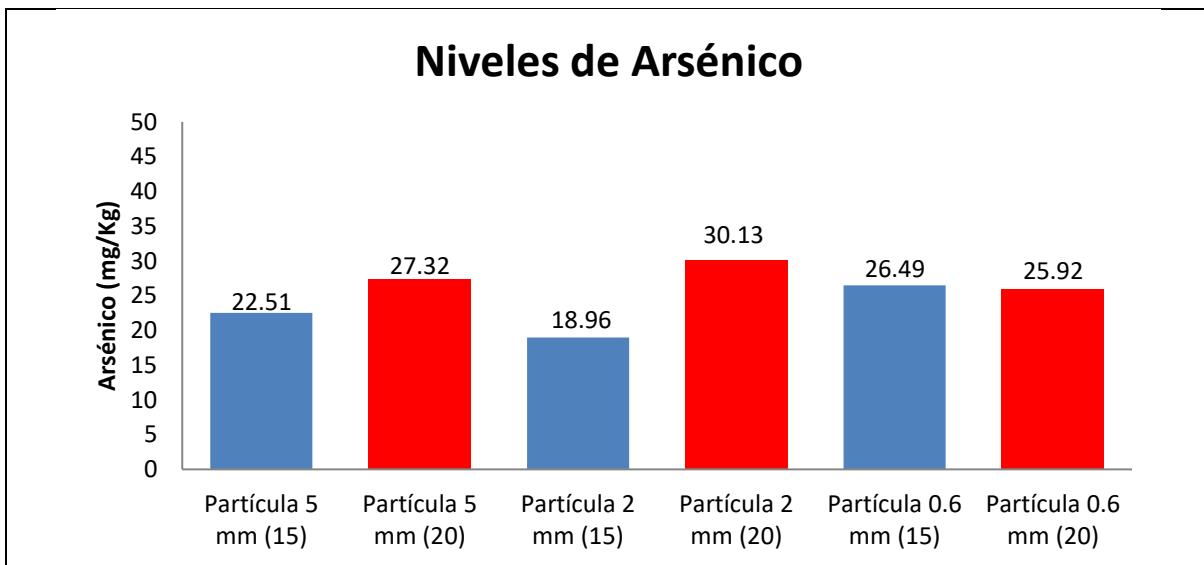


Figura 27. Concentración de Arsénico en el digestato.

### **7.16 Bioensayos de fitotoxicidad**

La evaluación del IG se llevó a cabo para identificar la fitotoxicidad residual del digestato seleccionado en este caso fue la partícula de 2 mm a diferentes concentraciones (20, 40, 60, 80 y 100%) para la germinación de semillas de pasto navajita durante un lapso de 3 días. La Figura 28 muestra el acomodo de las semillas en las cajas de Petri y su control. La Figura 29 muestra el porcentaje de germinación a diferentes concentraciones de una solución madre de digestato sólido diluido en agua destilada. Se observa que los tratamientos de 20 y 40% de digestato están por debajo del 60% indicando alta toxicidad, mientras que los tratamientos con 60, 80 y 100% muestran porcentajes de germinación por encima del 60% indicando que existe nula a baja toxicidad, sin embargo, la germinación depende de la humedad y la imbibición de las semillas y los elementos que existan (sales, SV, metales) en la solución acuosa (Cucina et al, 2021; Solé-Bundó et al., 2017). Anteriormente se determinó la presencia de metales pesados detectando la presencia de zinc y arsénico estos metales podría estar influyendo en el estrés de las semillas permitiendo que en altas concentraciones de la solución de digestato los índices sean más altos comparado con la solución diluida, pero existe la posibilidad de que a pesar de tener alto porcentaje de germinación no asegura la sobrevivencia de las semillas o el desarrollo de las plántulas.



Figura 28. Germinación de *B. gracilis* en caja Petri con diferentes concentraciones de digestato.

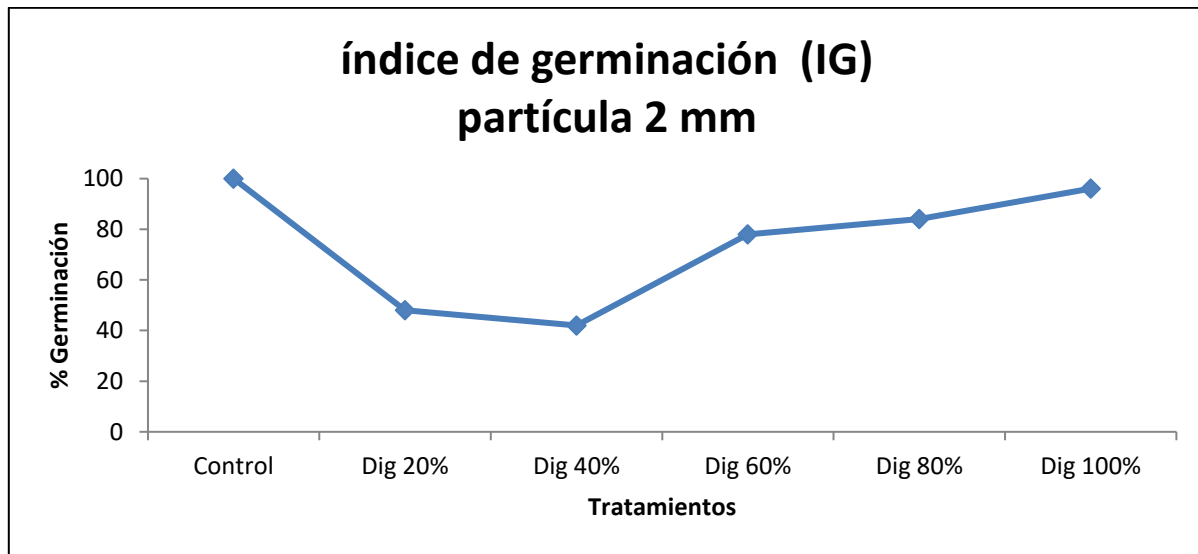


Figura 29. Índice de germinación de *B. gracilis* en diferentes concentraciones de digestato partícula de 2 mm.

### 7.17 Huella de carbono

La Figura 30 muestra los escenarios del impacto ambiental en toneladas de emisiones de CO<sub>2</sub> calculado a partir del Software Open LCA. El escenario 1 indica el impacto generado por la recolecta, transporte y disposición del sargazo sin un tratamiento de DA, en este caso, ocurre una descomposición en el sitio de confinamiento, se observa que el total de emisiones en este escenario es de aproximadamente 1 030 790 Ton CO<sub>2</sub> eq, se observa que el mayor aporte se debe a la generación de metano liberado a la atmosfera generando una huella de carbono de hasta 980 700 Ton CO<sub>2</sub> eq. El escenario 2 indica el impacto generado por la recolecta, transporte y aprovechamiento del sargazo en un proceso de DA donde las emisiones que genera el metano no son liberadas a la atmosfera de forma directa y se consideran negativas, por lo que al ser procesados en turbinas para producir electricidad produce un total de 73.22 Ton CO<sub>2</sub> eq. Disminuyendo el total de emisiones a un valor de 80, 445 Ton CO<sub>2</sub> eq.

De acuerdo a los objetivos planteados en esta investigación el plantear un sistema “close the loop” el escenario dos propone la implementación de la DA como una opción para valorizar el sargazo mediante la recuperación de productos como biogás y digestatos, esto permitiría que se dejaran de emitir aproximadamente el 92.19% de Ton de CO<sub>2</sub>, esto permitiría disminuir los efectos negativos propiciados por el calentamiento global.

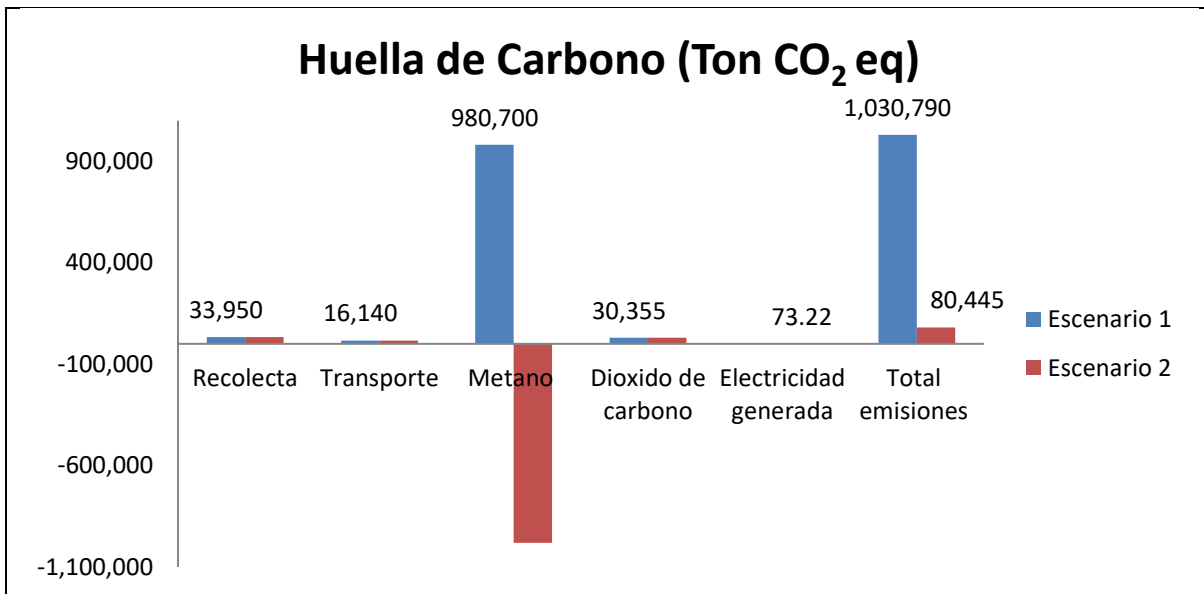


Figura 30. Escenarios del impacto en cambio climático por emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmosfera.

## 8 Conclusiones

El implementar sistemas “close the loop” en el sargazo es posible, porque los resultados indican que se puede generar biogás con un potencial de metano aceptable, además la caracterización de los digestatos de manera general muestran que poseen los elementos necesarios para ser valorizado, la única limitante que se debe atender es debido a niveles de arsénico presentes en los digestatos, que a pesar de no ser extremadamente altos existe riesgo de toxicidad.

Las propiedades fisicoquímicas de la materia prima indican que posee los macro y micronutrientes para ser biodegradado por los microorganismos en procesos de DA.

El diseño de los reactores con diferente tamaño de partícula permitió la DA durante un lapso de tiempo de 30 días, con acumulación de biogás y sin inhibición del proceso. El ajuste a una relación C/N de 15 da un mejor rendimiento en la generación de biogás en las condiciones de operación de esta investigación.

Se demostró la influencia de tamizar el sargazo a diferente tamaño de partícula las pruebas por triplicado confirmaron que en una relación C/N= 15 y una partícula de 2 mm generó hasta **1763 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV** y para una partícula de 5 mm se generan hasta **1440 cm<sup>3</sup> de biogás/gSV**.

El análisis estadístico confirmó que la partícula de 2 mm. Ajustada a una relación C/N 15 a temperatura de  $36.5 \pm 5$  acumula la mayor cantidad de biogás.

El cálculo del potencial de metanización (PBM) teórico, a través de análisis elemental de los sustratos e inóculo, resultó ser una herramienta que permitió identificar la viabilidad de generar metano, a través de la digestión y co-digestión anaerobia.

El cálculo del potencial bioquímico de metano (PBM) experimental indicó una metanización máxima 92.62 mL CH<sub>4</sub>/ gSV esto se determinó en reactores con tamaño de partícula de 2 mm y una relación C/N de 15, además, se logró acumular un total de 1401.03 mL de CH<sub>4</sub> en un lapso de 35 días.

La presencia de H<sub>2</sub>S al inicio de la DA no afectó las condiciones internas de los digestores, debido a que se logró estabilizar luego unas semanas generando CH<sub>4</sub>. Esto indica que existe una competencia entre las comunidades microbianas del inóculo y tienen la capacidad de tomar el sargazo como sustrato y a partir de este metabolismo se puede obtener biogás para valorizarlo.

Existe relación directa entre la calidad de los digestatos y los diseños del tratamiento de digestión anaerobia. Se encontró que la biodegradación del carbono es mayor en reactores ajustados a relaciones C/N=15 existiendo relación entre la degradación de carbono y la generación de gases como CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>. Sin embargo, la degradación de Sólidos volátiles es mayor en los reactores con relación C/N de 20 y existe menor porcentaje de SV en los digestatos de esta misma relación.

El digestato recuperado de la producción de biogás de sargazo es rico en nutrientes como C, N, K y P. Se encontró Zn en los metales pesados analizados al digestato sin embargo, los valores no sobrepasan los límites permisibles e incluso podría ser considerado un micronutriente para el suelo. Por otra parte, se encontraron niveles altos en el contenido de As lo que limitaría su utilidad en campos agrícolas y su aplicación directa en suelo sin un tratamiento adicional.

La DA se puede considerar un proceso biotecnológico que modifica la toxicidad debido a que los índices de germinación indican que las concentraciones de 20 y 40% muestran alta toxicidad y las concentraciones de digestato de 60, 80 y 100% indican moderada a baja toxicidad por lo que se concluye que las semillas sufren un estrés que les permite germinar debido a las características de los digestatos.

A partir de la base del inventario que se creó en el software Open LCA el análisis de ciclo de vida concluye que la recolección, el transporte y la disposición del sargazo generan un impacto ambiental negativo, siendo actividades que ya se realizan y que la disposición del sargazo es en depósitos al aire libre donde igualmente se degrada por actividad microbiana se debería considerar el implementar la DA como alternativa biotecnológica permitiendo el flujo de productos en un modelo circular de aprovechamiento permitiendo la disminución de los impactos ambientales debido a las emisiones generadas.

## **9 Recomendaciones**

Evaluar métodos de desulfuración o filtración del H<sub>2</sub>S para purificar lo más posible el metano obtenido de la generación de biogás.

Aplicar agitación a los reactores anaerobios para la circulación de las partículas y asegurar que se homogenicen con el inóculo.

Emplear metodologías para la recuperación de elementos o nutrientes de interés a partir del digestato.

Realizar pre-tratamientos al digestato para eliminar los metales pesados que puedan limitar sus aplicaciones.



## 10 Referencias.

Acosta L., Obaya Y., Ma. C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, XXXIX (1), 35-48. [Fecha de Consulta 22 de Junio de 2021]. ISSN: 0138-6204. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>

Akila V. Manikandan A. Sukeetha D.S. Balakrishnan S. Ayyasamy P.M. Rajakumar S. (2019). Biogas and biofertilizer production of marine macroalgae: An effective anaerobic digestion of *Ulva* sp., Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Volume 18, 101035, ISSN 1878-8181, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101035>.

Alzate-Gaviria, L.; Domínguez-Maldonado, J.; Chablé-Villacís, R.; Olguin-Maciél, E.; Leal-Bautista, R.M.; Canché-Escamilla, G.; Caballero- Vázquez, A.; Hernández-Zepeda, C.; Barredo-Pool, F.A.; Tapia-Tussell, R. (2021). Presence of Polyphenols Complex Aromatic “Lignin” in *Sargassum* spp. From Mexican Caribbean. *J. Mar. Sci. Eng.*, 9, 6. <https://dx.doi.org/10.3390/jmse9010006>

Alzate A., González-Manosalva C. E., Gutiérrez-Cano J. L., & Juan C. (2020). Análisis del ciclo de vida y cálculo de la huella de Carbono para un proceso de reciclaje de botellas PET en Medellín (ANT).. *Producción + Limpia*, 15(1), 7-24. Epub November 16, 2020. <https://doi.org/10.22507/pml.v15n1a1>

Angouria-Tsorochidou E., Segheta M., Trémier A., Thomsen M. (2022). Life cycle assessment of digestate post-treatment and utilization, *Science of The Total Environment*, Volume 815, 152764, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152764>.

Boulangier A., Pinet E., Bouix M., Bouchez T., Mansour A. A., (2012). Effect of inoculum to substrate ratio (I/S) on municipal solid waste anaerobic degradation kinetics and potential, *Waste Management*, Volume 32, Issue 12, Pages 2258-2265, ISSN 0956-053X, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.07.024>.

Océanne-Amaya C., Gigault J., Dassié É. P., Baudrimont M., Gourves P., Amaral-Zettler L., Pascal P. (2022). Metals and metalloids concentrations in three genotypes of pelagic *Sargassum* from the Atlantic Ocean Basin-scale, *Marine Pollution Bulletin*, Volume 178, 113564, ISSN 0025-326X, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113564>.

Corrales, L. C., Antolinez R., Diana M., Bohórquez M., Johanna A., & Corredor Vargas, A. M. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, 13(24), 55-81. Retrieved June 22,

2021, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702015000200007&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702015000200007&lng=en&tlng=es).

Cucina M., Castro L., Escalante H., Ferrer I., Garfí M. (2021). Benefits and risks of agricultural reuse of digestates from plastic tubular digesters in Colombia, *Waste Management*, Volume 135, Pages 220-228, ISSN 0956-053X, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.09.003>.

Dreckmann, Kurt M. Sentíes, Abel, & (2014). Biodiversidad de las macroalgas marinas de la familia Rhodomelaceae (Rhodophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85 ,62-68.[fecha de Consulta 27 de abril de 2021]. ISSN: 1870-3453.

Espinosa, L. y Li Ng, J., (2020) El riesgo del sargazo para la economía de Quintana Roo y México, Quintana Roo, BBVA.

Ezemagu I.G., Ejimofor M.I., Menkiti M.C., Diyoke C. (2021). Biofertilizer production via composting of digestate obtained from anaerobic digestion of post biocoagulation sludge blended with saw dust: Physiochemical characterization and kinetic study, *Environmental Challenges*, Volume 5, 100288, ISSN 2667-0100, <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100288>.

Farghali M., AP Y., Mohamed I. M.A., Iwasaki M., Tangtaweewipat S., Ihara I., Sakai R., Umetsu K. (2021). Thermophilic anaerobic digestion of *Sargassum fulvellum* macroalgae: Biomass valorization and biogas optimization under different pre-treatment conditions, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Volume 9, Issue 6, 106405, ISSN 2213-3437, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106405>.

García-Sánchez R, Monroy-Ata A. (2005). Micrositios del pasto navajita (*Bouteloua gracilis*) en comunidades de pastizal y de matorral del Altiplano Mexicano. *TIP Rev Esp Cienc Quim Biol*. Volumen 8(2):61-70.

Gamarra L., Cynthia C., Díaz L., Maura I., Vera de Ortíz, M., Galeano Ma., & Cabrera C., Antero J. N. (2018). Relación carbono-nitrógeno en suelos de sistemas silvopastoriles del Chaco paraguayo. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 9(46), 4-26. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i46.134>

Hahladakis, J. N., et al. (2020). Chapter 19 - Plastic waste in a circular economy. pp. 481–512.

Jin K., Pezzuolo A., Gouda S. G., Jia S., Eraky M., Yi R., Chen M., Ai P. (2022). Valorization of bio-fertilizer from anaerobic digestate through ammonia stripping process: A practical and sustainable approach towards circular economy, *Environmental Technology & Innovation*, Volume 27102414, ISSN 2352-1864, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102414>.

Jørgensen S., et al., 2018, *RESTART Sustainable Business Model Innovation*, pp. 103–120.

Kayhanian M. (1999). Ammonia inhibition in high-solids biogasification: an overview and practical solutions *Environ. Technol.* Volume 20 pp. 355-365.

Kumar A. M., Yan B., Sar T., Gómez-García R., Ren L., Sharma P., Binod P., Sindhu R., Kumar V., Kumar D., Mohamed B. A., Zhang Z., Taherzadeh M. J. (2022). Organic waste recycling for carbon smart circular bioeconomy and sustainable development: A review, *Bioresource Technology*, Volume 360, 127620, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127620>.

Lamolnara B., Pérez-Martínez A., Guardado-Yordi E., Guillén Fiallos C., Diéguez-Santana K., Ruiz-Mercado G. J., (2022). Anaerobic digestate management, environmental impacts, and techno-economic challenges, *Waste Management*, Volume 140, Pages 14-30, ISSN 0956-053X, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.12.035>.

Li C., Champagne P., Anderson B. C. (2011). Evaluating and modeling biogas production from municipal fat, oil, and grease and synthetic kitchen waste in anaerobic co-digestions, *Bioresource Technology*, Volume 102, Issue 20, Pages 9471-9480, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.103>.

Li Y., Park S.Y., Zhu J. (2011). Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste *Renew. Sustainable Energy Rev.*, Volume 15 pp. 821-826.

Liu H., Li X., Zhang Z., Nghiem L. D., Gao L., Wang Q. (2021). Semi-continuous anaerobic digestion of secondary sludge with free ammonia pretreatment: Focusing on volatile solids destruction, dewaterability, pathogen removal and its implications, *Water Research*, Volume 202, 117481, ISSN 0043-1354, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117481>.

Liu S., Wang W., Lu H., Shu Q., Zhang Y., Chen Q., (2022). New perspectives on physiological, biochemical and bioactive components during germination of edible seeds: A review, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 123, Pages 187-197, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.029>.

Lopez J., Ramirez B. Et al. (2018). Guía técnica para el manejo y aprovechamiento de biogás en plantas de tratamiento de aguas residuales. Recuperado el: 15/04/2021, de SENER, SEMARNAT Sitio web: <https://www.gob.mx>

Malone R., Pearce S. L., & Peterson J. (2017). Environmental toxicology of hydrogen sulfide. *Nitric Oxide*, 71, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.09.011>

Maneein S., Milledge J. J., Harvey P. J., Nielsen B. V. (2021). Methane production from *Sargassum muticum*: effects of seasonality and of freshwater washes, *Energy and Built Environment*, Volume 2, Issue 3, Pages 235-242, ISSN 2666-1233, <https://doi.org/10.1016/j.enbenv.2020.06.011>.

Mantilla G., Sandoval L. et al. (2017). Energía limpia del agua sucia: aprovechamiento de lodos residuales. Recuperado el: 10/04/2021, de Instituto Mexicano Tecnológica del agua Sitio web: <https://www.imta.gob.mx>

Méndez S., Marco A., Laines C., José R., Sosa O., José A., & Escalante Espinosa, E. (2017). Producción de biogás mediante codigestión anaerobia de excretas de borrego y rumen adicionadas con lodos procedentes de una planta de aguas residuales. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(1), 109-116. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.01.10>

Mickan B. S., Ren A., Buhlmann C. H., Ghadouani A., Solaiman Z. M., Jenkins S., Pang J., Ryan M. H., (2022). Closing the circle for urban food waste anaerobic digestion: The use of digestate and biochar on plant growth in potting soil, *Journal of Cleaner Production*, Volume 347, 131071, ISSN 0959-6526, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131071>.

Morales Nieto C., Madrid Pérez L., Melgoza Castillo A., Martínez Salvador M., Arévalo Gallegos S., Rascón Cruz Q., Jurado Guerra P. (2009). Análisis morfológico de la diversidad del pasto navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], en Chihuahua, México. *Técnica Pecuaria en México*, 47(3),245-256.[fecha de Consulta 8 de Diciembre de 2021]. ISSN: 0040-1889. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61312111002>

Moro Flores J. P., Aquino Alves L., de Oliveira Denardin L. G., Posselt Martins A., Campanhola B. E., Vasconcellos I. A., de Faccio Carvalho P. C., Tiecher T. (2021). Soil K forms and K budget in integrated crop-livestock systems in subtropical paddy fields, *Soil and Tillage Research*, Volume 213, 105070, ISSN 0167-1987, <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105070>.

Nkemka, V. N., & Murto, M. (2010). Evaluation of biogas production from seaweed in batch tests and in UASB reactors combined with the removal of heavy metals. *Journal of environmental management*, 91(7), 1573-1579.

Optical Oceanography Lab. (2019). Satellite-based Sargassum Watch System (SaWS). Recuperado el 10 de abril de 2021, a partir de <https://optics.marine.usf.edu>

Ortega-Flores P. A., Serviere-Zaragoza E., De Anda-Montañez J. A., Freile-Pelegrín Y., Robledo D., Méndez-Rodríguez L. C. (2022). Trace elements in pelagic Sargassum species in the Mexican Caribbean: Identification of key variables affecting arsenic accumulation in *S. fluitans*, *Science of The Total Environment*, Volume 806, Part 2, 150657, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150657>.

Owamah H.I., Ikpeseni S.C., Alfa M.I., Oyebisi S. Gopikumar O., Olusegun S., S.C. Ilabor David Samuel. (2021). Influence of inoculum/substrate ratio on biogas yield and kinetics from the anaerobic co-digestion of food waste and maize husk, *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, Volume 16, 100558, ISSN 2215-1532, <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100558>.

Parra Huertas, R. A. (2015). Digestión anaeróbica: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción + Limpia*, 10(2), 142-159. Retrieved June 22, 2021, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1909-04552015000200014&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000200014&lng=en&tlng=es).

Peng Y., Hu J., Yang B., Lin X.-P., Zhou X.-F., X.-W. Yang. (2015). Chemical composition of seaweeds B.K. Tiwari, D.J. Troy (Eds.), *Seaweed Sustainability*, Academic Press, San Diego, CA, USA pp. 79-124, doi:10.1016/B978-0-12-418697-2.00005-2

Pikaar, I., Likosova, E. M., Freguia, S., Keller, J., Rabaey, K., & Yuan, Z. (2014). *Electrochemical Abatement of Hydrogen Sulfide from Waste Streams. Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(14), 1555–1578. doi:10.1080/10643389.2014.966419

Reyes Aguilera, E. A. (2016). Producción de biogas a partir de Biomasa. *Revista Científica De FAREM-Estelí*, (17), 11–22. <https://doi.org/10.5377/farem.v0i17.2610>

Roberta S., Gioacchino P., Biagio P., Riccardo V. (2021). Factors influencing farmers' decision to enter digestate market, *Journal of Cleaner Production*, Volume 321, 128961, ISSN 0959-6526, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128961>.

Romero H.I., Vega C.A., Zuma J.D., Pesantez F.F., Camacho A.G., Redrovan F.F. (2020). Comparison of the methane potential obtained by anaerobic codigestion of urban solid waste and lignocellulosic biomass, *Energy Reports*, Volume 6, Supplement 1, Pages 776-780, ISSN 2352-4847, <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2019.10.013>.

Roque-Sanchez, M. Oscco, R. Suarez-Rios, J. (2017). Aportación al conocimiento de las macroalgas del litoral costero de la reserva Nacional San Fernando. *Rev. Aqua TIC* 47, 1-9. ISSN 1578-4541.

Samoraj M., Mironiuk M., Izydorczyk G., Witek-Krowiak A., Szopa D., Moustakas K., Chojnacka K. (2022). The challenges and perspectives for anaerobic digestion of animal waste and fertilizer application of the digestate, *Chemosphere*, Volume 295, 133799, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133799>.

Secretaría de Energía, Balance Nacional de Energía 2009, 2018, México.

SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Fecha de publicación 10 de enero de 2017. <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/residuos-solidos-urbanos-rsu>. Consultado el 10 de diciembre de 2021.

Shah F. A., Mahmood Q., Rashid N., Pervez A., Ahmad R. I., Maroof Shah M. (2015). Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 42, Pages 627-642, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.053>.

Slopiecka K., Liberti F., Massoli S., Bartocci P., Fantozzi F., (2022). Chemical and physical characterization of food waste to improve its use in anaerobic digestion plants, *Energy Nexus*, Volume 5, 100049, ISSN 2772-4271, <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100049>.

Solé-Bundó M., Passos F., Romero-Güiza M. S., Ferrer I., Astals S. (2019). Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 112, Pages 471-482, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.05.036>.

Song M., Pham H.D., Seon J., Woo H.C. (2015). Marine brown algae: a conundrum answer for sustainable biofuels production *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 50 pp. 782-792, DOI: 10.1016/j.rser.2015.05.021



Stegmann P., Londo M., Junginger M. (2020). The circular bioeconomy: Its elements and role in European bioeconomy clusters, *Resources, Conservation & Recycling*: X, Volume 6, 100029, ISSN 2590-289X, <https://doi.org/10.1016/j.rcrx.2019.100029>.

Thompson T.M., Young B.R., Baroutian S. (2019). Advances in the pretreatment of brown macroalgae for biogas production *Fuel Process. Technol.*, 195 p. 106151, DOI: 10.1016/j.fuproc.2019.106151

Thompson T. M., Young B. R., Baroutian S. (2021). Enhancing biogas production from caribbean pelagic *Sargassum* utilising hydrothermal pretreatment and anaerobic co-digestion with food waste, *Chemosphere*, Volume 275, 130035, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130035>

Thompson, T. M., Young, B. R., & Baroutian, S. (2020). Pelagic *Sargassum* for energy and fertiliser production in the Caribbean: A case study on Barbados. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 118, 109564

Toral, J & Valdivieso, I. (2021). Biodigestores, alternativa para las unidades de producción ganaderas campesinas. Recuperado el (28/06/2021), de Conacyt Sitio web: <https://centrosconacyt.mx>

Uribe-Martínez, A., Guzmán-Ramírez, A., Arreguín-Sánchez, F., & Cuevas, E. (2020). El sargazo en el Caribe mexicano, revisión de una historia impensable. *Gobernanza y Manejo de las Costas y Mares ante la Incertidumbre*;Eds, 743-768.

Vázquez-Delfín E., Freile-Pelegrín Y., Salazar-Garibay A., Serviere-Zaragoza E., Méndez-Rodríguez L. C., Robledo D. (2021) Species composition and chemical characterization of *Sargassum* influx at six different locations along the Mexican Caribbean coast, *Science of The Total Environment*, Volume 795, 148852, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148852>.

Vergara-Fernández A., Vargas G., Alarcón N., Velasco A., (2008). Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system, *Biomass and Bioenergy*, Volume 32, Issue 4, Pages 338-344, ISSN 0961-9534, <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2007.10.005>.

Ventura Spagnolo, E., Romano, G., Zuccarello, P., Laudani, A., Mondello, C., Argo, A., ... Barbera, N. (2019). Toxicological investigations in a fatal and non-fatal accident due to hydrogen sulphide (H<sub>2</sub>S) poisoning. *Forensic Science International*, 300, e4–e8. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.04.026>

Vijayakumar P., Ayyadurai S., Kantha D. A., Gaurav M., Wei-Hsin C., Joon Ching J., Salman Raza N. (2022). Current technologies of biochemical conversion of food waste into biogas production: A review, *Fuel*, Volume 323, 124321, ISSN 0016-2361, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124321>.

Vilchis M. I., Dreckmann K. M., García-Trejo E. A., Hernández O. E., & Senties, A.. (2018). Patrones de distribución de las grandes macroalgas en el golfo de México y el Caribe mexicano: una contribución a la biología de la conservación. *Revista mexicana de biodiversidad*, 89(1), 183-192. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.1.2226>

Wang, H., Larson, R. A., & Runge, T. (2019). Impacts to hydrogen sulfide concentrations in biogas when poplar wood chips, steam treated wood chips, and biochar are added to manure-based anaerobic digestion systems. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100232. <https://doi.org/10.1016/J.BITEB.2019.100232>

Xu D., Bing Fu R., (2022). Mechanistic insight into the release behavior of arsenic (As) based on its geochemical fractions in the contaminated soils around lead/zinc (Pb/Zn) smelters, *Journal of Cleaner Production*, Volume 363, 132348, ISSN 0959-6526, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132348>.

Yan Z., Song Z., Li D., Yuan Y., Liu X., Zheng T. (2015). The effects of initial substrate concentration, C/N ratio, and temperature on solid-state anaerobic digestion from composting rice straw, *Bioresource Technology*, Volume 177, Pages 266-273, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.089>.

Zeshan, Karthikeyan OP, Visvanathan C. (2012). Effect of C/N ratio and ammonia-N accumulation in a pilot-scale thermophilic dry anaerobic digester. *Bioresour Technol.* Jun; 113:294-302. <https://doi:10.1016/j.biortech.2012.02.028>.

Zhou Y., Tang Y., Hu C., Zhan T., Zhang S., Cai M., Zhao X. (2021). Soil applied Ca, Mg and B altered phyllosphere and rhizosphere bacterial microbiome and reduced Huanglongbing incidence in Gannan Navel Orange, *Science of The Total Environment*, Volume 791, 148046, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148046>.



## 11 Anexos.



Figura 31.- (a) Medidor de presión por medio de sensor. (b) equipo de cromatografía INFICON micro GC fusión.

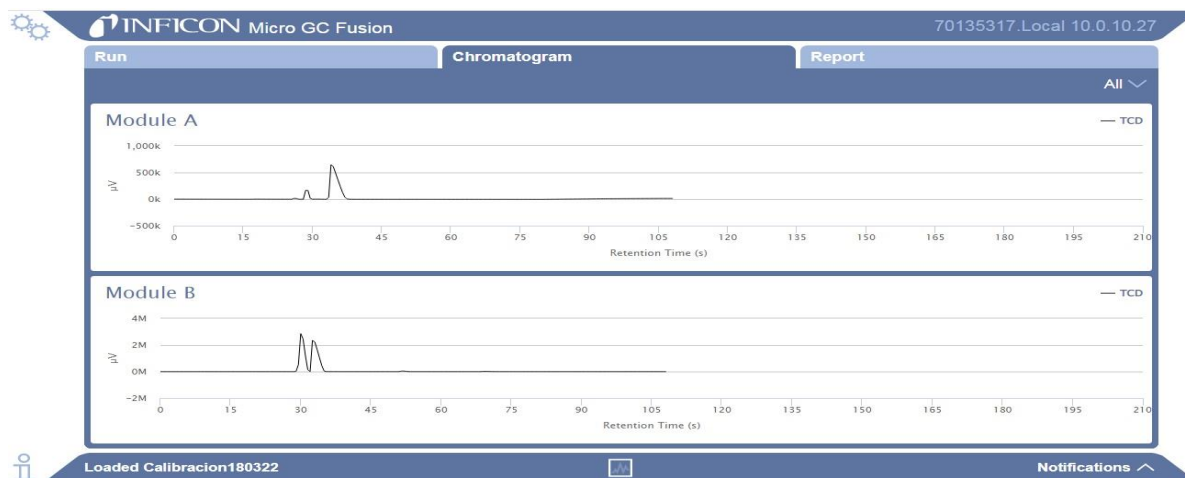


Figura 32.- Cromatograma indicando las lecturas de biogás

Compound	RT (s)	Area (μVs)	Height (μV)	Concentration mole %
<b>DS2.2 - Module A:TCD - Jul 20 2022, 11:37</b>				
O2	26.26	1543	3754	-
N2	29.02	41608	89461	-
-	31.96	314	363	-
CH4	33.76	1457545	792316	70.0496
<b>DS2.2 - Module B:TCD - Jul 20 2022, 11:37</b>				
-	29.55	83059	282481	-
-	29.95	2693643	3383545	-
CO2	32.88	1997136	2032895	33.4224
H2S	51.66	29824	36089	0.4728
-	68.86	36770	22157	-
-	206.12	434	200	-

Figura 33.- Lecturas de concentración en INFICON micro GC Fusión.

Modelos de regresión para obtener volúmenes iniciales y calcular potencial bioquímico de metano y volumen de CH<sub>4</sub>.

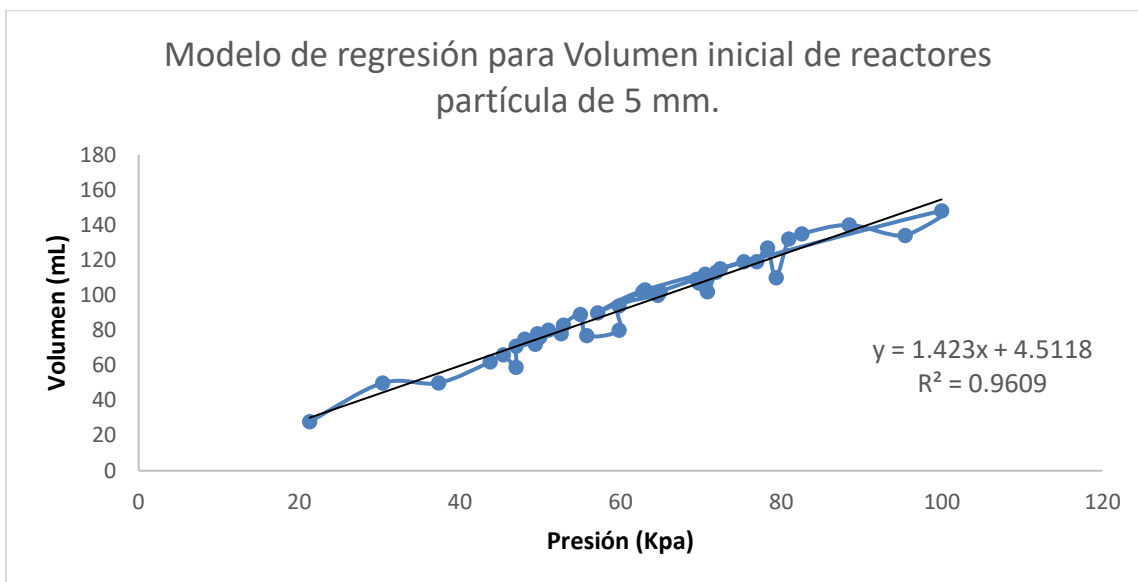


Figura 34.- Regresión y ecuación lineal para volumen inicial en reactores con partícula de 5 mm.

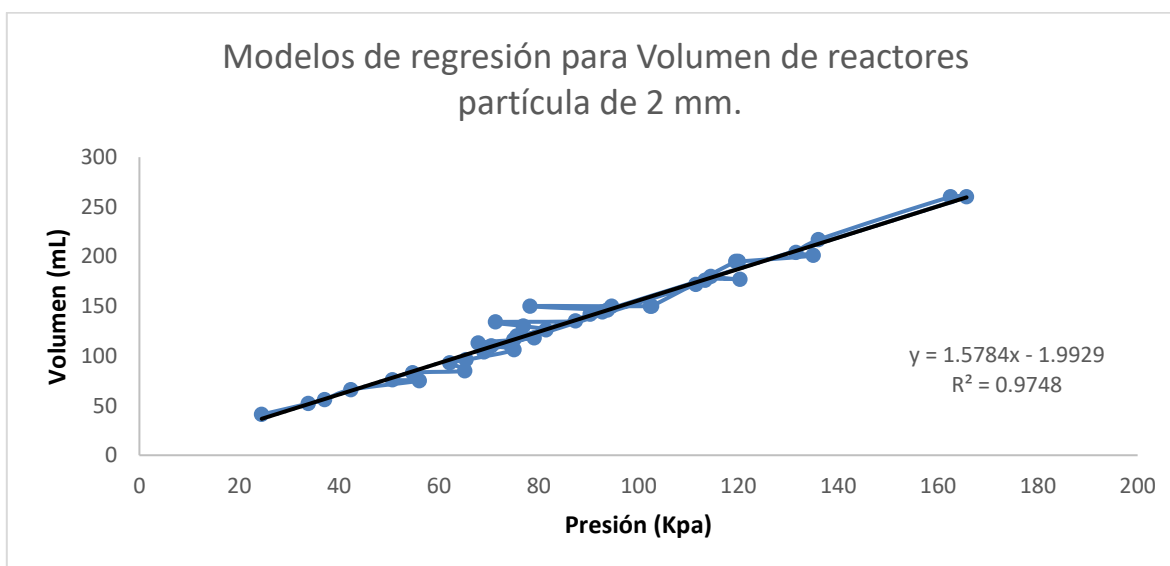


Figura 35.- Regresión y ecuación lineal para volumen inicial en reactores con partícula de 2 mm.