



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



**VALORIZACIÓN DE RESIDUOS DE *Agave salmiana* PARA OBTENER
MEJORADORES DE SUELO EN UN ESQUEMA DE ECONOMÍA CIRCULAR**

PROYECTO DE TITULACIÓN PRESENTADO POR:
JESÚS ALBERTO MARTÍNEZ ORTIZ

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

DIRIGIDO POR:
DRA. ROSA ICELA BELTRÁN HERNÁNDEZ

Mineral de la Reforma, Hidalgo

...

Dedicatorias

A mis amados padres, quienes con su amor incondicional, sacrificios y enseñanzas me han dado la fuerza para superar cada obstáculo. Gracias por ser mi guía, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, y por darme las herramientas para seguir siempre adelante.

A mi hermano Ángel, quien siempre ha sido mi ejemplo a seguir. Tu dedicación, esfuerzo y valentía me han motivado a ser mejor cada día. Gracias por mostrarme, con tu vida, lo que significa nunca rendirse.

A mi querida hermana Brenda, quien siempre ha estado a mi lado, brindándome su apoyo y sabios consejos en cada momento. Tu amor me ha dado la fortaleza para seguir adelante, este logro es también tuyo.

A mis cuñados, Lucía y Raúl, por su apoyo incondicional y por siempre estar presentes en los momentos más importantes. Gracias por su cariño. Me siento afortunado de tenerlos en mi vida.

A Odell, el hijo más increíble del mundo, por ser mi mayor fuente de inspiración y la razón por la que me esfuerzo cada día. Tu amor, alegría y valentía me han dado la fuerza para alcanzar esta meta. Esta tesis es un pequeño reflejo del compromiso que aprendí gracias a tí.

A los Dres., Icela, Claudia, Ere, Carlos y Pablo, por su guía invaluable, paciencia y dedicación a lo largo de este proceso. Su conocimiento y experiencia no solo me ayudaron a culminar este trabajo, sino que también me enseñaron a crecer profesional y personalmente. Gracias por confiar en mí y por impulsarme a dar siempre lo mejor.

Su apoyo ha sido fundamental para alcanzar esta meta.

"No somos ahora esa fuerza que en los viejos tiempos movió la tierra y el cielo, lo que somos, somos. Un temperamento igual de heroico de corazones, debilitados por el tiempo y el destino, pero fuertes en voluntad. Para luchar, para buscar, para encontrar y no rendirse."

Tennyson

"Si no puedes volar, corre. Si no puedes correr, camina. Si no puedes caminar, gatea. Pero hagas lo que hagas, sigue avanzando."

Martín Luther King Jr.

"Haz de tu vida una historia que valga la pena contar"

El libro de la vida.

Índice

RESUMEN	1
<i>ABSTRACT</i>	2
<i>CAPÍTULO 1</i>	2
Introducción.....	3
<i>CAPÍTULO 2</i>	6
Marco Teórico	6
2.1 La biomasa	6
2.2 Agave salmiana	8
2.3 Digestión anaerobia.....	10
2.4 El biochar	11
2.5 Fitohormonas.....	12
2.6 Economía circular	13
<i>CAPÍTULO 3</i>	16
Antecedentes.....	16
3.1 Agave salmiana.....	16
3.2 Biogás	16
3.3 Tratamientos térmicos de la biomasa.....	19
3.4 Biochar	22
3.5 Fitohormonas	26
<i>CAPÍTULO 4</i>	31
Planteamiento del Problema	31
Justificación	31
<i>CAPÍTULO 5</i>	33
Objetivo general	33

Objetivos específicos	33
Hipótesis	33
<i>CAPÍTULO 6</i>	34
Diseño Experimental de la Investigación	34
<i>CAPÍTULO 7</i>	35
Evaluación Teórica del Potencial Energético de los Residuos de <i>A. salmiana</i>	35
7.1 Caracterización fisicoquímica de los residuos de <i>A. salmiana</i> y de las excretas de conejo	35
7.2 Resultados y discusión.....	35
7.3 Producción teórica de biogás	38
7.4 Resultados y discusión.....	41
7.5 Simulación para las pruebas de biodegradabilidad.....	42
7.6 Pruebas de biodegradabilidad	47
7.7 Resultados y discusión.....	48
<i>CAPÍTULO 8</i>	51
Gasificación.....	51
8.1 Construcción del gasificador.....	51
8.2 Preparación de la biomasa para la obtención de biochar	53
8.3 Producción de Biochar	54
8.4 Caracterización fisicoquímica del biochar.....	56
8.5 Resultados y discusión.....	57
<i>CAPÍTULO 9</i>	66
9.1 Pruebas de inhibición de la germinación	66
9.2 Resultados y discusión.....	67
9.3 Métodos de cuantificación de fitohormonas.....	73

9.3.1	Extracción de fitohormonas	73
9.3.2	Determinación de la concentración de Ácido Indolacético	73
9.3.3	Determinación de la concentración de giberelinas	74
9.4	Resultados y discusión.....	74
9.5	Monitoreo de las propiedades físicas y químicas del suelo con respecto al tiempo	76
9.6	Resultados y discusión.....	77
9.7	Análisis microbiológico del suelo.....	78
9.8	Resultados y discusión.....	79
CONCLUSIONES.....		83
REFERENCIAS		85
ANEXO A. Técnicas de análisis para evaluar las características fisicoquímicas del A. salmiana y el Biochar.....		97
A.1	Determinación del contenido de humedad por gravimetría a través del método AS-05..	97
A.2	Determinación de pH y conductividad eléctrica	98
A.3	Determinación de nitrógeno total (NT).....	98
A.4	Determinación de carbono orgánico total (COT).....	99
A.5	Determinación de fósforo (P) extraíble (muestras neutras y ácidas).....	100
A.6	Determinación del fósforo extraíble en suelos neutros y ácidos.....	101
A.7	Determinación de metales	103
A.8	Determinación de DQO.....	103
A.9	Determinación de SST y SVT.....	104
A.10	Determinación de la capacidad de intercambio catiónico y bases intercambiables a través del método AS-12.....	105
A.11	Determinación de la capacidad de retención de agua	106
A.12	Concentración de auxinas.....	107
A.13	Concentración de giberelinas	108

Índice de Tabas

Tabla 1. Análisis bromatológico del bagazo de <i>A. salmiana</i>	10
Tabla 2. Composición del biogás derivado de distintas fuentes.	17
Tabla 3. Impurezas del biogás y sus posibles consecuencias.....	18
Tabla 4. Tecnologías de pirólisis y condiciones de proceso.	21
<i>Tabla 5. Clasificación internacional de biochar de acuerdo al contenido de COT.</i>	26
Tabla 6. Caracterización de los residuos de <i>A. salmiana</i> y excretas de conejo.	37
Tabla 7. Valores de <i>A. salmiana</i> y <i>O. heliabravoana</i> empleados en la evaluación de la TBMP.....	40
Tabla 8. Resumen de sustrato para la alimentación del biodigestor.	44
Tabla 9. Dimensiones del gasificador construido.	53
Tabla 10. Caracterización del biochar.....	60
Tabla 11. Efecto del biochar sobre el pH del suelo.....	68
Tabla 12. Datos generados durante los ensayos de germinación.....	69
Tabla 13. Resultados del análisis microbiológico.....	80

Índice de Figuras

Figura 1. Estructuras químicas de los constituyentes de la biomasa lignocelulósica. a) Estructura química de la celulosa; b) Ilustración esquemática de unidades de azúcar de hemicelulosas; c) Ilustración esquemática de unidades de construcción de lignina.....	7
Figura 2. Imagen de <i>Agave salmiana</i>	9
Figura 3. Proceso de digestión anaerobia.....	11
Figura 4. Movimientos ascendentes y descendentes de las hormonas vegetales.....	13
Figura 5. Estructura del ácido indol acético.	26
Figura 6. Auxinas naturales.....	27
Figura 7. Biosíntesis de AIA en platas.....	28
Figura 8. Estructura del ácido giberélico (AG_3).....	29
Figura 9. Datos obtenidos para el presupuesto en el software Biodigestor Pro (AquaLimpia, Argentina).....	45

Figura 10. Diseño de Biodigestor con Software Biodigestor Pro (AquaLimpia, Argentina).	46
Figura 11. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅) de los residuos de Agave salmiana: Evolución del Consumo de Oxígeno en 5 Días.....	48
Figura 12. a) <i>Esquema del interior del gasificador TLUD</i> https://www.aqsolutions.org/charcoal-biochar-water-treatment/ ; b) <i>Imagen del gasificador TLUD usado en la IIES-UNAM</i>	51
Figura 13. Partes del gasificador.....	52
Figura 14. Imágenes del gasificador TLUD completo (izquierda), corona y chimenea junto a la cámara de combustión con la tapa (centro) y cámara de combustión con los orificios inferiores (derecha).	53
Figura 15. Esquema de procesamiento de pencas en trozos y bagazo de A. salmiana. ...	54
Figura 16. Diagrama de las etapas experimentales para la producción del biochar.	55
Figura 17. Termopar utilizado para medir las temperaturas alcanzadas dentro del gasificador.....	56
Figura 18. Comportamiento de la temperatura durante la producción de biochar producido a partir de pencas de Agave secado al sol (ASS).....	57
Figura 19. . Comportamiento de la temperatura durante la producción de biochar producido a partir de pencas de Agave secado al horno (ASH).	58
Figura 20. Comportamiento de la temperatura durante la producción de biochar producido a partir de BSH.	58
Figura 21. Germinación de las plántulas de cebada con 0.4 % de biochar (BCH0.4, izquierda); con 0.2 % de biochar (BCH0.2, centro); y Control (derecha).	69
Figura 22. Porcentaje de germinación de. a) cebada b) maíz c) lechuga d) jitomate.....	70
Figura 23. Peso seco de los germinados. a) germinados de cebada b) germinados de maíz c) germinados de lechuga d) germinados de jitomate.....	72
Figura 24. Concentración de auxinas (AIA). a) germinados de cebada b) germinados de maíz c) germinados de lechuga d) germinados de jitomate.....	75
Figura 25. Concentración de giberelinas. a) germinados de cebada b) germinados de maíz c) germinados de lechuga d) germinados de jitomate.....	76
Figura 26. Gráficas de la CRA del suelo de los germinados: a) cebada y b) maíz.	77

Figura 27. Gráficas del pH del suelo de los germinados. a) cebada y b) maíz.77

RESUMEN

Dentro de los recursos renovables más importantes, se encuentra la biomasa vegetal. La obtención de mejoradores de suelo mediante tratamientos térmicos de la biomasa vegetal presente en regiones donde abundan suelos pobres en nutrientes, es una alternativa viable para mejorar la calidad de estos suelos. En este trabajo se evaluaron las características de un *biochar* obtenido mediante la gasificación de residuos de *Agave salmiana*, para determinar su idoneidad como mejorador de suelos. También se evaluó el potencial energético teórico de los residuos de *A. salmiana*. Una vez caracterizados los residuos, se diseñó y construyó un gasificador de flujo ascendente (*TLUD*, por sus siglas en inglés) con algunas modificaciones para controlar la entrada de aire. Para asegurar la no toxicidad del *biochar*, se evaluó su efecto sobre la germinación de semillas de maíz, cebada, jitomate y lechuga, determinando el porcentaje de germinación, altura de la plántula, peso seco y producción de fitohormonas (ácido indolacético y giberelinas). Además, se estudió el efecto del *biochar* a corto plazo sobre algunos grupos microbianos del suelo y a mediano plazo sobre el pH y la capacidad de retención de agua del suelo. Los resultados mostraron que *A. salmiana* contiene un elevado contenido de materia orgánica fácilmente biodegradable en condiciones aerobias, sin embargo también presenta contenido bajos de algunos nutrientes como N, K y Mn, y de metales tóxicos como Pb, Cd y Ni, aunque si crece en suelos contaminados con estos metales sí puede asimilarlos. El potencial teórico de *A. salmiana* para producir biogás fue menor al de otros sustratos, sin embargo a diferencia de algunos de estos, *A. salmiana* no compite con otros usos. El gasificador construido mostró un desempeño eficiente y las modificaciones realizadas permitieron regular la temperatura del proceso y finalizar la combustión de forma más fácil y segura. El *biochar* obtenido mostró características útiles como mejorador de los suelos propios de las zonas semiáridas, aunque puede ser acondicionado para aplicarlo a otros tipos de suelos mediante la corrección de su alcalinidad. En las pruebas de germinación, el *biochar* utilizado al 0.4% sobresalió al mejorar significativamente el porcentaje de germinación, el peso seco y la altura de las plántulas, mientras que en las poblaciones microbianas el *biochar* al 0.2% fue el que tuvo el mayor efecto. Este enfoque no solo aprovecha los residuos agrícolas, sino que también ofrece una opción sostenible para la mejora del suelo y la valorización de los desechos de la poda de maguey.

ABSTRACT

Among the most important renewable resources is plant biomass. Obtaining soil improvers through thermal treatments of plant biomass present in regions where nutrient-poor soils are abundant is a viable alternative to improve the quality of these soils. In this work, the characteristics of a biochar obtained by gasifying *Agave salmiana* waste were evaluated to determine its suitability as a soil improver. The theoretical energy potential of *A. salmiana* waste was also evaluated. Once the waste was characterized, a TLUD gasifier was designed and built with some modifications to control the air intake. To ensure the non-toxicity of the biochar, its effect on the germination of corn, barley, tomato and lettuce seeds was evaluated, determining the germination percentage, seedling height, dry weight and production of phytohormones (indoleacetic acid and gibberellins). In addition, the short-term effect of biochar on some soil microbial groups and the medium-term effect on soil pH and water retention capacity were studied. The results showed that *A. salmiana* contains a high content of organic matter that is easily biodegradable under aerobic conditions, but also has low contents of some nutrients such as N, K and Mn, and toxic metals such as Pb, Cd and Ni, although it can assimilate them if it grows in soils contaminated with these metals. The theoretical potential of *A. salmiana* to produce biogas was lower than that of other substrates, however, unlike some of these, *A. salmiana* does not compete with other uses. The constructed gasifier showed efficient performance and the modifications made allowed the temperature of the process to be regulated and the combustion to be finished more easily and safely. The biochar obtained showed useful characteristics as an improver of the soils typical of semi-arid areas, although it can be conditioned to be applied to other types of soils by correcting their alkalinity. In germination trials, biochar used at 0.4% stood out by significantly improving germination percentage, dry weight and seedling height, while in microbial populations, biochar at 0.2% had the greatest effect. This approach valorizes *A. salmiana* residues while offering alternatives for soil improvement.

CAPÍTULO 1

Introducción

La mayor parte de los residuos orgánicos son depositados de manera inapropiada en vertederos clandestinos o directamente al aire libre, generando impactos ambientales negativos. Estos residuos pueden ser de origen agrícola (como el bagazo), forestal, industrial, municipal, entre otros. Hoy en día, las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) producidos por la degradación de estos residuos, han atraído la atención de los científicos debido a la creciente preocupación sobre el calentamiento global. Además de la generación de GEI, la disposición inadecuada de residuos orgánicos implica otros impactos ambientales negativos, que van desde la inmovilización de nutrientes por parte de los microorganismos hasta la contaminación de las reservas de agua (Silva, 2008).

Existen numerosos métodos para el tratamiento de los residuos orgánicos, también conocidos como biomasa, los cuales tienen como objetivo su estabilización, y en algunos casos su aprovechamiento. Entre ellos se encuentran los tratamientos termoquímicos, ampliamente empleados para la obtención de bioproductos como el *biochar*. La biomasa agrícola y forestal varía en abundancia y composición, de acuerdo a las condiciones climatológicas de la zona donde se genere, lo que hace necesario adaptar los procesos de conversión para obtener los mayores beneficios en cada caso.

La biomasa vegetal que se produce en las zonas áridas y semiáridas tiene características peculiares que la convierten en una opción viable para la obtención bioproductos (Quintanar-Orozco et al., 2018). Las plantas de estas zonas son poco exigentes en cuanto a requerimientos de nutrientes, lo que hace menos costoso su cultivo, y también demandan poca agua debido al tipo de metabolismo que presentan: el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM, por sus siglas en inglés). Uno de los recursos vegetales que ha ganado importancia en estas zonas son las especies del género *Agave*. Si bien existen cerca de doscientas setenta y cinco especies de *Agave* (Lawrence, 1951), *Agave salmiana* está entre las especies más abundantes.

Las especies de *Agave* son parte de la flora característica de las zonas semiáridas en Hidalgo. La obtención de mejoradores de suelo a partir de residuos lignocelulósicos en regiones donde abundan suelos pobres en nutrientes, como los presentes en el estado de Hidalgo, es una

alternativa que cada día llama más la atención de la comunidad científica. La aplicación de estos mejoradores al suelo aumenta el rendimiento de los cultivos al incrementar la capacidad de intercambio catiónico y de retención de agua del suelo, lo que reduce la pérdida de nutrientes y la lixiviación del agua.

Como una contribución para minimizar el impacto ambiental generado por las actividades antropogénicas, en la presente investigación se llevó a cabo la valoración de residuos de *A. salmiana*. Para ello, primero se caracterizaron fisicoquímicamente de los residuos de *A. salmiana*, posteriormente se realizó la evaluación teórica del potencial energético de dichos residuos, para evaluar la producción de biogás que podría obtenerse por digestión anaerobia de los mismos. Finalmente, se diseñó y construyó un gasificador para producir biochar a partir de los residuos de *A. salmiana*.

El presente trabajo está organizado de la siguiente manera: en el Capítulo 2 se presentan los conceptos básicos que conforman el marco teórico del estudio; el Capítulo 3 contiene una revisión de estudios acerca del aprovechamiento de *A. salmiana*, la producción de biogás, el tratamiento térmico de la biomasa, la producción del biochar y la importancia de las fitohormonas en la producción agrícola. En el Capítulo 4 se encuentra el planteamiento del problema y la justificación del estudio; los objetivos, la hipótesis y el diseño experimental de la investigación se presentan en los Capítulos 4, 5 y 6, respectivamente.

En los capítulos 7-9 se presentan el trabajo experimental y los resultados obtenidos en cada caso, de esta forma, el Capítulo 7 aborda la caracterización fisicoquímica de los residuos de *A. salmiana* y las excretas de conejo, proporcionando una base para entender las propiedades de la materia prima que afectan la producción de biogás, biofertilizantes y mejoradores de suelo. En esta sección, también se muestran y discuten los resultados obtenidos de las pruebas de biodegradabilidad y la simulación de la producción teórica de biogás.

El Capítulo 8 se centra en la construcción del gasificador, la preparación de la biomasa y su gasificación para la obtención de *biochar*. Se discuten las características del biochar obtenido, la influencia de la materia prima y las condiciones de obtención empleadas, sobre dichas características, así como el impacto que podría tener el *biochar* producido en la mejora de la calidad del suelo.

En el Capítulo 9 se concluye la evaluación del biochar mediante pruebas de germinación para demostrar que no es tóxico, también se estudió el efecto del biochar sobre la producción de

fitohormonas (ácido indol acético y giberelinas) en las plántulas, así como sobre algunos grupos microbianos y las propiedades del suelo.

Finalmente, el Capítulo 10 se dedica al análisis estadístico de los parámetros evaluados, proporcionando una interpretación de los datos obtenidos en las pruebas de inhibición de la germinación y otros experimentos relacionados.

Esta tesis, además de contribuir al conocimiento científico sobre el potencial energético y ambiental de los residuos de *A. salmiana*, también busca ofrecer soluciones prácticas para la gestión de residuos y la producción sostenible de recursos. La integración de estas diversas áreas de estudio permite una comprensión profunda de cómo estos residuos pueden ser transformados en recursos valiosos, apoyando así la transición hacia prácticas más sostenibles y ecológicas en el sector agroindustrial.

CAPÍTULO 2

Marco Teórico

2.1 La biomasa

La biomasa es un producto sólido orgánico-inorgánico complejo, generado por procesos naturales y antropogénicos. Por ello, comprende: (1) constituyentes naturales originados a partir del cultivo de vegetación terrestre y acuática o generados por animales y digestión de alimentos humanos, y (2) productos derivados del procesamiento de los constituyentes naturales anteriores (Vassilev et al., 2010). Los componentes de la biomasa incluyen celulosa, hemicelulosa, lignina, lípidos, proteínas, azúcares simples, almidones, agua, hidrocarburos, cenizas, entre otros (Jenkins et al., 1998). La biomasa lignocelulósica se compone principalmente de celulosa (35-50%), hemicelulosa (20-35%) y lignina (10-20%) (Alonso et al., 2010). La celulosa es el polímero orgánico más abundante presente en la pared celular de las células vegetales, compuesto de unidades de β -D glucopiranosas unidas con enlaces glucosídicos (Figura 1a) (Jenkins et al., 1998). La hemicelulosa rodea las fibras de celulosa, actuando como vínculo de conexión entre la celulosa y la lignina. Este polímero está formado por un grupo heterogéneo de polisacáridos ramificados, cuyos elementos estructurales pueden ser diferentes monómeros como glucosa, galactosa, manosa, xilosa, arabinosa y ácido glucurónico (Figura 1b). El grado de polimerización de la hemicelulosa es de 50 a 200 monómeros, muy inferior al de la celulosa (Li, 2014). La lignina es un polímero de fenol aromático, tridimensional y reticulado, con una estructura aleatoria de unidades de fenilpropano sustituidas con "hidroxilo" y "metoxi-" unidas de manera diferente. Estos monómeros de fenilpropano se pueden categorizar como unidades de guayacilo, siringilo y *p*-hidroxilfenilo, como las que se muestran en la Figura 1c (Carrier et al., 2011; Mohan et al., 2006). La lignina está presente principalmente en la capa exterior de las fibras y es responsable de la rigidez estructural y de mantener unidas las fibras de los polisacáridos. De los tres componentes, la lignina es el más recalcitrante y el segundo más abundante en la naturaleza (Feng et al., 2017).

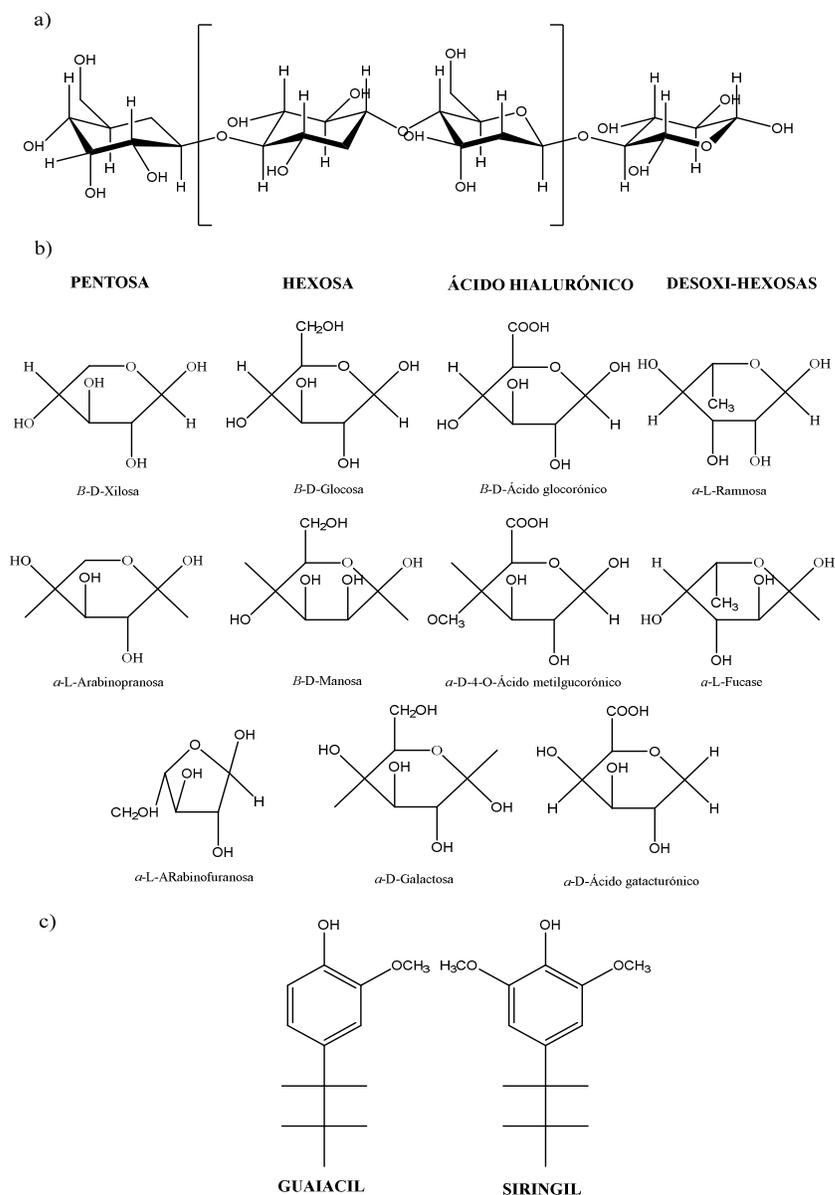


Figura 1. Estructuras químicas de los constituyentes de la biomasa lignocelulósica. a) Estructura química de la celulosa; b) Ilustración esquemática de unidades de azúcar de hemicelulosas; c) Ilustración esquemática de unidades de construcción de lignina. Fuente: Modificado de Balat et al. (2009).

Además de celulosa, hemicelulosa y lignina, la biomasa también contiene componentes inorgánicos, compuestos orgánicos extraíbles y una fracción de agua (Jenkins et al., 1998). Los compuestos orgánicos extraíbles incluyen alcaloides, aceites esenciales, grasas, glucósidos, gomas, mucílagos, pectinas, fenoles, proteínas, resinas, saponinas, azúcares simples, almidones, terpenos y ceras. Estos se pueden extraer de la biomasa utilizando disolventes polares (alcohol, cloruro de metileno o agua) o no polares (hexano o tolueno). Los componentes inorgánicos se

encuentran presentes como cenizas. En cuanto a la composición elemental de la biomasa, el carbono (51% en peso) y el oxígeno (42% en peso) contribuyen a más del 90% del peso seco; además, contiene hidrógeno (5% en peso) y trazas de N (0.9% en peso) y cloro (0.01-2% en peso) (Bolyos et al., 2003).

La biomasa lignocelulósica puede ser usada para la producción de energía mediante su combustión directa y para su conversión en diferentes bioproductos, usando rutas termoquímicas o bioquímicas. En comparación con los procesos bioquímicos, los procesos termoquímicos se llevan a cabo de forma rápida (de segundos a horas). Además, a diferencia de los procesos bioquímicos, en los que se produce lignina como subproducto y que enfrentan dificultades para fermentar los azúcares C₅, los procesos termoquímicos utilizan toda la biomasa. Otra ventaja de los métodos termoquímicos de conversión es que no son específicos para ciertos tipos de biomasa e incluso pueden procesar combinaciones de ellas. La biomasa lignocelulósica presenta un gran potencial y diversos beneficios sociales y ambientales como fuente renovable de materia prima.

2.2 *Agave salmiana*

El género *Agave* forma parte del grupo de las xerófilas, que son plantas que crecen en suelos con poca humedad, originarias principalmente de México y América Central. Si bien existen cerca de doscientas setenta y cinco especies de *Agaves* (Lawrence, 1951), *Agave salmiana* (Figura 2) está entre las especies comúnmente distribuidas en las áreas más cálidas del mundo, especialmente en América Latina.

A. salmiana es una especie robusta, monocotiledónea, de tamaño de mediano a grande, presenta un tallo de pequeño a grueso, con raíz fibrosa revestida de escamas, en general forma rosetas macizas de 1.5 a 2 metros de alto y con el doble de ancho (su roseta mide de 80 a 120 cm de grosor). Sus hojas son carnosas y macizas, verdes a grisáceas, profundamente convexas en la base, cóncavas hacia arriba, con espina terminal pungente de aproximadamente 5 a 8.5 cm de largo y con abundantes espinas marginales, largas, acanaladas, simples, enteras, más o menos lanceoladas, con el ápice agudo de color verde oscuro (Rzedowski & Huerta, 1978).



*Figura 2. Imagen de Agave salmiana.
Fuente: Elaboración propia.*

A. salmiana es una de las especies que más se utiliza para la producción de pulque en México (Muñoz, 2005), con ella se abastece el 75 % de la demanda nacional (Fernández, 2005). Los agaves empleados para la fabricación del pulque se propagan a partir de rizomas e hijuelos, por ser más rápido que la propagación por semillas (Melda & Ruiz, 2004). Aun así, uno de los inconvenientes de estas plantas es su lento crecimiento, toma varios años para que un hijuelo o renuevo alcance tallas comercialmente adecuadas (Melda & Ruiz, 2004).

Del tallo de *A. salmiana* se extrae una fibra, la cual debe retirarse para poder obtener los jugos del maguey. De esta fibra se fabrican cuerdas, redes y bolsas, pero no es el principal uso de este agave. Las hojas de *A. salmiana* son muy usadas para la barbacoa o asado de cordero en horno tradicional o subterráneo, estas hojas le imparten un aroma y sabor característico a este platillo. De las hojas vivas se saca la cutícula y la capa subyacente de las células epidérmicas para hacer una hoja con la cual se envuelven los mixiotes, otro platillo típico del estado de Hidalgo. El quiote y las flores tiernos son comestibles, el primero cocido en hornos subterráneos y los “capullos de flor” se consumen cocidos o fritos (García-Herrera et al., 2010).

Al igual que otros agaves, *A. salmiana* es una planta muy eficiente en cuanto al uso del agua debido al metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM, por sus siglas en inglés) (Borland et al., 2009), que le confiere características físicas y químicas que la convierten en una especie bien adaptada a los ambientes áridos y semiáridos de todo el mundo, que incluyen su tierra natal, México. En la Tabla 1 se observan los resultados del análisis bromatológico del bagazo de *A. salmiana* reportado por Heredia et al. (2014).

Tabla 1. Análisis bromatológico del bagazo de *A. salmiana*
Fuente: Heredia et al. (2014)

<i>Agave</i> (especie)	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Cenizas (%)	Fibra (%)	COT (%)	ART (mg L ⁻¹)
<i>Agave salmiana</i>	7.36	0.84	3.17	6.58	56.09	54.4	5559.2

COT, Carbono Orgánico Total; ART, Azúcares Reductores Totales.

2.3 Digestión anaerobia

El proceso de digestión anaerobia es, en muchas formas, el tratamiento ideal de los residuos orgánicos. Posee ventajas significativas sobre otros métodos de tratamiento disponibles, como lo es el alto porcentaje de estabilización obtenida y el bajo porcentaje de conversión de materia orgánica en células biológicas. La digestión anaerobia consiste en una serie de transformaciones bioquímicas que convierten los compuestos orgánicos en biogás a través de una comunidad de microorganismos anaerobios (Fabbri & Torri, 2016). Estas transformaciones son comúnmente consideradas como un proceso de cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 3) (Angelidaki et al., 2003).

Según la concentración de sólidos totales en el digestor, la digestión anaerobia se puede clasificar como proceso de bioconversión húmedo (10% de sólidos totales, ST), semiseco (10–20% ST) y seco (20% ST) (Hartmann et al., 2006; Karthikeyan et al., 2013).

La biomasa vegetal que produce grandes cantidades de azúcares libres, como la caña de azúcar, el sorgo y el maíz, es atractiva para ser usada como materia prima en tratamientos biológicos. Por el contrario, la biomasa lignocelulósica posee características que no se ajustan a este tipo de tratamiento, y normalmente se usan tratamientos termoquímicos para su conversión en biomateriales. Como se mencionó anteriormente, los termoquímicos no son selectivos en el tipo de biomasa empleada y su objetivo principal es transformar toda la materia prima en productos simples como el *biochar*.

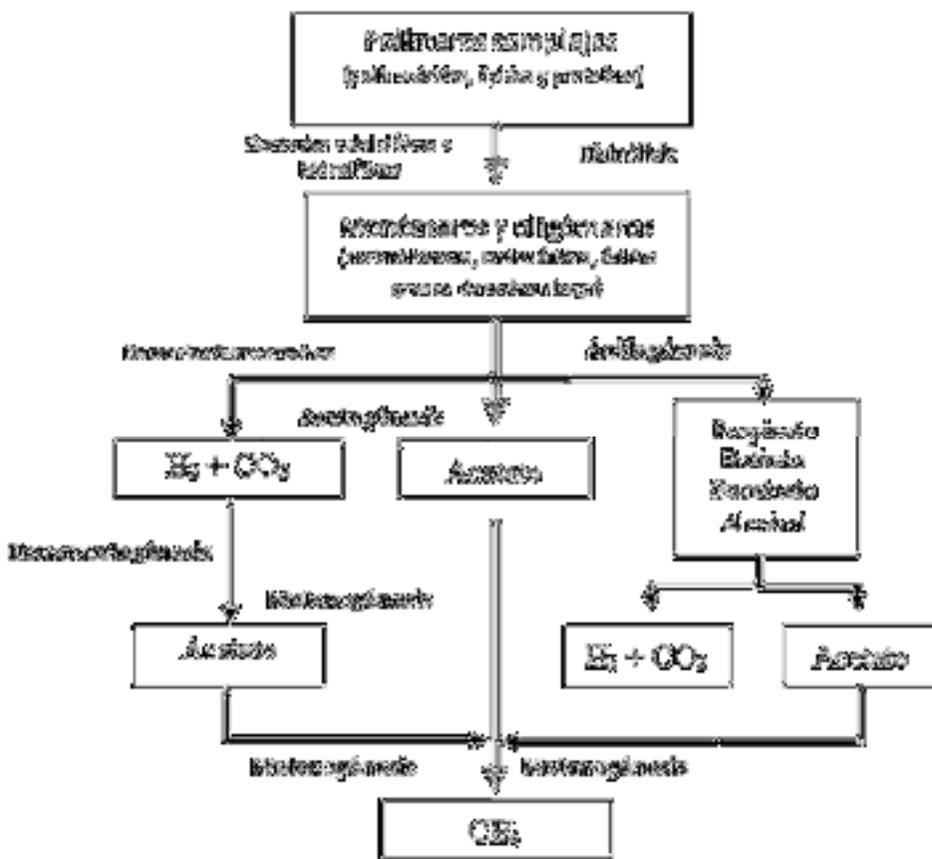


Figura 3. Proceso de digestión anaerobia.
Fuente: Angelidaki et al. (2003).

2.4 El biochar

El *biochar* se ha producido durante miles de años con el nombre de carbón vegetal. Su origen está ligado a las antiguas civilizaciones amerindias ubicadas en la región del Amazonas, conocida con el nombre de *Terra Preta de Indio*, donde existen grandes cantidades de *biochar* en el suelo, producidas mediante el uso de la técnica de *slash-and-char* (Glaser et al., 2001; Lehmann, 2009). Shackley et al. (2012) definieron el *biochar* como "el sólido carbonoso poroso producido por la conversión termoquímica de materiales orgánicos en una atmósfera pobre en oxígeno, que tiene propiedades fisicoquímicas adecuadas para el almacenamiento seguro y a largo plazo de carbono en el medio ambiente". Verheijen et al. (2010) definieron al *biochar* como "biomasa que ha sido pirolizada en un ambiente con poco o nada de oxígeno, que aplicada al suelo en un sitio específico se espera que capture carbono de manera sustentable y al mismo tiempo mejore las funciones del suelo bajo el manejo actual y futuro, evitando al mismo tiempo efectos perjudiciales a largo plazo para el medio ambiente en general, así como para la

salud humana y animal”. La *International Biochar Initiative (IBI)* estandarizó su definición como “un material sólido obtenido de la conversión termoquímica de biomasa en un ambiente con oxígeno limitado” (IBI, 2015).

2.5 Fitohormonas

Otra de las funciones del *biochar*, es inducir la producción de fitohormonas reguladoras de crecimiento. Las fitohormonas son sustancias que participan en la regulación de múltiples procesos fisiológicos como la germinación de semillas, el enraizamiento, los movimientos trópicos, la tolerancia a diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos, la floración, maduración de frutos y senescencia, entre otros (McCourt, 1999). A diferencia de las hormonas animales que son producidas en glándulas, las fitohormonas se producen en las células de la planta y se definen como compuestos orgánicos que se sintetizan en un sitio de la planta, y que pueden ejercer su función en el lugar que se producen o en algún otro. Las fitohormonas llevan a cabo su acción fisiológica en muy bajas concentraciones, entre 10^{-9} M a 10^{-6} M, muy por debajo de la concentración de otros compuestos como nutrientes y vitaminas (Izumi et al., 2009). Las fitohormonas son factores estimulantes del crecimiento, sin embargo, este es uno de sus efectos y no su acción principal. En realidad, son las enzimas involucradas durante el proceso las que intervienen directamente en el desarrollo, actuando como intermediarios entre el estímulo (a menudo la luz o la temperatura) y la respuesta de la planta (germinación, floración, etc.) (Loredo-Osti et al., 2004). Existen diez fitohormonas caracterizadas hasta el momento: auxinas, citocininas (CK), giberelinas (GA), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA); poliaminas; ácido jasmónico (JA), brasinoesteroides (BR), etileno y estrigolactonas. Algunas de estas, como las auxinas, se han estudiado más extensivamente debido a su importancia durante el desarrollo vegetal. La actividad de estos reguladores sigue una dinámica de regulación intrínseca y un movimiento dentro de la planta, sin embargo, algunos de estos reguladores son adquiridos del suelo modificando el desarrollo de la planta (Figura 4).

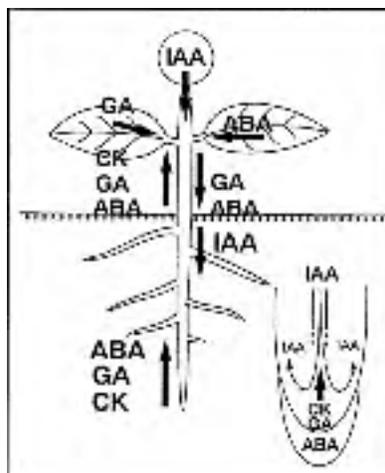


Figura 4. Movimientos ascendentes y descendentes de las hormonas vegetales.

Fuente: Tanimoto (2005).

GA: giberilinas, ABA: ácido abscísico, CK: citocininas, AIA: ácido indolacético.

El transporte de otras hormonas, como los brasinoesteroides y el jasmonato, no se conoce bien, pero se sabe que desempeñan un papel en la respuesta al estrés y a las lesiones en todas las partes de las plantas.

2.6 Economía circular

La producción de *biochar* mediante un esquema de economía circular, ha ganado importancia en los últimos años, y se ha posicionado como una pieza importante para la industria y las políticas medioambientales de países desarrollados como China y Estados Unidos (Winans et al., 2017; Zhu et al., 2019). La economía circular se rige bajo el principio de un futuro sociotecnológico radicalmente diferente al actual. Se ha propuesto como una respuesta al modelo económico convencional de “tomar-hacer-desechar” (MacArthur, 2013). De acuerdo con la Fundación Ellen MacArthur (EMF) la economía circular se define como “un sistema industrial que es restaurativo o regenerativo por intención y diseño, que reemplaza el concepto de 'fin de vida útil' con restauración, cambia hacia el uso de energía renovable, elimina el uso de productos químicos tóxicos que dificultan la reutilización, y apunta a la eliminación de desechos a través del diseño superior de materiales, productos, sistemas y, dentro de este, los modelos de negocio” (MacArthur, 2013). Geissdoerfer et al. (2017) la define como “un sistema regenerativo en el que la entrada y el desperdicio de recursos, las emisiones y las fugas de energía se minimizan al ralentizar, cerrar y estrechar los ciclos de materiales y energía, gracias a un diseño, mantenimiento, reparación, reutilización, refabricación y restauración duraderos, y reciclaje”.

El concepto de economía circular ha evolucionado de manera diferente dependiendo del contexto sociocultural y político en el que se encuentre (Yu et al., 2015). En Alemania, el concepto de economía circular se introdujo en la política ambiental a principios de la década de 1990 con la intención de atacar los problemas asociados con el uso de materias primas y recursos naturales, para incrementar un desarrollo económico sustentable (Geng et al., 2008). En China, el concepto de economía circular se utiliza como un mecanismo para el desarrollo de productos rentables, el desarrollo de nuevas tecnologías, la actualización de equipos y la mejora de la gestión de la industria (Yuan et al., 2006). En el caso del Reino Unido, Dinamarca, Suiza y Portugal, el concepto de economía circular se aplica principalmente para la gestión de residuos, aunque también existen modelos comerciales que aplican conceptos de uso (o reutilización) circular de materiales (Costa et al., 2010). En Estados Unidos y algunos países europeos, las empresas adoptan el concepto de economía circular con el objetivo de mejorar los programas de reducción, reutilización y reciclaje, y para realizar estudios de ciclo de vida a nivel de producto (Hunt et al., 1996). Con todas estas iniciativas, varias herramientas están evolucionando para así poder evaluar los flujos de materiales (Fischer-Kowalski et al., 2011; Moriguchi & Management, 2007), ya muchas de estas herramientas no incluyen la parte social (Wang; et al., 2012).

La economía circular debe generar flujos lentos de materiales, impulsar un cambio de consumo en el usuario y permitir un desacoplamiento del uso de recursos y el impacto ambiental del crecimiento económico (Lazarevic et al., 2017). Como consecuencia, los modelos comerciales circulares deben reducir los costos, aumentar los ingresos y gestionar los riesgos, así como brindar posibilidades para que el sector financiero contribuya a una transición hacia la sostenibilidad. Anteriormente, los principios del concepto economía circular incluían las 3R (reducir, reutilizar, reciclar) (Wu et al., 2014), sin embargo, actualmente comprenden las 6R (reutilizar, reciclar, rediseñar, remanufacturar, reducir, recuperar) (Jawahir & Bradley, 2016). El concepto de economía circular es indispensable para el desarrollo sustentable, proceso mediante el cual se resguardan, mantienen y almacenan los recursos medioambientales de manera natural, logrando garantizar el bienestar de la sociedad actual con el objetivo de su preservación futura, ante el agotamiento gradual de los recursos derivado del modelo actual (Jiménez, 2020).

México, al ser un país en vías de desarrollo, aún se encuentra en etapas tempranas en temas relacionados con la sustentabilidad y la economía circular. Acciones como la creación del

Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024 para México describen el apartado de desarrollo sustentable, sin embargo, no cuentan con un plan de acción para lograrlo. En octubre de 2019, se lanzó la iniciativa de la creación de la Ley General de Economía Circular, que tiene como propósito dotar al país de un marco normativo general que permita utilizar eficazmente los recursos naturales, económicos y humanos, y que facilite la transición hacia el modelo de economía circular. Con esta ley se pretende que los residuos se reciclen, transformando los desechos de una industria en materias primas de otra, sin embargo, la iniciativa aún no es aceptada, pero se sigue enriqueciendo para que sea aprobada.

CAPÍTULO 3

Antecedentes

3.1 Agave salmiana

A. salmiana es producido en México, principalmente en los estados de Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México y Puebla. El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) informó que la de producción de agave en 2022, fue de 2,036,474 toneladas, mientras que para el 2023 se produjeron 2,577,995 toneladas (SIAP, 2024).

El estado de Hidalgo se caracteriza por contar con una gran variedad de climas, entre los que destacan los secos y semisecos en el 39% de su territorio. Las especies de *Agave* son parte de la flora característica de las zonas semiáridas en Hidalgo. *A. salmiana* se usa en la preparación del platillo y la bebida típicos de este estado, lo que resulta en una generación importante de residuos que pueden aprovecharse. El desarrollo de bioproductos a partir de residuos de *A. salmiana*, se ha reportado en la literatura científica, por ejemplo, para la producción de etanol a partir de bagazo residual y de las hojas (Flores-Gómez et al., 2018). También se ha estudiado la viabilidad de utilizar bagazo de agave como combustible sólido, ya sea en forma directa o pirolizado (Chávez-Guerrero & Hinojosa, 2010). Sin embargo, el desarrollo de bioproductos como el *biochar* para ser usado como mejorador de suelo, se ha explotado poco y representa una excelente oportunidad, ya que transformar los residuos disponibles localmente trae consigo beneficios como reducir los impactos ambientales negativos que actualmente genera la disposición inadecuada de ellos a la vez que mejora la calidad de los suelos.

3.2 Biogás

El biogás es una mezcla de metano (CH₄, 35 – 75 %) y dióxido de carbono (CO₂, 15 – 60 %) principalmente; también puede contener trazas de otros compuestos, como vapor de agua (H₂O, 5 – 10 %), sulfuro de hidrógeno (H₂S, 0.005 – 2 %), siloxanos (0 – 0.02 %), hidrocarburos saturados y halogenados (compuestos orgánicos volátiles, < 0.6 %), amoníaco (NH₃, < 1 %), oxígeno (O₂, 0 – 1 %), monóxido de carbono (CO, < 0.6 %) y nitrógeno (N₂, 0 –

2 %) (Persson et al., 2006; Ryckebosch et al., 2011). La composición del biogás y el rendimiento de CH₄ dependen del tipo de materia prima, el sistema de digestión y el tiempo de retención (Ramaraj et al., 2015). En la Tabla 2 se muestra la composición del biogás según su fuente, y las propiedades de los gases que lo componen.

*Tabla 2. Composición del biogás derivado de distintas fuentes.
Fuente: Wheatley et al. (1990).*

Gases	Desechos agrícolas	Lodos locales	Desechos industriales	Rellenos sanitarios	Propiedades
Metano	50 – 80 %	50 – 80 %	50 – 70 %	45 – 65 %	Combustible
Dióxido de carbono	30 – 50 %	20 – 50 %	30 – 50 %	34 – 55 %	Ácido, asfixiante
Vapor de agua	Saturación	Saturación	Saturación	Saturación	Corrosivo
Hidrógeno	0 – 2 %	0 – 5 %	0 – 2 %	0 – 1 %	Combustible
Sulfuro de hidrógeno	100 – 7000 ppm	0 – 1 %	0 – 8 %	0.5 – 100 ppm	Corrosivo, olor, tóxico
Amoniacaco	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	Corrosivo
Monóxido de carbono	0 – 1 %	0 – 1 %	0 – 1 %	Trazas	Tóxico
Nitrógeno	0 – 1 %	0 – 3 %	0 – 1 %	0 – 20 %	Inerte
Oxígeno	0 – 1 %	0 – 1 %	0 – 1 %	0 – 5 %	Corrosivo
Orgánicos	Trazas	Trazas	Trazas	5 ppm	Corrosivo, olores

Sin embargo, más allá del uso final del biogás, son necesarias una o varias etapas para acondicionarlo con el objetivo de eliminar impurezas y mejorarlo. El proceso de purificación del biogás elimina las impurezas, como los sulfuros y el NH₃, y por otro lado, la mejora del biogás, elimina el CO₂, dando como resultado la obtención de biometano (Ramaraj et al., 2015). La obtención de biogás permite reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, además, utilizado como combustible para vehículos emite menos NO_x, CO e hidrocarburos que la gasolina o el diésel. Los principales contaminantes del biogás causantes de problemas son el H₂S, NH₃ y los siloxanos. Otros contaminantes presentes son el agua, polvo, CO₂, compuestos orgánicos volátiles y aire (relación O₂/aire), que, junto con el biogás, pueden dar como resultado mezclas explosivas (Tabla 2). El CO₂ está presente en grandes cantidades en el biogás, es inerte en términos de combustión, por tanto, su presencia disminuye el contenido energético del

biogás, pues exhibe un índice de Wobbe¹ y un valor de calentamiento significativamente bajo, además puede afectar negativamente al rendimiento del motor. El contenido de CH₄ en el biogás se incrementará si se elimina el CO₂. Por lo tanto, esas impurezas no deseadas deben eliminarse del biogás antes de usarse como combustible de vehículos o inyectarse a las redes de gas natural (Tabla 3) (Tippayawong & Thanompongchart, 2010).

*Tabla 3. Impurezas del biogás y sus posibles consecuencias.
Fuente: Horikawa et al. (2004), Persson et al. (2006), Ryckebosch et al. (2011)*

Impureza	Posible impacto
Agua	Corrosión en compresores, motores y tanques de almacenamiento debido a que reacciona con el H ₂ S, el NH ₃ y el CO ₂ para formar ácidos.
	Acumulación de agua en las tuberías.
	Condensación y/o congelación debido a la alta presión.
Polvo	Obstrucción por deposición en compresores y tanques de gas.
H ₂ S	Corrosión en los compresores, tanques de gas y los motores de combustión interna.
	Forma SO ₂ y SO ₃ durante la combustión, estos compuestos son más tóxicos que el H ₂ S y corrosivos en presencia de agua.
	Es peligroso en niveles bajos para humanos y animales. En concentraciones mayores, aún más peligrosas, no tiene olor.
CO ₂	Disminuye el poder calorífico del biogás.
Siloxanos	En los motores de combustión forman SiO ₂ y cuarzo microcristalino debido a la combustión, se depositan en las bujías, válvulas y culatas, causan escoriaciones en las paredes de los cilindros, además de taponamientos.
Hidrocarburos	Corrosión en los motores debido a la combustión.
NH ₃	Causa corrosión cuando se disuelve en agua.
	Es tóxico, con olor picante y lacrimógeno.
O ₂ /aire	Mezclas explosivas cuando hay altas concentraciones de O ₂ en el biogás.
Cl ⁻	Corrosión en motores de combustión.
F ⁻	Corrosión en motores de combustión.

Después de un proceso de limpieza, el biometano puede alcanzar una concentración de entre un 95 – 97% de CH₄ y 1 – 3% de CO₂ (Ryckebosch et al., 2011). Con estas características,

¹ El índice de Wobbe (W) es un indicador de intercambiabilidad de combustibles como el gas natural, el gas licuado de petróleo o el gas de ciudad, y con frecuencia se define en las especificaciones de suministro de gas y de transporte (de los combustibles). El W se define como el poder calorífico dividido por la raíz cuadrada de la densidad relativa ($W = H/\sqrt{\rho}$), donde la densidad relativa (ρ) es la densidad relativa del gas con respecto al aire (densidad gas/densidad del aire); H es el valor del poder calorífico del gas en cuestión.

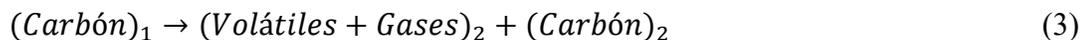
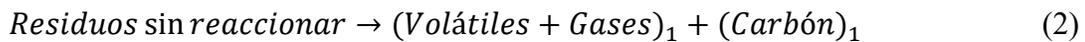
el biogás puede ser utilizado como una alternativa al gas natural. Para obtener biogás de calidad similar a la del gas natural es necesario utilizar más de una de las diferentes tecnologías de limpieza. Ello depende primordialmente de la naturaleza de los materiales a partir de los cuales se generó el biogás, así como de las condiciones de operación durante la digestión anaerobia.

3.3 Tratamientos térmicos de la biomasa

La descomposición termoquímica de la biomasa es un método atractivo para obtener una gran variedad de bioproductos. La combustión de la biomasa ocurre en etapas debido al contenido de humedad, materia volátil y carbono fijo que presente la biomasa en cuestión. Durante la etapa inicial, una vez que la temperatura de la biomasa alcanza 100 °C, la humedad se evapora, lo que absorbe aproximadamente 2257 kJ kg⁻¹ de calor (Cengel et al., 2011). Una vez que la temperatura alcanza entre 200 y 250 °C, la biomasa comienza a volatilizarse y libera CO, H₂O, CO₂, CH₄ y otros hidrocarburos (Jenkins et al., 1998). Los gases volátiles continuarán produciéndose hasta que la biomasa alcance alrededor de 400 a 500 °C, después de esto, la mayoría del material restante será carbono fijo y cenizas. El carbono fijo sigue en combustión a medida que aumenta la temperatura de la biomasa, mientras que el material inorgánico de las cenizas se volatiliza o forma óxidos sólidos (Vassilev et al., 2010). Los gases volátiles combustibles se queman mediante la adición de aire secundario.

De forma general, los procesos de degradación térmica de la biomasa incluyen licuefacción, carbonización hidrotérmica (HTC, por sus siglas en inglés), gasificación y pirólisis. La licuefacción es también un proceso hidrotérmico en el que se trata la biomasa en forma de suspensión acuosa, en un medio reductor a 300-400 °C y 10-20 MPa, y cuya finalidad es obtener *bio-oil*. Por su parte, en la HTC la biomasa es sumergida en agua y posteriormente, calentada en un reactor cerrado, lo que hace que se eleve la presión dentro del mismo y se tenga agua en condiciones subcríticas. El uso de agua como medio de reacción, tiene el potencial de eliminar el material inorgánico soluble en agua de la biomasa, haciendo posible procesar biomasa con grandes cantidades de humedad, lo que podría eliminar los problemas asociados con las cenizas y la humedad durante el tratamiento. El proceso de HTC da como resultado la formación *hydrochar*, *bio-oil* (mezclado con agua) y pequeñas fracciones de gases (principalmente CO₂) (Kambo et al., 2015). La gasificación consiste en transformar biomasa sólida en combustibles gaseosos como hidrógeno (H₂), CO, CO₂ y agua, además de hidrocarburos como el CH₄, específicamente a bajas temperaturas y en reactores de cama fluida

(Mohan et al., 2006). La gasificación ocurre en dos etapas: en la primera es la carbonización, en la que la biomasa se transforma en carbón (*biochar*), la segunda etapa se realiza a mayor temperatura para transformar el carbón en cenizas, la cantidad de carbón transformado dependerá del contenido de oxígeno en el gasificador. En general, el rendimiento del *biochar* en el proceso de gasificación (5–10%) es menor que el de otros procesos termoquímicos como la pirólisis (15-20%) (Cha et al., 2016), lo que puede explicarse por la conversión de carbono en CO debido a sus condiciones de oxidación parcial (Brewer et al., 2009; Mohan et al., 2014). A diferencia de la HTC, la pirólisis requiere materia prima seca (Funke et al., 2013). La pirólisis ha ganado importancia en los últimos años, debido a su sencillez de operación y bajo costo. Se lleva a cabo calentando la materia orgánica en un ambiente con poca o nula presencia de oxígeno (<1 % O₂ V/V), a temperaturas que comienzan a 350-550 °C y pueden sobrepasar los 700 °C (Demirbas & Arin, 2002; Dutta et al., 2014; Goyal et al., 2008; Novak et al., 2009). Los mecanismos de reacción del proceso de pirólisis son complejos, sin embargo, pueden resumirse en los siguientes pasos (Demirbas, 2004):



En el segundo paso ocurre la pérdida de humedad y volátiles además de la producción del *biochar* primario (Ec. 2). El último paso incluye una reorganización química del *biochar*. Durante este paso, el *biochar* se descompone a un ritmo muy lento, para dar lugar a la formación de un sólido residual rico en carbono. La formación de *biochar* secundario (Ec. 3) hace que el carbón sea menos reactivo.

En el proceso de gasificación, las principales reacciones termoquímicas incluyen las siguientes (Demirbas, 2004):

Biochar a CH₄:



Biochar a óxidos:



Biochar a CO y H₂:



Los productos de la combustión (CO₂ y H₂O) se reducen aún más con la presencia del *biochar*. Estas reacciones endotérmicas generan *syngas*: CO y H₂ (Ec. 6). Las moléculas de la biomasa y las moléculas del vapor (hidrógeno y oxígeno) se reorganizan para formar este gas. La alta reactividad del *biochar* es mayor cuando las partículas de biomasa más pequeñas se someten a pirólisis.

El proceso de pirólisis se puede dividir en cuatro etapas: evolución de la humedad, descomposición de hemicelulosa, descomposición de celulosa y descomposición de lignina (Raveendran et al., 1996; Yang et al., 2004). En un estudio llevado a cabo por Yang et al. (2007) encontraron los siguientes intervalos de temperatura para la descomposición por pirólisis de los principales componentes de la biomasa: 220-315 °C para la hemicelulosa, 314-400 °C para la celulosa, y 160-900 °C para la lignina. También observaron que por pirólisis se genera la mayor cantidad de residuo sólido (40%). A temperaturas bajas, la deshidratación y descomposición de las moléculas de carbohidratos da como resultado la formación de *biochar* (Bridgwater, 2012). Otro estudio reportó un rendimiento de *biochar* del 34.2 % cuando se pirolizaba celulosa pura a 300 °C, en presencia de N (Shafizadeh & Fu, 1973). Por el contrario, cuando las temperaturas son altas, hay suficiente energía para la rápida ruptura de los enlaces glucosídicos y la evaporación de los productos, lo que favorece la formación de *syngas*. Esta variación en las temperaturas se debe a que, en el caso de la lignina, esta se descompone en un amplio rango de temperaturas debido a la gran cantidad de grupos funcionales con diferentes estabildades térmicas. La degradación térmica comienza a 200 °C y puede requerir temperaturas de hasta 900 °C para completarse (según el tiempo de residencia) (Yang et al., 2007). Si los vapores de la pirólisis son enfriados ocurre una condensación en compuestos líquidos polares y de alto peso molecular (Escalante Rebolledo et al., 2016).

Según la velocidad de calentamiento y el tiempo de residencia, la pirólisis de biomasa se puede clasificar en tres categorías (Tabla 4): pirólisis convencional o lenta, pirólisis rápida y pirólisis. Los términos “pirólisis lenta” y “pirólisis rápida” no tienen un rango preciso de los tiempos o velocidades de calentamiento involucradas en cada uno.

Tabla 4. Tecnologías de pirólisis y condiciones de proceso.

Fuente: Balat et al. (2009), Goyal et al. (2008), Mohan et al. (2006), Patwardhan (2010).

Tecnologías de pirólisis	Condiciones del proceso		
	Temperatura	Velocidad de calentamiento	Tiempo de retención

Pirólisis lenta	400 – 600 °C	5 – 7 °C/min	5 – 30 min
Pirólisis rápida	400 – 600 °C	300 °C/min	< 5 s
Pirólisis ultrarápida	400 – 950 °C	1000 °C/min	30 ms ~ 1.5 s

La pirólisis lenta o convencional se ha aplicado durante miles de años y se ha utilizado principalmente para la producción de *biochar*. La pirólisis lenta es un proceso por lotes que se lleva a cabo a temperaturas bajas, velocidades de calentamiento lentas (se ha informado de tasas tan bajas como 0.1-2 °C/min.) y largos tiempos de residencia (5 a 30 minutos) con el objetivo de maximizar la formación de *biochar* (Mohan et al., 2006; Patwardhan, 2010). Este proceso es más tolerante a la humedad contenida en la biomasa, que puede ser de 15 a 20% (Bridgwater & Peacocke, 2000). A diferencia de la pirólisis lenta, la pirólisis rápida es una tecnología avanzada comúnmente utilizada en la producción de combustible líquido. Este es un proceso que se lleva a cabo de forma continua y que utiliza velocidades de calentamiento mucho más rápidas que en la pirólisis convencional (cerca de 300 °C/min) (Goyal et al., 2008). Existen cuatro características esenciales dentro de un proceso de pirólisis rápida (Bridgwater, 2003): a) tasas de transferencia de calor y calentamiento muy altas, que generalmente requiere una alimentación de biomasa finamente molida; b) temperaturas de reacción de pirólisis cuidadosamente controladas, a menudo en el rango de 425-600 °C; c) tiempos de residencia de vapor cortos (típicamente <2 s); y d) los vapores y aerosoles de pirólisis se enfrían rápidamente para producir *bio-oil*. La pirólisis rápida se lleva a cabo con éxito en la mayoría de los reactores de lecho fluidizado, pues ofrecen velocidades de calentamiento altas, rápida desvolatilización, fácil control y fácil recolección de productos, entre otras cosas (Luo et al., 2004). En la pirólisis ultrarápida el tiempo de reacción es de segundos o menos, la velocidad de calentamiento es muy alta y el tiempo de residencia muy corto, por lo que se requiere de reactores especiales para poder llevarla a cabo. Dos de los diseños apropiados son el reactor de flujo arrastrado y el reactor de lecho fluidizado.

3.4 Biochar

El *biochar* es un producto sólido rico en carbono, producido a partir de la degradación termoquímica de materiales orgánicos en ausencia o a bajas concentraciones de oxígeno (Ahmad et al., 2014). El tratamiento térmico descompone parte de la biomasa, pero conserva un

gran porcentaje de su contenido de carbono, por lo que es más fácil de usar en distintas aplicaciones que la biomasa original. Aunque el elemento principal del *biochar* es el carbono, también contiene hidrógeno, oxígeno, y cantidades mínimas de N y S (Liu et al., 2015). Se cree que la polimerización de compuestos orgánicos en vapores y gases puede conducir a la formación de carbón secundario y aumentar el rendimiento del sólido. Las condiciones de producción se eligen según las propiedades deseadas en el *biochar* (Weber & Quicker, 2018). Además de las condiciones del proceso, las características de la biomasa afectan el proceso de conversión y las propiedades del producto. Como se comentó anteriormente, la biomasa está compuesta principalmente por tres compuestos orgánicos: celulosa, hemicelulosa y lignina, y estos se comportan de manera diferente durante el tratamiento térmico, por lo que la proporción de cada uno de estos tres compuestos influirá directamente en el rendimiento y las propiedades del *biochar*, así como en las condiciones de tratamiento requeridas.

Debido a su gran área de superficie específica, estructura porosa, grupos funcionales de superficie y alto contenido mineral, el *biochar* se ha utilizado como combustible sólido (Wang et al., 2012), adsorbente de contaminantes del agua y del aire (Ahmad et al., 2014; Chen et al., 2011; Mohan et al., 2014), como catalizador para eliminar alquitran o producir biodiésel (Konwar et al., 2014; Shen, 2015), y como mejorador de suelos (Ahmad et al., 2014; Doumer et al., 2015; Lehmann et al., 2006; Lehmann & Joseph, 2015). El volumen y el tamaño de los poros, el área de superficie específica y el tamaño de partícula del *biochar* son parámetros clave para definir sus propiedades físicas. La formación de poros en el *biochar* está muy relacionada con la liberación de compuestos volátiles de la estructura polimérica de la biomasa (Chen et al., 2015). El contenido elevado de materia volátil en la biomasa podría promover el desarrollo de estructuras porosas y la reactividad del *biochar* (Pacioni et al., 2016). El área de superficie específica del *biochar* se define como la relación entre el área total de la superficie y la masa total de partículas de *biochar*, y está ampliamente relacionada con su porosidad. Las propiedades físicas del *biochar* pueden afectar sus propiedades químicas. Rollinson (2016) encontraron que un área de superficie más grande y un volumen mayor de microporos está relacionado con un mayor número de hidrocarburos aromáticos policíclicos en la superficie del *biochar*. El área de superficie específica y el volumen de poro del *biochar* están influenciados principalmente por las condiciones termoquímicas, como la temperatura, el tiempo de residencia y la velocidad de calentamiento. En el estudio realizado por Hansen et al. (2015) el

biochar producido a partir de paja de trigo presentó un área de superficie específica baja ($<60 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), mientras que el de madera dio áreas de superficie y contenidos de carbono más altos. Hansen et al. (2015) atribuyeron los resultados anteriores a que la madera requirió una temperatura de proceso más alta. Sin embargo, esta diferencia en las propiedades de la superficie entre los dos *biochar*s también podría deberse a la diferencia en las materias primas. Los autores también descubrieron que un alto contenido mineral en la biomasa puede reducir la superficie específica del *biochar* al bloquear los poros. Las propiedades químicas que son potencialmente relevantes para las aplicaciones de *biochar* incluyen contenido de carbono y cenizas, especies metálicas alcalinas y alcalinotérreas (por ejemplo, K, Na, Ca, Fe, y Mg), grupos funcionales, aromaticidad y pH. El contenido de cenizas en el *biochar* puede alcanzar hasta el 60 % en peso y generalmente es más alto que su materia prima debido a la pérdida de materias volátiles que ocasiona el enriquecimiento de componentes inorgánicos. Las concentraciones de elementos inorgánicos en el *biochar* de gasificación podrían ser hasta 1500 veces más altas que las de sus materias primas (Shen et al., 2016). Kim et al. (2016), encontraron que la mayoría de los elementos presentes en el *biochar* producido a partir de lodos de depuradora, se enriquecieron tres veces en las cenizas en comparación con el lodo sin tratar, mientras que la evaporación de partículas que se produjo a altas temperaturas para algunos elementos volátiles, como el Pb y el Zn, condujo a la reducción de sus concentraciones. Si la temperatura del proceso excede el punto de fusión de ciertos metales (por ejemplo, Zn, Cd, As, Se, K y Na), estos metales/metaloides podrían volatilizarse y estar en bajas concentraciones en el *biochar* (Shackley et al., 2012).

Actualmente, la aplicación de *biochar* al suelo está atrayendo mayor atención para la mejora sustentable de la calidad del suelo y el secuestro de carbono (Woolf et al., 2010). Debido a su alto contenido de carbono orgánico, el *biochar* tiene la capacidad de mejorar las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo. Como mejorador de suelo, el *biochar* actúa como un sumidero de CO_2 atmosférico, ayuda a retener N, S, P y Ca y materia orgánica en el suelo, esto último incrementa la cohesividad de las partículas y, por lo tanto, evita las pérdidas del suelo (J. Lehmann, 2007). Se han informado aumentos significativos en la germinación de semillas, el crecimiento de las plantas y los rendimientos de los cultivos en los suelos tratados con *biochar* (Chan et al., 2007a; Dou et al., 2012; Glaser et al., 2002; Novak; et al., 2009; Van Zwieten et al., 2010). Novak et al. (2009) informó que el uso de *biochar* al 2.0% en peso puede

mejorar significativamente la fertilidad del suelo arenoso al disminuir su acidez y aumentar su carbono orgánico junto con los contenidos de N, P, Ca, K y Mn. La aplicación de *biochar* en sinergia con biofertilizantes puede mejorar los rendimientos de los cultivos (Lehmann et al., 2002). Además, se ha observado un incremento de la población y la actividad microbiana en los suelos tratados con *biochar* (Lehmann et al., 2011; Verheijen et al., 2010). Los cambios en los consorcios microbianos del suelo y sus actividades enzimáticas influyen positivamente en los procesos biogeoquímicos de los suelos (Awad et al., 2012; Lehmann et al., 2011). Los efectos observados en el incremento de la fertilidad del suelo son explicados principalmente por un aumento de pH en suelos ácidos o una retención de nutrientes mejorada a través de la adsorción catiónica (Liang et al., 2006; Van Zwieten et al., 2010). La capacidad de retención de agua de los suelos incrementa cuando aumenta la cantidad de carbono orgánico. Glaser et al. (2002) informó un aumento aproximado del 18% en la capacidad de retención de agua de un suelo tratado con *biochar*. En general, el *biochar* tiene una estructura de carbono relativamente estructurada con un área de superficie media a alta, por lo que puede actuar como adsorbente, similar en algunos aspectos al carbón activado (Cao & Harris, 2010). El desarrollo de la porosidad durante la carbonización puede influir en el área de superficie del *biochar* (Novak et al., 2009). Sin embargo, todavía falta aclarar los cambios en las propiedades químicas de *biochar* por las condiciones de preparación/rendimiento. Debido a las propiedades mejoradoras de suelo con la adición de *biochar*, se ha observado una disminución de la lixiviación de nutrientes (Sohi et al., 2010). Generalmente el *biochar* posee un pH neutro a alcalino, sin embargo, también se ha reportado la producción de *biochar* con pH ácido (Chan et al., 2007b). El pH del *biochar* depende factores como el tipo de materia prima y las condiciones del proceso termoquímico de producción; por ejemplo, temperaturas altas de pirólisis conducen a valores elevados de pH (Alotaibi & Schoenau, 2019; Ghodake et al., 2021; Kavitha et al., 2018; Kloss et al., 2014; Novak et al., 2009; Peiris et al., 2019). Por lo general, el *biochar* producido a temperaturas menores de 450 °C desarrolla más grupos funcionales superficiales que el que se produce por encima de 500 °C, algunos de estos grupos funcionales, particularmente los grupos que contienen oxígeno, como el carboxilo, son débilmente ácidos (Glaser et al., 2004; Shen; et al., 2017; Yuan; et al., 2011). Van Zwieten et al. (2010) determinaron que el *biochar* derivado de los residuos de las fábricas de papel pirolizado a 550°C posee un valor de encalado de alrededor del 30% de CaCO₃.

Diferentes organizaciones han propuesto un conjunto de características con el objetivo de definir la calidad del *biochar* para su uso en agricultura. La *International Biochar Initiative (IBI)*, postula que el *biochar* debe tener un alto contenido de carbono condensando, por lo que la cantidad de este en el producto es un indicador de su calidad.

En la Tabla 5 se muestra la clasificación de *biochar*, según la *IBI* (2015), en función del porcentaje de carbono orgánico total (COT %) que el producto sólido tenga. Es importante mencionar que esta entidad propone otras características básicas para la clasificación de *biochar* como el tamaño de la partícula, proporciones elementales (H/C_{org}), pH y disponibilidad de P, K, S y Mg.

Tabla 5. Clasificación internacional de *biochar* de acuerdo al contenido de COT.
Fuente: *IBI* (2015).

CLASE	COT (%)
I	>60
II	30-60
III	10-30

3.5 Fitohormonas

Las auxinas fueron las primeras fitohormonas en ser identificadas, caracterizadas por inducir la elongación, división y diferenciación celular. Es el ácido indol acético (AIA), la principal auxina presente en la mayoría de las plantas (Srivastava, 2002) (Figura 5).

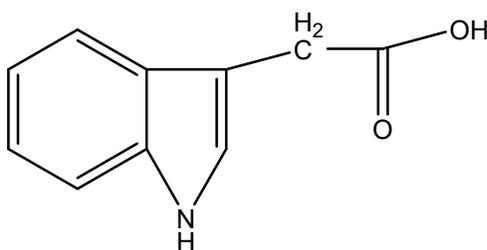
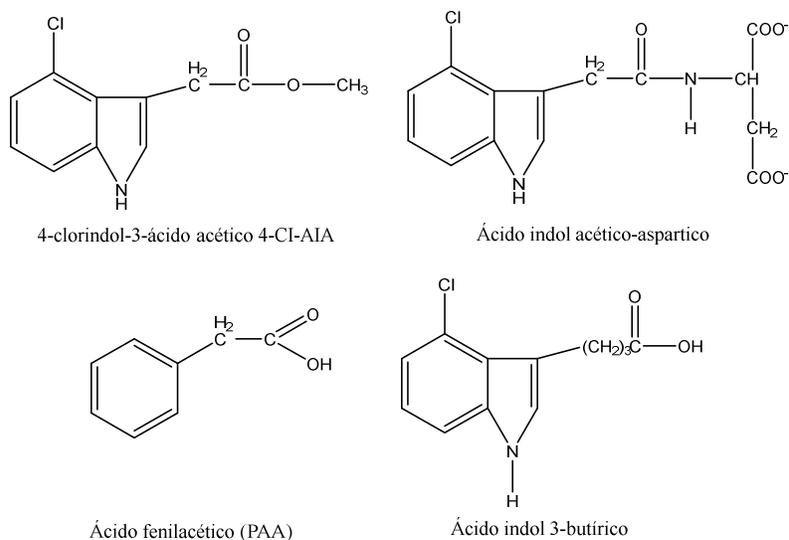


Figura 5. Estructura del ácido indol acético.
Fuente: Modificado de Rojas et al. (2012).

La estructura química básica de las auxinas se compone de un grupo indol, por lo que es fácil encontrar en las plantas otros compuestos con estructura similar (Figura 6); sin embargo, también se encuentran algunos compuestos fenoxiacéticos, benzoicos o picolínicos con actividad auxínica (Rojas et al., 2012).



*Figura 6. Auxinas naturales.
Fuente: Rojas et al. (2012).*

Las auxinas se encuentran en mayor cantidad en las partes de la planta donde se presentan procesos activos de división celular, lo cual se relaciona con la elongación de tallos y coleóptilos, formación de raíces adventicias, inducción de floración, diferenciación vascular, algunos tropismos y promoción de la dominancia apical (McSteen & Zhao, 2008). Se encuentran en las células en concentraciones de 10^{-6} a 10^{-8} M, y su distribución dentro de los tejidos está sujeta a los principios del transporte polar (más lento) y no polar (más rápido) (Srivastava, 2002). Cuando la concentración de estos compuestos aumenta por encima de los límites anteriores, inhiben la elongación de la raíz, la razón es un estímulo en la producción de etileno, mientras que a bajas concentraciones estimulan la elongación de los brotes y las raíces (Salisbury et al., 1994). Dado que los niveles endógenos de auxinas son mucho mayores en tejidos jóvenes, es razonable sospechar que este es su sitio de síntesis. Actualmente, se conocen tres vías para la síntesis del AIA (Taiz & Zeiger, 2006). La primera es a partir de la decarboxilación del triptófano a triptamina (ruta de la triptamina, TAM), produce una serie de reacciones enzimáticas que originan indol-3-acetaldehído (IAAId), el cual es oxidado por la IAA deshidrogenasa convirtiéndolo en ácido 3-indol acético (Figura7). La segunda ruta parte de la síntesis del indol 3-piruvato (IPA), estrechamente relacionada con la ruta TAM, ya que su precursor es la TAM, la cual es convertida por la Trp aminotransferasa a indol 3-piruvato, que luego es decarboxilado para formar IAAId, que es convertido en ácido 3-indol acético. La

tercera ruta, parte de la conversión del triptófano en indol 3 acetaldoina (IAOx), y luego este en indol 3-acetonitrilo (IAN), que finalmente es transformado ácido 3-indol acético (Figura 7).

Las auxinas se sintetizan principalmente en el ápice del tallo, en las yemas, ramas jóvenes y en general en los meristemos. Ayudan a que los tallos débiles se desarrollen y a que se formen raíces adicionales de soporte para complementar el sistema radicular (Salisbury et al., 1994; Somers et al., 2005). Sin embargo, se ha observado que un exceso en la aplicación de auxinas como AIA o AIB, pueden producir efectos tóxicos o inhibitorios frenando el desarrollo de nuevas raíces, como se mencionó anteriormente, presentando un efecto negativo sobre el crecimiento de ápices caulinares y coleótilos (Lee et al., 2004; Rasul, 1999).

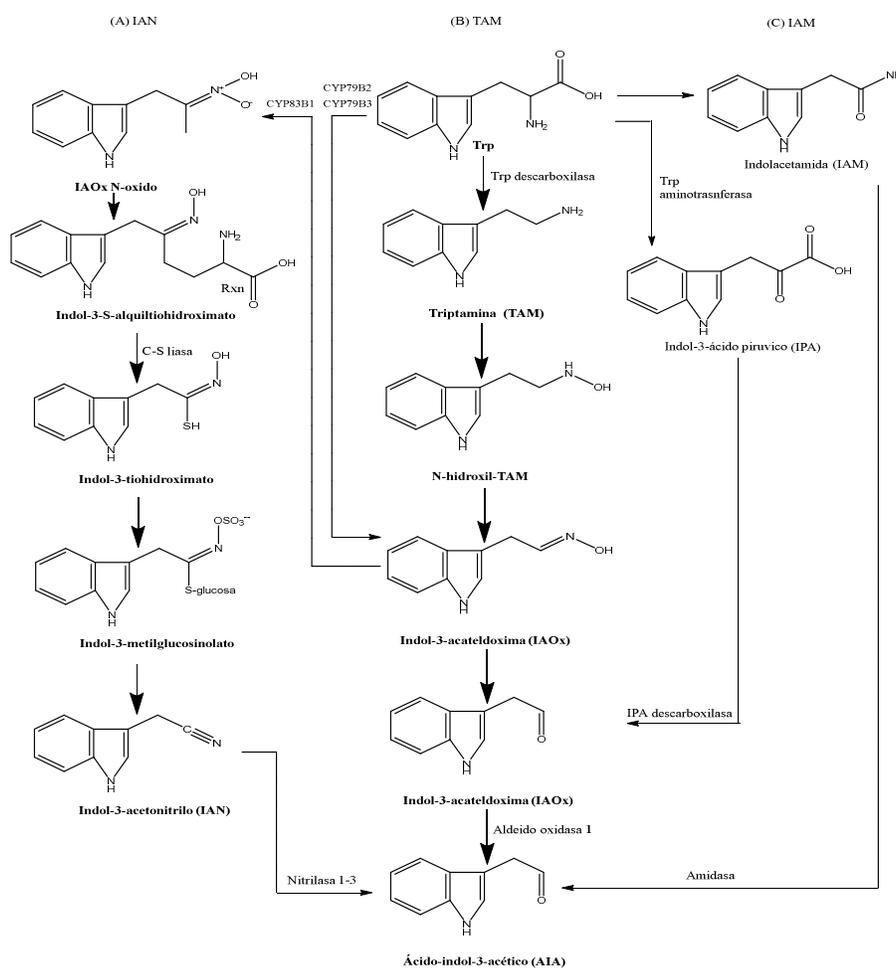
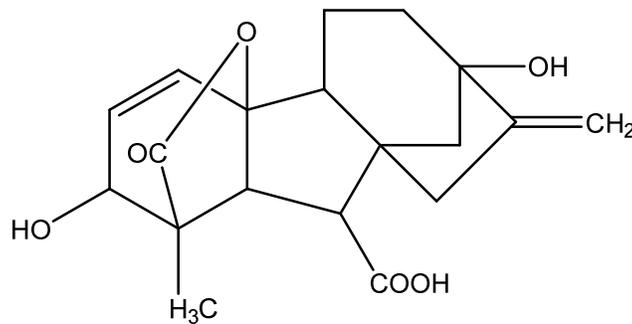


Figura 7. Biosíntesis de AIA en platas.
Fuente: Modificado de Taiz and Zeiger (2006).

Desde el punto de vista químico, las giberelinas (Figura 8) constituyen una familia de diterpenos tetracíclicos ácidos cuyo esqueleto está constituido por un anillo ent-giberelano de 20 o 19 átomos de carbono. Sin embargo, a nivel fisiológico, las giberelinas son ácidos diterpenoides basados en el giberelano que se definen más por su estructura que por su actividad biológica, contrario a lo que ocurre con las auxinas y las citoquininas (Yamaguchi et al., 2000). Las giberelinas biológicamente activas, actúan como reguladores esenciales del desarrollo de las plantas y cubren todos los aspectos de la historia de vida de las plantas, modulando varias respuestas del crecimiento como la germinación de semillas. Entre sus principales funciones destacan la inducción de la floración, inducción del crecimiento del tallo, estimulación de la germinación y el crecimiento, aumento del tamaño de los frutos y mejora de su presentación, debido a que incrementan la hidrólisis del almidón, fructanos y sacarosa, con lo que se originan moléculas de fructosa y glucosa (Celis et al., 2008). Así mismo, las giberelinas sustituyen los requerimientos de luz o frío que precisan muchas de las semillas para germinar (Azcón-Bieto & Talón, 2000; Salisbury et al., 1994). Únicamente las giberelinas biológicamente activas pueden cumplir con las funciones antes mencionadas, las giberelinas no bioactivas existen en el tejido vegetal como precursores de las formas bioactivas o como metabolitos desactivados.



*Figura 8. Estructura del ácido giberélico (AG₃).
Fuente: Modificado de Aruhiza (2013).*

La biosíntesis de giberelinas se divide en tres etapas, dependiendo de su localización celular y las características de las enzimas que participan en el proceso de síntesis. La primera etapa se localiza en los plastidios y consiste en la conversión de geranylgeranyl difosfato (GGDP) a ent-kaureno, por acción de la enzima ent-kaureno sintetasa, el GGDP se sintetiza a través de la ruta del ácido mevalónico (MVA) en el citoplasma, mientras que la no dependiente de MVA ocurre en el cloroplasto. La segunda etapa se lleva a cabo en el retículo

endoplasmático y consiste en la síntesis de GA12 a partir de ent-kaureno; está catalizada por dos monooxigenasas de membrana dependientes de NADPH: la ent-kaureno oxidasa y ácido ent-kaurenoico oxidasa (KAO), cada una de las cuales cataliza tres pasos metabólicos consecutivos. La tercera etapa tiene lugar en el citoplasma y en ella intervienen dioxigenasas solubles dependientes de 2-ceto-glutarato y Fe^{+2} .

CAPÍTULO 4

Planteamiento del Problema

Los suelos escasos de nutrientes de las zonas semiáridas del estado de Hidalgo representan un problema ambiental, social y económico, que tiende a agravarse por la distribución cada vez más errática del agua y las variaciones extremas de temperatura a causa del cambio climático. Por otra parte, la creciente generación de residuos orgánicos y su disposición inadecuada representan también una problemática compleja con implicaciones ambientales, sanitarias y sociales. Dado lo anterior, surge la necesidad de proponer alternativas de aprovechamiento de estos residuos, que contribuyan a mejorar las características del suelo, disminuyan el impacto ambiental y sean técnicamente factibles y económicamente rentables.

Justificación

Con el progreso de la sociedad y el desarrollo de la economía, los problemas ambientales y la escasez de los recursos se vuelven cada vez más importantes. La mayoría de los países están buscando el desarrollo de tecnologías sustentables y limpias, que además de ayudar a contrarrestar los efectos negativos del cambio climático, contribuyan con el desarrollo económico y social de los países. Los bioproductos se han considerado como el punto clave de una nueva tendencia sustentable de desarrollo en el mundo.

La biomasa lignocelulósica es el recurso orgánico renovable más abundante y disponible en la superficie de la Tierra; gran parte de esta biomasa se desecha como residuo de actividades agrícolas, industriales y comerciales. Existe una amplia variedad de procesos para aprovechar la biomasa como fuente de energía y como insumo para la obtención de una gran variedad de bienes. Entre estos últimos se encuentra el *biochar*, bioproducto que contribuye al mejoramiento de los suelos y a incrementar el aprovechamiento de los nutrientes por los cultivos. Lo anterior se traduce en una mayor sustentabilidad en la agricultura porque se reciclan los residuos de manera benéfica y se disminuye la cantidad necesaria de fertilizantes químicos, con lo cual se minimizan los impactos ambientales que causan tanto los residuos

como los fertilizantes. También puede haber un impacto económico positivo ya que la producción de *biochar* genera ganancias y su uso representa un ahorro para los agricultores, porque en general es más económico que los insumos agrícolas químicos. Adicionalmente, la producción de *biochar* también puede repercutir en la seguridad alimentaria toda vez puede ser producido para autoconsumo por los mismos productores agrícolas o bien, puede ser una fuente de empleos si se produce a gran escala. Por ello, en este trabajo se propone aprovechar o valorizar los residuos de *A. salmiana* en un esquema de economía circular para así obtener mejoradores de suelo.

CAPÍTULO 5

Objetivo general

Evaluar teórica y experimentalmente un método biológico y uno termoquímico para para obtener mejoradores de suelo a partir de residuos de *Agave salmiana* en un esquema de economía circular.

Objetivos específicos

Determinar el potencial teórico de metano de los residuos de *A. salmiana* inoculados con excretas de conejo a partir de su composición química, para determinar la opción más adecuada para su digestión.

Diseñar y construir un gasificador para valorizar los residuos de *A. salmiana* a través de un método termoquímico para la obtención de biochar.

Evaluar la aptitud del *biochar* de *A. salmiana*, como mejorador de suelo, mediante el análisis de sus características fisicoquímicas, de toxicidad y permanencia en el ambiente.

Hipótesis

El contenido de azúcares fermentables y el carácter lignocelulósico de los residuos de *A. salmiana* hacen posible su valorización ya sea a través de procesos biológicos, como la digestión anaerobia, o bien termoquímicos, como la gasificación, para obtener mejoradores de suelo en un esquema de economía circular.

CAPÍTULO 6

Diseño Experimental de la Investigación

La presente investigación se realizó con la finalidad de evaluar diferentes procesos para valorizar los residuos de *Agave salmiana*, para ello se organizó el trabajo tres etapas, las cuales se describen a continuación:

En la primera etapa se caracterizaron fisicoquímicamente los residuos de agave y las excretas de conejo, y se realizó una prueba de biodegradabilidad para determinar teórica y experimentalmente la factibilidad técnica de tratar los residuos de agave mediante una fermentación anaerobia. La metodología empleada y los resultados obtenidos en esta etapa se presentan en el Capítulo 7.

En la segunda etapa (Capítulo 8), se evaluó la gasificación como alternativa termoquímica para valorizar los residuos de agave. Para ello, se diseñó y construyó un gasificador; se preparó la biomasa mediante operaciones de reducción de tamaño y secado; luego se gasificó; y finalmente se evaluó fisicoquímicamente el biochar obtenido. Vale la pena mencionar que se probó la gasificación tanto de las pencas de maguey cortadas en trozos, como del bagazo del maguey después de extraerle el jugo a la peca. Para esta etapa se recolectaron pencas de maguey de los camellones de la ciudad y de jales mineros. Esto último se hizo con la finalidad de evaluar la capacidad del maguey para acumular metales tóxicos presentes en el suelo y la presencia de dichos metales en el biochar.

La tercera etapa, que se presenta en el Capítulo 9, consistió en evaluar la posible toxicidad del *biochar* mediante pruebas de germinación, así como el efecto del mismo en la producción de fitohormonas (auxinas y giberelinas) y sobre algunos grupos microbianos (mesófilos aerobios, *Escherichia coli* y coliformes totales). También se monitoreó el efecto del biochar sobre el pH y la conductividad eléctrica del suelo durante los seis meses posteriores a su aplicación. Para las pruebas anteriores se oxidó previamente el biochar con la finalidad de disminuir su pH.

CAPÍTULO 7

Evaluación Teórica del Potencial Energético de los Residuos de *A. salmiana*

7.1 Caracterización fisicoquímica de los residuos de *A. salmiana* y de las excretas de conejo

Los residuos de *A. salmiana* y las excretas de conejo, fueron caracterizados mediante las siguientes determinaciones: humedad y cenizas, por el método gravimétrico (APHA, AWWA, WEF, 2012); composición elemental (C, N, H y O) en un analizador elemental Serie II CHNS/O 2400 (Perkin Elmer, EUA), contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC por sus siglas en inglés) (Alliance Waters, EUA); la demanda química de oxígeno (DQO) por el método 5220 (APHA, AWWA, WEF, 2012); demanda bioquímica de oxígeno (DBO5) mediante el sistema OxiTop® (WTW®, Alemania); contenido de nitrógeno total (NT) por el método micro Kjeldahl; carbono orgánico total por el método Walky & Black (García y Ballesteros, 2005), fósforo por el procedimiento de Bray y Kurtz para *A. salmiana*, mientras que para las excretas de conejo se empleó el procedimiento de Olsen y Sommers (SEMARNAT, 2002); sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) mediante el método 2540-E, y pH por el método 4500 reportados en APHA, AWWA, WEF (2012). También se cuantificó la concentración de los siguientes elementos químicos: Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Na, Ni, Zn, Cd, Cr y Pb por espectrofotometría de absorción atómica (EAA, Spectra 800 Varian, Australia).

7.2 Resultados y discusión

Como se puede observar en la Tabla 6, el contenido de humedad de *A. salmiana* (82.3%) no corresponde a los valores reportados en la literatura científica (6.52, 7.36, 6.44) (Chávez-Guerrero & Hinojosa, 2010; Heredia et al., 2014; Liñán-Montes et al., 2014). Esto se debe a que, en los estudios citados, la humedad la determinaron en el bagazo, y no en la penca completa, como fue el caso de este estudio. El porcentaje de sólidos volátiles de *A. salmiana* (83.3%) es comparable con los valores reportados por Liñán-Montes et al. (2014) (78.1%).

Los resultados anteriores indican que el contenido de cenizas de *A. salmiana* es bajo (16.7%), lo cual sería una ventaja en caso de ser usado como combustible sólido. Esto es importante también en la producción del biochar, donde la materia prima es la fuente de energía.

El análisis elemental (Tabla 6) proporcionó el porcentaje en peso de los elementos C (36.3%), H (5.6%) y N (0.25%). El porcentaje de oxígeno (39.9%) se calculó por diferencia. Los valores obtenidos fueron similares a los reportados por Liñán-Montes et al. (2014) (C: 41.25%; H: 5.96%; O: 43.14%; N: 2.00%). A mayor contenido de H y O, se observa un mayor contenido de energía (Keiluweit et al., 2010; Rutherford et al., 2005).

La hemicelulosa, la celulosa y la lignina son los tres principales constituyentes poliméricos de la biomasa, sin embargo, sus estructuras químicas y su estabilidad térmica difieren considerablemente, lo cual es importante tener en cuenta cuando se va a tratar térmicamente la biomasa. Para el caso de *A. salmiana*, los resultados obtenidos fueron de 14.6% para la celulosa, 17.3% para la hemicelulosa y 13.6% para la lignina (Tabla 6). Estos valores difieren en gran medida de los reportados por Flores-Sahagún et al. (2013) (Celulosa: 73.6%; Lignina: 21.1%) y Liñán-Montes et al. (2014) (Celulosa: 41.86; Hemicelulosa: 4.41; Lignina: 7.04). Estas variaciones se deben principalmente a la edad de la planta y a la parte de la penca analizada. La celulosa y la hemicelulosa que consisten en monómeros de azúcares simples se descomponen a temperaturas inferiores a 450 °C, principalmente en compuestos de peso molecular bajo que se liberan en forma de vapores pirolíticos. Por el contrario, la lignina es un polímero amorfo e hidrófobo con un gran peso molecular superior a 10,000 g mol⁻¹, que consta de numerosos grupos funcionales que contienen subestructuras aromáticas de carbono. Durante la pirólisis, la lignina se descompone lentamente en un amplio rango de temperatura y contribuye más a la formación de *biochar*, dejando carbones aromáticos condensados con grupos funcionales reducidos. Cagnon et al. (2009) reportaron que el rendimiento de material carbonizado es de 23.5 % para hemicelulosa, 19 % para celulosa y 45 % para lignina.

El N es esencial en la síntesis de proteínas, purinas, pirimidinas y quitina (polisacárido presente en la pared celular de muchos hongos que también contiene N) (Chang & Miles, 2004). En el análisis practicado a los residuos de *A. salmiana* se encontraron concentraciones bajas (0.05%) de N (Tabla 6).

La relación DBO₅/DQO de *A. salmiana* (0.75, Tabla 6) indicó que *A. salmiana* es un sustrato altamente biodegradable bajo condiciones aerobias. Por el contrario, las excretas de

conejo presentaron una relación DBO₅/DQO de 0.13, lo que señala que son poco biodegradables bajo estas condiciones. No obstante, que el tipo de tratamiento que se propone es anaerobio, el valor de la relación DBO₅/DQO es útil, porque indica que el sustrato contiene una cantidad importante de materia orgánica biodegradable; por otra parte, el papel de las excretas en el proceso de digestión anaerobia es el de aportar los microorganismos necesarios para llevar a cabo la digestión del sustrato, por lo que su biodegradabilidad no es medular. Otro aspecto a considerar para digerir anaerobiamente los residuos de *A. salmiana*, debido es su contenido de humedad; para llevar a cabo una digestión húmeda se deberá agregar agua o bien emplear un cosustrato que aporte el agua necesaria. Es por esta razón, que el análisis teórico se llevó a cabo empleando una mezcla de 41% de *A. salmiana* y 59% de *Opuntia heliabravoana*.

También es evidente que *A. salmiana* tiene contenidos muy bajos de K, Mn y Ni (Tabla 6). Estos tres elementos son esenciales para las plantas, por lo que su presencia en un biofertilizante es importante. En caso de obtener un biofertilizante a partir de *A. salmiana*, estos elementos pueden aportarse de manera exógena o hacerlo con un cosustrato. Los cladodios de *O. heliabravoana* son un cosustrato que cumple con los requisitos en cuanto a contenidos de agua, K, Mn y Ni, además es otro residuo que se genera en el estado de Hidalgo.

Es importante mencionar que los elementos tóxicos evaluados cadmio, cromo y plomo, se encontraron por debajo del límite de detección (Pb= 0.015 mg kg⁻¹, Cd= 0.008 mg kg⁻¹ y Ni= 0.0042 mg kg⁻¹) tanto en las pencas de *A. salmiana*, colectadas en los camellones de la ciudad, como en las excretas de conejo. Este es un aspecto importante, ya que la presencia de metales tóxicos limita el uso de algunos sustratos para obtener biofertilizantes o mejoradores de suelo como *biochar*.

Tabla 6. Caracterización de los residuos de *A. salmiana* y excretas de conejo.

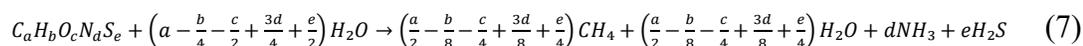
Determinación		Resultado	
		<i>A. salmiana</i>	Excretas de conejo
Humedad (%)		82.3 ± 1.4	28 ± 0.9
Cenizas (%)		16.7 ± 0.3	12.4 ± 0.3
Análisis elemental (%)	C	36.3	ND
	H	5.6	ND
	O	39.9	ND

Determinación		Resultado	
		<i>A. salmiana</i>	Excretas de conejo
	N	0.25	ND
Celulosa (%)		14.6 ± 0.1	ND
Hemicelulosa (%)		17.3 ± 0.1	ND
Lignina (%)		13.6 ± 0.01	ND
DQO (mgO ₂ L ⁻¹)		778,646 ± 19,604	275,022 ± 6025
DBO ₅ (mgO ₂ L ⁻¹)		581,000 ± 18,385	36,600 ± 3,960
Relación DBO ₅ /DQO		0.75	0.13
Nitrógeno Total (mg kg ⁻¹)		468 ± 14.7	1,590 ± 104
Carbono orgánico total (%)		53,144 ± 1373	69,193 ± 3580
Fósforo (mg kg ⁻¹)		2.1 ± 0.5	ND
Sólidos totales (%)		17.7 ± 1.4	72 ± 0.9
Sólidos volátiles (%)		83.3 ± 0.3	87.6 ± 0.3
pH		5.0	8.5
Metales (mg/kg)	Ca	3529 ± 4027	145 ± 18.6
	Mg	13639 ± 3876	<LD
	K	<LD	<LD
	Cu	6.6 ± 2.4	69 ± 3
	Fe	238 ± 6.6	<LD
	Mn	<LD	400 ± 23.1
	Na	61.6 ± 8.2	1613 ± 174
	Ni	<LD	<LD
	Zn	9.2 ± 1.2	865 ± 73.3
	Cd	<LD	<LD
	Cr	<LD	<LD
Pb	<LD	<LD	

Valores de LD: Pb= 0.015 mg kg⁻¹, Cd= 0.008 mg kg⁻¹ y Ni= 0.0042 mg kg⁻¹

7.3 Producción teórica de biogás

Si se conoce la composición química de un residuo se puede calcular teóricamente la cantidad de CH₄ que producirá aplicando la fórmula estequiométrica (7) propuesta por Boyle (1952) (Achinas & Euverink, 2016):



de forma simplificada se tiene la ecuación (8)



Donde:

$A, B = \text{reactivos}$

$C, D, E, F = \text{productos}$

las ecuaciones que determinan los coeficientes $C_1 - C_5$ son las siguientes:

$$C_1 = a - \frac{b}{4} - \frac{c}{2} + \frac{3}{d} + \frac{e}{2} \quad (9)$$

$$C_2 = \frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - \frac{3d}{8} - \frac{e}{4} \quad (10)$$

$$C_3 = \frac{a}{2} - \frac{b}{8} + \frac{c}{4} + \frac{3d}{8} + \frac{e}{4} \quad (11)$$

$$C_4 = d \quad (12)$$

$$C_5 = e \quad (13)$$

La ecuación (8) se encuentra en equilibrio y se puede aplicar a cualquier residuo con concentraciones conocidas de C, H, O, N y S. El modelo supone que estos elementos son los únicos componentes de la materia prima. La constante de cada elemento es igual al valor del análisis elemental dividido por la masa molar del elemento, por lo tanto el análisis final da relaciones de masa C:H:O:N:S (en gramos) que luego se definen como variables:

$$a = \frac{\% C}{mm_C} = \frac{\% C}{12.0107} \quad (14)$$

$$b = \frac{\% H}{mm_H} = \frac{\% H}{1.0079} \quad (15)$$

$$c = \frac{\% O}{mm_O} = \frac{\% O}{15.999} \quad (16)$$

$$d = \frac{\% N}{mm_N} = \frac{\% N}{14.0067} \quad (17)$$

$$e = \frac{\% S}{mm_S} = \frac{\% S}{32.065} \quad (18)$$

Para evaluar la producción teórica de metano (TBMP, por sus siglas en inglés), se usaron los datos de la composición elemental de los residuos de *A. salmiana*, los cuales se sustituyeron en la fórmula (19) reportada por Achinas and Euverink (2016). Asimismo, se evaluó el TBMP de los residuos de *O. heliabravoana* y también el de ambos residuos en codigestión. Lo anterior se realizó sustituyendo los valores de la Tabla 7 en la fórmula (19).

$$\text{TBMP (ml } CH_4 \text{ gVS}^{-1}) = \frac{22.4 \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - \frac{3c}{8} - \frac{e}{4} \right)}{12.017a + 1.0079b + 15.999c + 14.0067d + 32.065e} \quad (19)$$

Para ello, se consideraron los siguientes supuestos iniciales: temperatura constante y mezcla perfecta; condiciones bacterianas ideales, lo que significa una digestión completa; que

el sustrato contiene únicamente C, H, O, N y S; los productos de reacción solo incluyen CH₄, CO₂, NH₃ y H₂S, y que no existe acumulación de residuos.

Tabla 7. Valores de *A. salmiana* y *O. heliabravoana* empleados en la evaluación de la TBMP.

Elemento	Análisis elemental (%)			Masa molar	Constante	<i>A. salmiana</i>	<i>O. heliabravoana</i>	Cosustrato
	<i>A. salmiana</i>	<i>O. heliabravoana</i>	Cosustrato					
C	36.33	35.10	35.60	12.01	<i>A</i>	3.02	2.92	2.96
H	5.57	4.40	4.90	1.01	<i>B</i>	5.52	4.37	4.84
O	39.90	41.30	40.70	15.10	<i>C</i>	2.49	2.58	2.55
N	0.25	0.50	0.40	14.01	<i>D</i>	0.00	0.04	0.03
S	0.007	0.006	0.0	32.01	<i>E</i>	0.0002	0.0002	0.0002

Sustituyendo en la fórmula (19), para *A. salmiana* se tiene:

$$TBMP_{thAtC} = \frac{22.4 \left(\frac{3.024}{2} + \frac{5.526}{8} - \frac{2.493}{4} - \frac{(3 * 0.017)}{8} - \frac{0.0002}{4} \right)}{(12.017 * 3.024) + (1.0079 * 5.526) + (15.999 * 2.493) + (14.0067 * 0.017) + (32.065 * 0.0002)}$$

$$= 0.43 * 1000 * 0.60 = 258 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}$$

Aplicando la fórmula (14) para *O. heliabravoana* se tiene:

$$TBMP_{thAtC} = \frac{22.4 \left(\frac{2.922}{2} + \frac{4.366}{8} - \frac{2.581}{4} - \frac{(3 * 0.036)}{8} - \frac{0.0002}{4} \right)}{(12.017 * 2.922) + (1.0079 * 4.366) + (15.999 * 2.581) + (14.0067 * 0.036) + (32.065 * 0.0002)}$$

$$= 0.37 * 1000 * 0.60 = 237 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}$$

Aplicando la fórmula (14) para la mezcla de cosustratos se tiene:

$$TBMP_{thAtC} = \frac{22.4 \left(\frac{2.964}{2} + \frac{4.842}{8} - \frac{2.546}{4} - \frac{(3 * 0.028)}{8} - \frac{0.0002}{4} \right)}{(12.017 * 2.964) + (1.0079 * 4.842) + (15.999 * 2.546) + (14.0067 * 0.028) + (32.065 * 0.0002)}$$

$$= 0.4 * 1000 * 0.60 = 223 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}$$

El volumen de metano (y en general de los gases ideales) por mol en condiciones estándar (0°C y 1atm) es de 22.4 L, que corresponde al valor del coeficiente del numerador de la ecuación (8).

Retomando la fórmula (8), se puede calcular la masa molar (*mm*) tanto de los reactivos como de los productos. Para ello, se sustituyen A, B, C, D, E y F por los compuestos participantes en una digestión anaerobia, de manera que la ecuación (8) queda de la siguiente manera:



y se aplican las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned}
 mm_A &= a * mm_C + b * mm_H + c * mm_O + d * mm_N + emm_S \\
 &= 12.017a + 1.0079b + 15.999c + 14.0067d + 32.065e \frac{g}{mol} \\
 mm_B &= 2 * mm_H + 1 * mm_O = 2 * 1.0079 + 1 * 15.999 = 18.0158 \frac{g}{mol} \\
 mm_C &= 1 * mm_C + 4 * mm_H = 1 * 12.017 + 1 * 1.0079 = 16.04 \frac{g}{mol} \\
 mm_D &= 1 * mm_C + 2 * mm_O = 1 * 12.017 + 1 * 15.999 = 44.02 \frac{g}{mol} \\
 mm_E &= 3 * mm_H + 1 * mm_N = 1 * 1.0079 + 1 * 14.0067 = 17.03 \frac{g}{mol} \\
 mm_F &= 2 * mm_H + 1 * mm_S = 2 * 1.0079 + 1 * 32.65 = 34.08 \frac{g}{mol}
 \end{aligned}$$

7.4 Resultados y discusión

De acuerdo con los cálculos teóricos, empleando *A. salmiana* como único sustrato se obtiene el mayor rendimiento de CH₄ (258 mL CH₄ g⁻¹ SV), incluso mayor que con *O. heliabravoana* como único sustrato (237 mL CH₄ g⁻¹ SV), mientras que con la mezcla de cosustratos se logra una menor producción (223 mL CH₄ g⁻¹ SV). Se comprobó que la producción teórica obtenida con *O. heliabravoana* como sustrato es semejante a la reportada por Quintanar-Orozco et al. (2018) (257 mL CH₄ g⁻¹ SV) al término de 85 días. Ramos-Suárez et al. (2014) obtuvieron 302 mL CH₄ g⁻¹ SV de la digestión de *O. maxima* durante 40 días en biorreactores mesofílicos (37°C). Es importante mencionar que se tomó en cuenta un factor de corrección del 60% para ajustar la cantidad de gas producido en condiciones reales con respecto a las condiciones ideales que se mencionaron anteriormente en los supuestos. En la fórmula tampoco se consideran las deficiencias del macronutriente K y de los micronutrientes Mn y Ni que *A. salmiana* presenta y que podrían afectar a la microbiota del proceso, dado el carácter esencial de estos elementos.

Además de las consideraciones anteriores para evaluar más objetivamente el rendimiento teórico de metano que se obtuvo con *A. salmiana*, es importante tener en mente las ventajas que ofrece la codigestión de residuos orgánicos: la escala económica puede aumentar a medida que aumenta la cantidad de desechos empleados, los compuestos inhibidores se diluyen, la diversidad de especies bacterianas aumenta y ayuda a estabilizar el sistema digestor (Callaghan et al., 2002; Gelegenis et al., 2007).

7.5 Simulación para las pruebas de biodegradabilidad

Una vez calculada la producción teórica de metano, se realizó una simulación empleando el software Biodigestor Pro (versión 3.5, Aqualimpia Engineering e.K, Alemania).

El software Biodigestor-Pro, empleado para el dimensionamiento y diseño de biodigestores permite el ingreso de hasta 5 tipos de estiércoles mezclados con otros tipos de biomasa y aguas residuales. Permite el ingreso de más de 10 tipos diferentes de biomasa en una corrida del programa como sustrato para alimentar los biodigestores. Permite la selección de biodigestores sobre tierra, bajo tierra y bajo tierra con terraplén. Calcula la producción de biogás, energía eléctrica y potencia a instalar (kW) para digerir varios tipos de biomasa. Incluye una base de datos de más de 100 tipos de biomasa y 20 tipos de estiércol, con sus respectivos valores de masa seca y masa volátil. Presenta el dimensionamiento y prediseño del biodigestor. Se utiliza como una herramienta precisa para el diseño de biodigestores, presupuesto detallado y memoria de cálculo, calcula la producción biofertilizante, potencial energético de diferentes sustratos (biomasa, desechos orgánicos, estiércol, etc.), el presupuesto estimado de construcción y un análisis costo beneficio, además de la tasa interna de retorno (TIR).

Con la simulación en Biodigestor-Pro fue posible determinar el dimensionamiento y los parámetros de operación del biorreactor, incluida, la carga orgánica volumétrica (COV) y el tiempo de retención hidráulica (TRH), recomendables para digerir los residuos de *Agave*, así como para tener una estimación de la producción y composición del biogás. El tiempo de retención hidráulica (TRH) de 34 días y la carga orgánica volumétrica (COV) de 2.34 kg/m³·d fueron seleccionados como parámetros operativos para este estudio debido a su adecuación para la degradación de biomasa lignocelulósica, como la proveniente de *Agave salmiana*. La elección del TRH se fundamentó en proporcionar un tiempo suficiente para garantizar una conversión eficiente de la materia orgánica en biogás, maximizando la producción de metano y minimizando la acumulación de inhibidores como ácidos grasos volátiles. La COV, por su parte, se determinó para equilibrar la cantidad de sustrato introducido al sistema con la capacidad del reactor para procesarlo sin comprometer su estabilidad.

Es importante resaltar que, dado que el programa utilizado no cuenta en su base de datos con parámetros específicos para *A. salmiana*, se empleó como referencia el modelo para "restos de verduras", ajustando posteriormente las condiciones al comportamiento

característico del agave. Este enfoque permitió modelar el proceso de manera aproximada, adaptándolo a las propiedades únicas del residuo en estudio. La estrategia asegura la estabilidad del sistema, optimiza la eficiencia del proceso y permite obtener resultados reproducibles en condiciones similares. Además, se incorporó el nopal (*Opuntia heliabravoana*) como cosustrato en la simulación, debido a su alto contenido de agua y los nutrientes esenciales que aporta, los cuales favorecen la biodisponibilidad de elementos clave y contribuyen a un mejor equilibrio en el proceso de digestión. Este enfoque permitió modelar un sistema óptimo, adaptado a las características de los sustratos empleados, garantizando tanto la estabilidad como la eficiencia del proceso de digestión anaerobia. La elección de las excretas de conejo como inoculante en un proceso de digestión anaerobia responde a una serie de factores que la convierten en una opción adecuada para optimizar la producción de biogás y mejorar la eficiencia del sistema. En primer lugar, las excretas de conejo contienen una gran cantidad de microorganismos metanogénicos que juegan un papel esencial en la descomposición de la materia orgánica para la generación de metano. Estos microorganismos, en alta concentración, permiten una rápida adaptación al medio del biorreactor y favorecen una actividad biológica intensa desde las primeras etapas del proceso, lo que resulta en un aumento en la producción de biogás.

Por otro lado, las excretas de conejo presentan un perfil nutricional que incluye nitrógeno, fósforo, potasio y otros elementos que funcionan como nutrientes necesarios para los microorganismos dentro del digester. Esta composición contribuye a un control adecuado del pH y a la estabilidad del sistema, al reducir la acumulación de ácidos grasos volátiles que, en concentraciones elevadas, podrían inhibir la actividad microbiana.

Asimismo, las excretas de conejo representan una alternativa viable y económica en comparación con otros inoculantes. La cría de conejos es común en diversos contextos agrícolas y de pequeña escala, lo que asegura un suministro constante de excreta para el proceso a un costo reducido. Además, estas excretas presentan una menor cantidad de compuestos inhibidores, como metales pesados o sustancias tóxicas, en comparación con otros residuos de origen animal. Esto reduce el riesgo de contaminación en el proceso y permite obtener un digestado de buena calidad, que puede aprovecharse como biofertilizante. Los valores de entrada usados en el software se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Resumen de sustrato para la alimentación del biodigestor.

Animal		PE (Mg d ⁻¹)	MS (Kg d ⁻¹)	MV (Kg d ⁻¹)
1	CONEJOS	0,00	1,45	1,26
Subtotal		0,00	1,45	1,26
Biomasa		BM (t/ d)	MS (Kg/d)	MV (Kg/d)
1	NOPAL	0,10	6,80	5,21
2	VERDURAS, RESTOS	0,07	12,39	10,32
Subtotal		0,17	19,19	15,53
Aguas residuales		Q (m ³ /día)		DQO(Kg/d)
1	NA			
Subtotal		0,00	-	0,00
Totales		0,17	20,64	16,79

Resultados y discusión

La producción de biogás estimada fue de 4.99 m³ de biogás/día de acuerdo al simulador Biodigestor Pro (Aqualimpia Engineering e.K. 2018, Alemania), con una composición aproximada de 64.2% de metano. De acuerdo con las mediciones de biomasa de *A. salmiana* reportadas por López-Serrano (2021), de la poda anual de una hectárea se obtendría la cantidad diaria para alimentar el biodigestor simulado (, por lo que la producción de biogás sería de 1803 m³ ha⁻¹ año⁻¹. Si se compara este valor con los mencionados en Quintanar-Orozco et al. (2018) para *O. heliabravoana* (3717 m³ ha⁻¹ año⁻¹), maíz (5780 m³ ha⁻¹ año⁻¹), alfalfa (3995 m³ ha⁻¹ año⁻¹) y remolacha azucarera (5800 m³ ha⁻¹ año⁻¹), la producción de biogás empleando *A. salmiana* y *O. heliabravoana* como cosustratos es la menor de todas. Lo anterior se explica por la composición lignocelulósica de *A. salmiana* y la presencia de algunos metabolitos, como las saponinas, que pueden tener un efecto inhibitorio sobre las poblaciones microbianas. Sin embargo, los residuos de la poda de *A. salmiana* no compiten con ningún uso, como es el caso del maíz la alfalfa y la remolacha azucarera. Un aspecto determinante para evaluar la conveniencia de emplear los cosustratos de este estudio para producir biogás sería la rentabilidad económica del proceso.

Los datos arrojados por el programa para el presupuesto se pueden observar en la Figura 9, que incluyen las obras y materiales necesarios para construir el biodigestor sobre tierra, el lecho de secado de lodos y la planta de biogás.

materiales, demostrando cómo esta tecnología puede ser adaptada para diferentes necesidades rurales y urbanas, para promover soluciones ecológicas que transforman los desechos en recursos útiles.

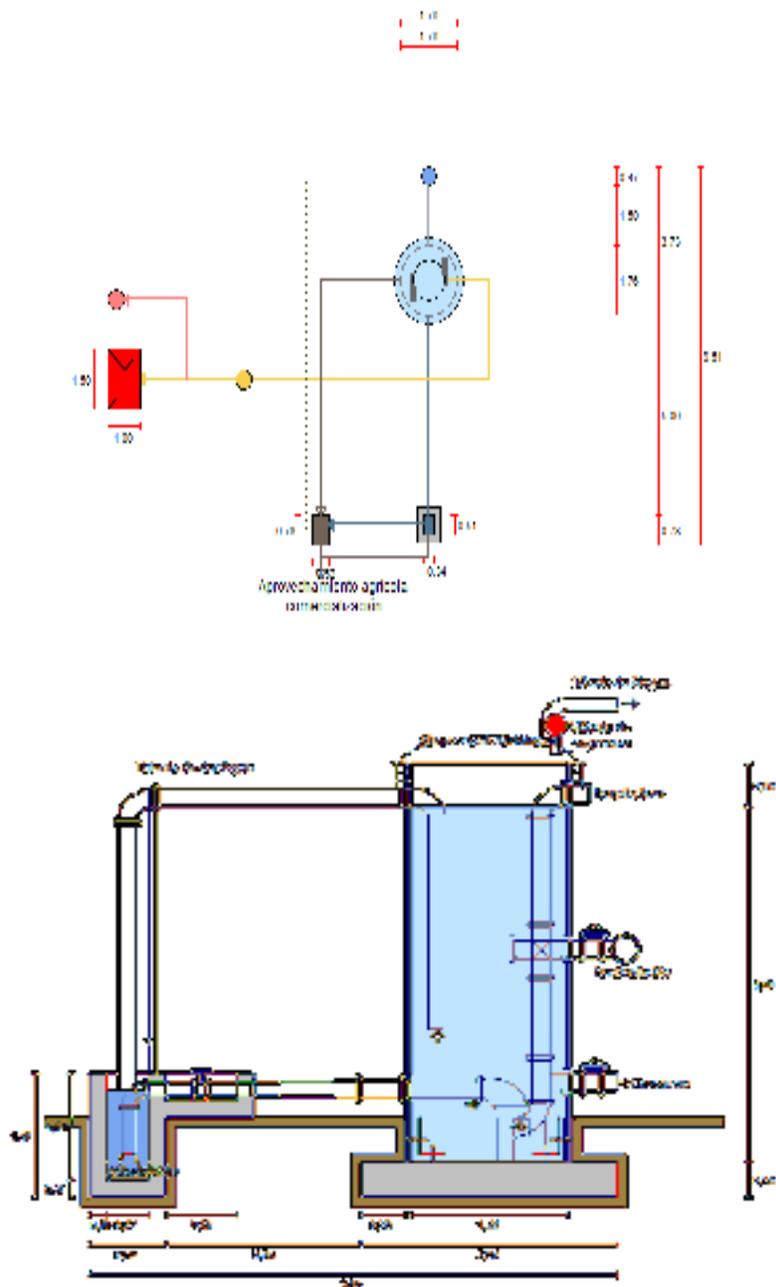


Figura 10. Diseño de Biodigestor con Software Biodigestor Pro (AquaLimpia, Argentina).

7.6 Pruebas de biodegradabilidad

Para llevar a cabo las pruebas de biodegradabilidad se empleó el sistema OxiTop®, el cual es un equipo de laboratorio diseñado específicamente para evaluar la biodegradabilidad de materiales orgánicos bajo condiciones controladas mediante la medición de la presión de oxígeno en un sistema cerrado. Este sistema se utiliza ampliamente en estudios de biodegradación de residuos sólidos, aguas residuales, lodos, polímeros y otros materiales orgánicos, lo cual permite determinar tanto la velocidad como la eficiencia de descomposición de estos materiales. En esta investigación, el uso de OxiTop® fue fundamental para obtener datos precisos sobre el comportamiento de las muestras en términos de su demanda bioquímica de oxígeno (DBO), un indicador clave de su potencial de biodegradabilidad. Este sistema consiste en reactores de 250 mL, con sello hermético, donde se coloca la muestra a estudiar junto con un medio que proporciona los nutrientes necesarios para la actividad microbiana. Cada frasco se cierra con un cabezal de medición de presión OxiTop®, equipado con un sensor de presión muy sensible. A medida que los microorganismos presentes en la muestra descomponen la materia orgánica, consumen oxígeno, lo que provoca una disminución en la presión interna del frasco. Este cambio de presión es captado por el sensor y registrado por el sistema, lo que permite calcular de forma indirecta el nivel de oxígeno consumido, que es proporcional a la cantidad de materia orgánica degradada. La medición se realiza de forma continua o en intervalos de tiempo preestablecidos, lo que hace posible obtener una curva detallada de biodegradación que refleja la actividad biológica en función del tiempo. De esta manera, se determina tanto la tasa de biodegradación como el consumo acumulado de oxígeno, lo que proporciona una visión integral del proceso de descomposición de la muestra.

Antes de llevar a cabo las pruebas de biodegradabilidad, se calibraron los cabezales OxiTop®. Para la calibración, se colocaron 164 ml de agua destilada y una varilla magnética dentro de un frasco de DBO. Una vez realizado este proceso, se inicia el proceso de calibración en los cabezales OxiTop® que se quieren verificar y colocan individualmente (sin enroscar) en la parrilla. Se añadió una tableta de calibración a cada frasco. Se insertó la carcasa de goma sin tabletas de NaOH (sólo como anillo de sellado) e inmediatamente se enroscaron fuertemente los cabezales. Este proceso se llevó a cabo bajo agitación constante durante los 5 días siguientes. Pasados los 5 días, se comparó el valor medido con el valor

teórico (310 ± 30 mg/l) que se especifica en el pack del OxiTop® PM y se reportó en el cuaderno de “verificación de cabezales OxiTop®”.

Una vez calibrados los cabezales y con los datos obtenidos en la simulación, se realizó una prueba de biodegradabilidad del sustrato a escala laboratorio en reactores OxiTop®, probando dos TRH (35 y 54 días) para determinar experimentalmente el índice de biodegradabilidad de los residuos. Para esta prueba, se preparó una mezcla de residuos de *A. salmiana* y excretas de conejo, igual a la que usaría en un biorreactor. Para esto, los residuos de *A. salmiana* se trituraron en una licuadora de acero inoxidable (Warning, EUA) y posteriormente mezclaron con excretas de conejo, de manera que la mezcla resultante contuviera 1% (p/p) de excretas. De acuerdo a la COV (1.2 kg SSV m^{-3}) obtenida de la simulación y el contenido de SV (81.2% para el agave y 87.6% para las excretas) de los residuos, se calculó el volumen de mezcla que se usó en la prueba.

7.7 Resultados y discusión

La prueba de biodegradabilidad realizada a los residuos de *Agave salmiana* arrojó un resultado notablemente alto de demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), con un valor de $581,000$ mg O_2 L^{-1} . (Figura 11).

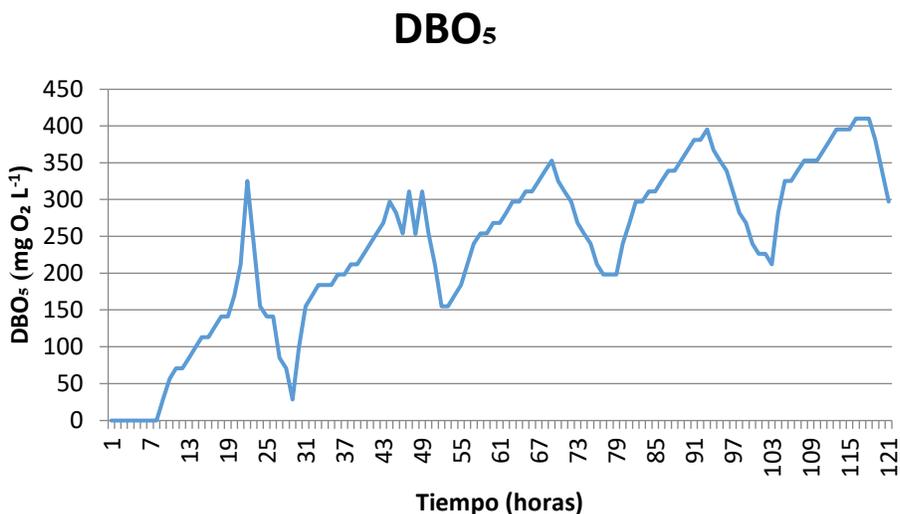


Figura 11. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) de los residuos de *Agave salmiana*: Evolución del Consumo de Oxígeno en 5 Días.

El valor de DBO₅ obtenido es indicativo de una elevada carga orgánica en el material, lo cual sugiere que el *A. salmiana* posee una cantidad significativa de compuestos susceptibles de ser descompuestos por microorganismos en condiciones aerobias. Este hallazgo es relevante, ya que una DBO tan alta apunta a una actividad biológica intensa durante el proceso de biodegradación, lo que abre distintas posibilidades tanto para el aprovechamiento de sus subproductos como para considerar tratamientos específicos en su manejo como residuo.

Comparando este valor de DBO₅ con el de otros materiales orgánicos, *A. salmiana* destaca por su potencial biodegradable excepcional. En otros materiales vegetales de alta biodegradabilidad, como residuos de frutas o subproductos agrícolas, los valores de DBO generalmente se encuentran en un rango mucho menor. Esto subraya el alto contenido de carbohidratos y compuestos solubles en *A. salmiana*, los cuales favorecen una descomposición rápida y eficiente en ambientes aeróbicos.

El elevado DBO₅ del *Agave salmiana* sugiere que, en su tratamiento como residuo, debe considerarse el riesgo de descomposición rápida y producción de subproductos en condiciones no controladas, lo cual podría generar problemas ambientales, como la demanda excesiva de oxígeno en cuerpos de agua si no se gestiona adecuadamente. La liberación de grandes cantidades de materia orgánica fácilmente degradable en sistemas acuáticos podría resultar en procesos de eutrofización, disminuyendo los niveles de oxígeno disuelto y afectando negativamente a la fauna acuática. Esto evidencia la necesidad de emplear tratamientos específicos, como la digestión anaerobia, para gestionar de forma adecuada su desecho y minimizar su impacto ambiental.

El alto contenido de compuestos orgánicos en *A. salmiana* no solo representa un desafío para su gestión como residuo, sino también plantea una oportunidad interesante en el ámbito energético. Su DBO₅ elevada indica un potencial considerable para la producción de biogás en condiciones anaerobias. Estos compuestos degradables pueden ser transformados en biogás mediante digestión anaerobia, ofreciendo una alternativa de aprovechamiento que, además de reducir el volumen de residuos, contribuiría a la generación de energía limpia y renovable.

En conclusión, el resultado de 581,000 mg O₂ L⁻¹ en *A. salmiana* resalta su alta carga orgánica y su potencial biodegradable. Este valor exige consideraciones especiales para su tratamiento y manejo en cualquier contexto de gestión de residuos. El aprovechamiento de sus

propiedades biodegradables, ya sea en la producción de biogás o en otros procesos de valorización de residuos, podría ser una estrategia viable y beneficiosa, siempre que se implementen controles adecuados para evitar problemas de contaminación y para maximizar el valor de los subproductos generados.

CAPÍTULO 8

Gasificación

8.1 Construcción del gasificador

Para la construcción del gasificador se tomaron como base dos gasificadores de biomasa con encendido superior y flujo ascendente (*Top-Lit-Up-Draft*, TLUD, por sus siglas en inglés): el primero fue desarrollado por la organización *Aqueous Solutions* (Figura 12a) y el segundo por la Unidad de Ecotecnologías del Instituto de Investigaciones en Ecología y Sustentabilidad de la UNAM (IIES-UNAM) (Figura 12b). Ambos gasificadores son de construcción sencilla y su eficacia se ha comprobado a escala piloto y laboratorio, respectivamente.

Como se mencionó, ambos gasificadores son de combustión superior y flujo ascendente, lo que significa que la combustión de la biomasa comienza en la parte superior del gasificador, mientras que por la parte inferior entra una corriente de aire (aire primario) que suministra el oxígeno necesario para la combustión. En este proceso la biomasa a tratar es el combustible para que ocurra la gasificación. En cuanto a la emisión de contaminantes atmosféricos, la gasificación TLUD cuando se realiza correctamente produce principalmente CO₂ y agua, ya que los gases se queman dentro de la corona del gasificador, gracias al aire secundario que entra por las aberturas de dicha corona.

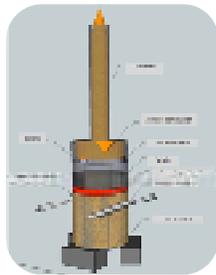


Figura 12. a) *Esquema del interior del gasificador TLUD* (<https://www.aqsolutions.org/charcoal-biochar-water-treatment/>); b) *Imagen del gasificador TLUD usado en la IIES-UNAM*

En la Figura 13 se presentan los componentes del gasificador construido: la cámara de combustión (1) constituye el elemento principal y cuenta con una entrada lateral (1a) ubicada a la mitad de su altura, por la que se introduce el termopar para monitorear la temperatura del proceso. En la parte inferior de la cámara se encuentran treinta y tres orificios circulares (1b),

diseñados para permitir la entrada de aire primario necesario para la combustión, mientras que los tres soportes inferiores (1c) mantienen la cámara en posición vertical y la separan del suelo, creando un espacio que facilita el flujo de aire a través de los orificios (1b). Un anillo inferior (2) rodea los soportes (1c) y tiene la función de cerrar parcial o totalmente las aberturas entre ellos, regulando así la cantidad de aire primario que ingresa. Encima de la cámara se encuentra una corona (3) que contiene siete orificios triangulares (3a) distribuidos a lo largo de su perímetro, por los que entra el aire secundario, así como un orificio circular en la parte superior central (3b) a través del cual los gases de combustión se dirigen hacia la chimenea. Para controlar la entrada de aire secundario, el gasificador cuenta con un anillo superior (4) que puede cerrar parcial o totalmente los orificios triangulares (3a). La chimenea (5), está soldada a la corona sobre el orificio circular central (3b), y por ella salen los gases de combustión. Finalmente, la tapa (6), que se coloca sobre la chimenea una vez que la combustión ha concluido. Este diseño integral permite un control eficiente del proceso de combustión y de los flujos de aire primario y secundario, garantizando un rendimiento óptimo del gasificador.

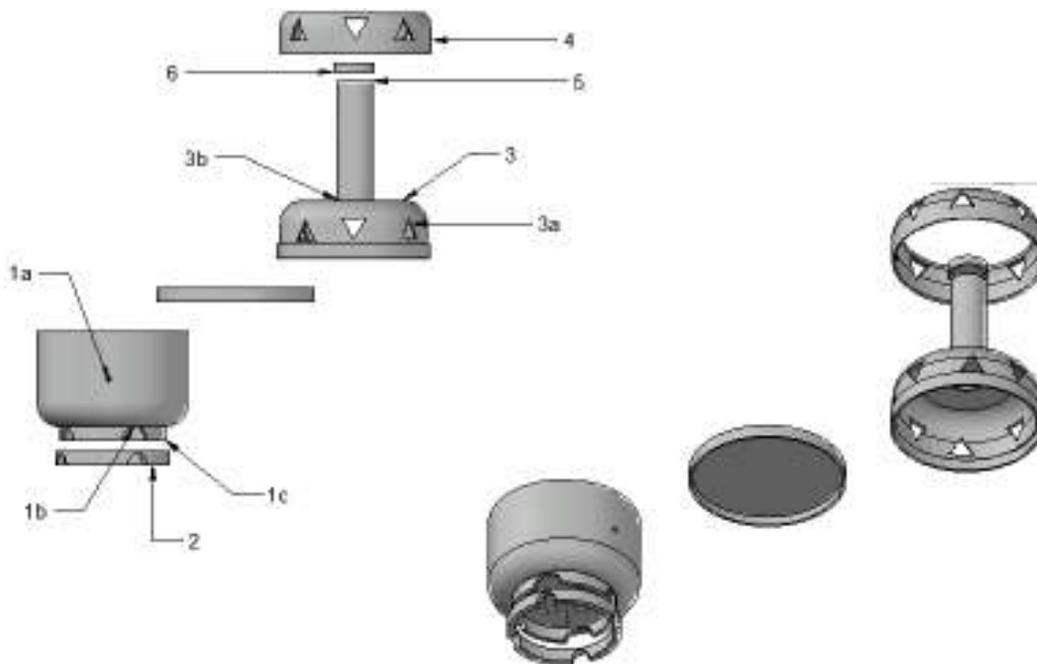


Figura 13. Partes del gasificador.

Para construir el gasificador se reutilizaron los siguientes materiales: cilindro de gas, tapa de aluminio y tubo de hierro), y se emplearon herramientas manuales para su fabricación. Las operaciones fueron: corte con disco, cilindrado manual, pestañado manual, perforado con

taladro y soldado manual. Las medidas del gasificador se presentan en la Tabla 9. En la Figura 14 se muestran fotografías del gasificador construido.

Tabla 9. Dimensiones del gasificador construido.

Cámara de combustión	
Diámetro (cm)	31
Altura total (cm)	20
Capacidad (cm ³)	15,095
Corona	
Diámetro (cm)	31
Altura base (cm)	10
Altura chimenea (cm)	25
Diámetro de la chimenea (cm)	7.5
Tapa superior	
Diámetro (cm)	33



Figura 14. Imágenes del gasificador TLUD completo (izquierda), corona y chimenea junto a la cámara de combustión con la tapa (centro) y cámara de combustión con los orificios inferiores (derecha).

8.2 Preparación de la biomasa para la obtención de biochar

Para obtener la biomasa se recolectaron las pencas de *A. salmiana* que son podadas en los camellones de la ciudad. Cada penca se cortó en piezas, de aproximadamente 10 y 15 cm de largo y de 3 a 5 cm en los lados de la base, las cuales se secaron. El secado de la biomasa se llevó a cabo de dos formas: a) *Agave* secado al sol (ASS), que consistió en dejar la biomasa

sobre una plancha metálica expuesta a los rayos directos del sol por diez días, y b) *Agave* secado al horno (ASH) a 105 °C durante 24 horas.

También, se recolectaron pencas de ejemplares de *A. salmiana* que se encontraron creciendo en jales mineros. Estas pencas se procesaron de forma diferente: se cortaron en trozos y se alimentaron a un extractor de jugos, para separar la parte líquida y el bagazo. Este último se separó en porciones de 30-50 g, que llamamos pellets, para secarlos en un horno a 105 °C durante 24 h para obtener bagazo secado al horno (BSH). La Figura 15 muestra la apariencia de la biomasa y los diferentes esquemas de procesamiento.

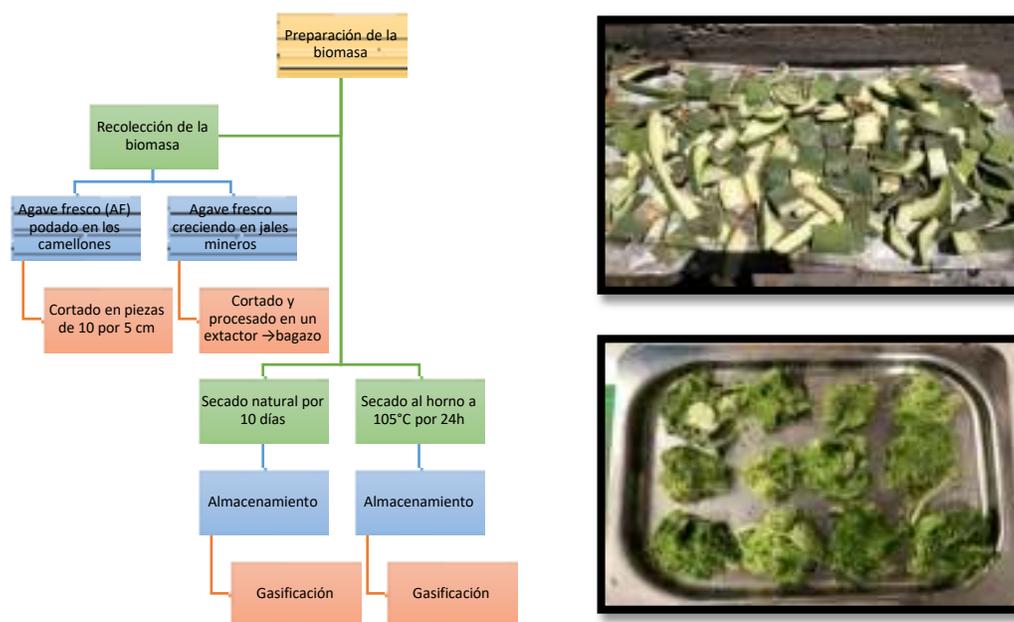


Figura 15. Esquema de procesamiento de pencas en trozos y bagazo de *A. salmiana*.

8.3 Producción de Biochar

Para determinar cuál de las formas anteriores de preparación de la biomasa, era más conveniente para la producción de *biochar*, así como el poder calorífico de los residuos de *Agave*, se realizaron tres experimentos:

- Experimento 1: se gasificaron 1,120 g de ASH, obtenidos a partir 4,075 g de trozos de agave fresco.
- Experimento 2: se gasificaron 1,983 g de ASS, provenientes de 5,383 g de trozos de *Agave* fresco.
- Experimento 3: se gasificaron 1,562 g de BSH, obtenidos de 4,226 g de bagazo fresco, provenientes a su vez de 16,253 g de *Agave* fresco

Antes de iniciar el proceso de gasificación, se preparó un pozo de lodo al lado del gasificador, lo suficientemente grande para acomodar el fondo de éste fácilmente.

Una vez realizado el paso anterior, el termopar y la biomasa (ASH o ASS o BSH) se introdujeron en la cámara de combustión. Sobre la biomasa se colocó una astilla de madera a la que se le prendió fuego para iniciar el proceso de combustión. Se colocó la corona en el gasificador, y una vez concluida la combustión se retiró la corona y en su lugar se colocó la tapa, luego se trasladó el gasificador a la fosa de lodo previamente elaborada, de manera que quedó sellado el fondo para evitar la entrada de aire primario. Finalmente, se dejó enfriar el gasificador por al menos 1 hora, y entonces se retiró el *biochar*. En la Figura 16 se muestra un diagrama de la metodología general que se desarrolló durante este trabajo para llevar a cabo la producción del *biochar*.

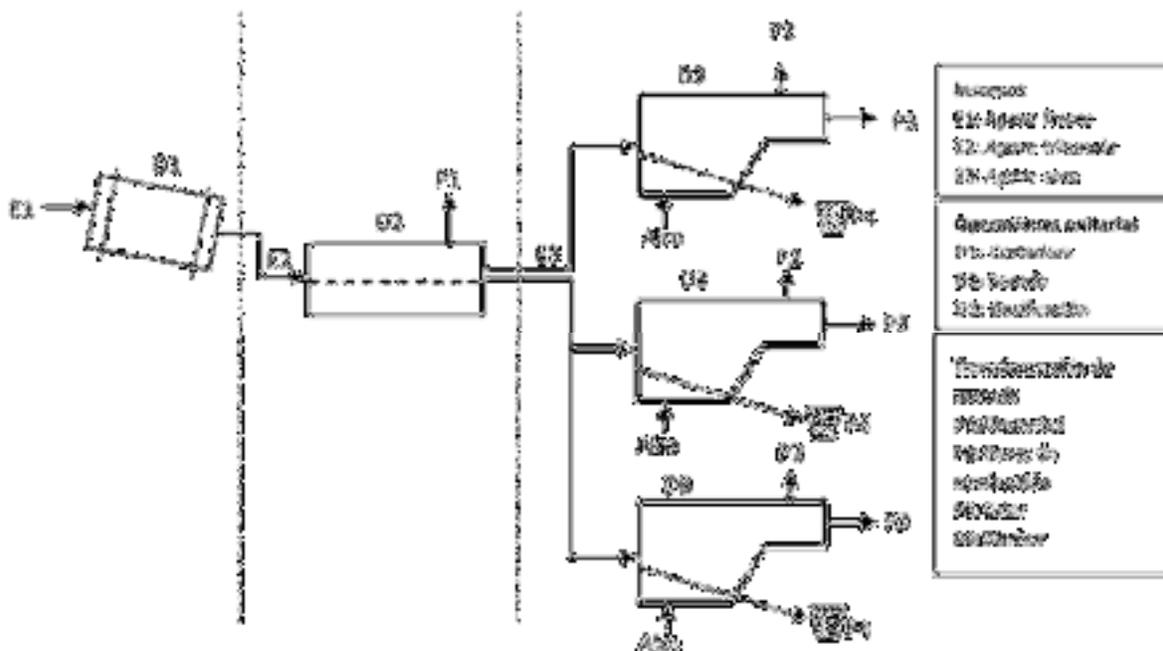


Figura 16. Diagrama de las etapas experimentales para la producción del biochar.

Para medir la temperatura, se utilizó un termopar tipo K marca TM902C que mide temperaturas en un rango de -50 a 1300 °C, el cual se introduce por medio de una apertura ubicada a 10 cm de la base (Figura 17). El termopar se encendió justo antes de iniciar la gasificación.



Figura 17. Termopar utilizado para medir las temperaturas alcanzadas dentro del gasificador.

El *biochar* producido se oxidó para disminuir su pH (Suthar et al., 2018). Para llevar a cabo este proceso, el *biochar* se pasó por tamices de 2 mm, 1.4 mm, 1mm, 600 μm , 500 μm y 250 μm ; cada una de las fracciones se colocó en charolas, que se dejaron expuestas dentro del laboratorio durante 15 días, posteriormente se midió nuevamente el pH de cada fracción para comprobar la eficacia oxidación.

8.4 Caracterización fisicoquímica del biochar

El *biochar* fue caracterizado mediante las siguientes determinaciones: humedad y cenizas, por el método gravimétrico (APHA, AWWA, WEF, 2012); composición elemental (C, N, H y O) en un analizador elemental Serie II CHNS/O 2400 (Perkin Elmer, EUA); contenido de nitrógeno total (NT) por el método micro Kjeldahl; carbono orgánico total por el método Walky & Black (García y Ballesteros, 2005), fósforo por el procedimiento de Bray y Kurtz para *A. salmiana*, mientras que para las excretas de conejo se empleó el procedimiento de Olsen y Sommers (SEMARNAT, 2002); sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) mediante el método 2540-E y pH por el método 4500 reportado en APHA, AWWA, WEF (2012). También se cuantificó la concentración de los siguientes elementos químicos: Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Na, Ni, Zn, Cd, Cr y Pb por espectrofotometría de absorción atómica (EAA, Spectra 800 Varian, Australia).

8.5 Resultados y discusión

En el experimento donde el *biochar* fue producido a partir de pencas completas, las temperaturas se pueden observar en las Figuras 18 y 19. Los rendimientos de producción del *Agave* seco al sol (ASS) y el *Agave* seco al horno (ASH) fueron muy similares (13.6% y 11.7%, respectivamente). Las temperaturas de gasificación para ambos casos siguieron un patrón similar, aunque el tiempo de producción fue diferente para cada uno de ellos (26 min y 15 min, respectivamente); esto se debe a que la humedad en el ASS (19.1%) fue superior a la del ASH (9.8%).

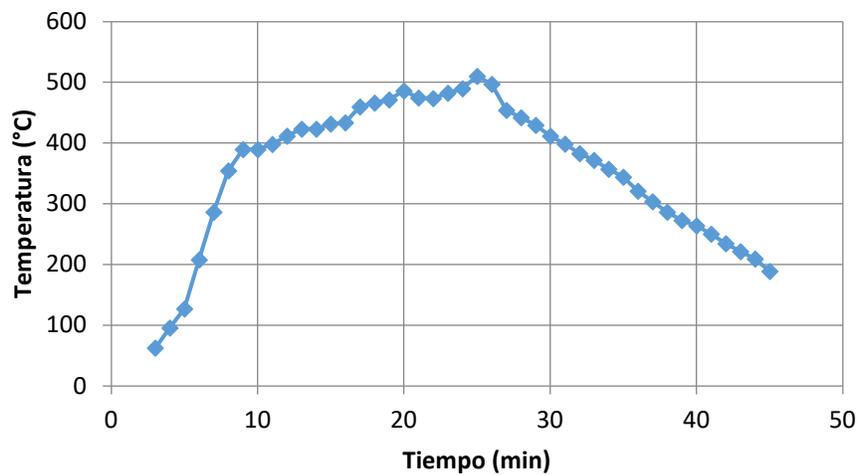


Figura 18. Comportamiento de la temperatura durante la producción de biochar producido a partir de pencas de *Agave* secado al sol (ASS).

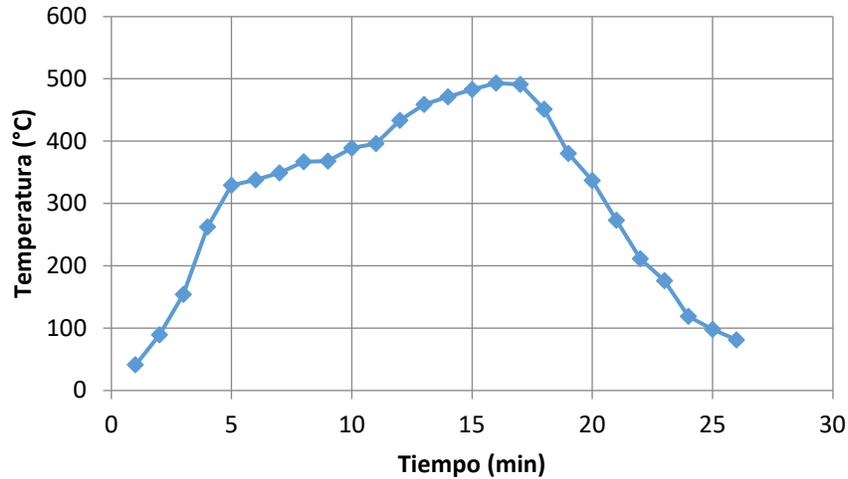


Figura 19. . Comportamiento de la temperatura durante la producción de biochar producido a partir de pencas de Agave secado al horno (ASH).

En el experimento que utilizó BSH, las temperaturas registradas se pueden observar en la Figura 20. El tiempo de gasificación fue mayor, ya que el interior de los pellets no se secó completamente por lo que la humedad presente en el BSH fue superior (27.38%) que la del ASS y ASH secado en trozos. El rendimiento de producción del *biochar* a partir del BSH fue de 7.9%, inferior al de los producidos con ASS y ASH, esto probablemente se debió a que, al separar la parte líquida, una parte de los sólidos es separada con esta última; además muchas de las fibras superficiales que se gasificaron rápidamente hasta alcanzar la calcinación. Tal rendimiento es típico de la biomasa lignocelulósica.

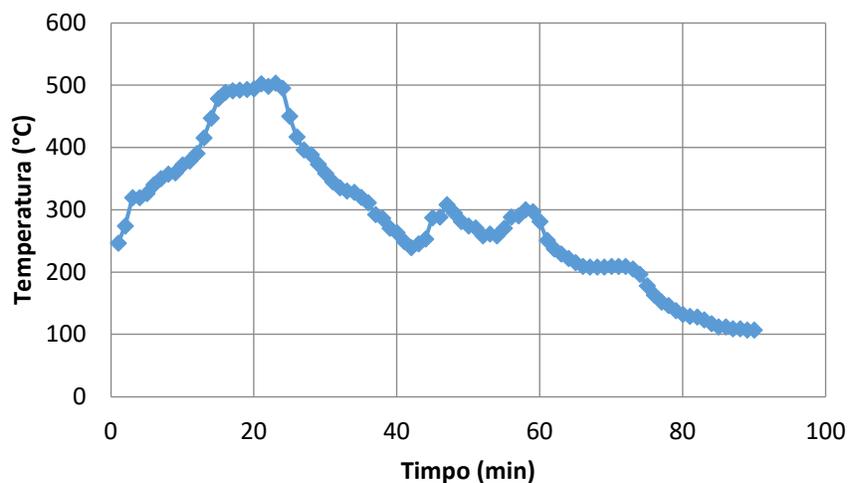


Figura 20. Comportamiento de la temperatura durante la producción de biochar producido a partir de BSH.

Se seleccionó una temperatura de gasificación de 500°C para las tres muestras de agave en este estudio, ya que los rendimientos de producción disminuyen cuando la temperatura es mayor a esta y, por otra parte, una temperatura mayor a 300°C aumenta significativamente el volumen de los poros del *biochar* (Lee et al., 2013). El rendimiento del *biochar* puede disminuir significativamente con un aumento de la temperatura de producción; tal como lo muestra un estudio realizado por H. Wang et al. (2018) donde el rendimiento del *biochar* disminuyó de 46,26 % (400 °C) a 31,57 % (600°C). En cuanto a la porosidad del *biochar*, el volumen de los poros es importante, ya que cuando el *biochar* es aplicado al suelo, las funciones de los poros dependen de su tamaño: los micro y mesoporos de hasta 50 nm de diámetro absorben nutrientes (e. g., NH_4^+ , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- y carbono orgánico disuelto) y gases (e. g., O_2 y CO_2), mientras que los poros grandes (~10 μm) proporcionan hábitats para microorganismos simbióticos, como bacterias (0,3–3 μm), hongos (2–80 μm) y protozoos (7–30 μm) (Thies & Rillig, 2012). Además, de acuerdo con Lee et al. (2013), a 500°C la estructura de los poros y el área superficial, se desarrollan lo suficiente por la descomposición térmica completa de la celulosa y la hemicelulosa. También se ha observado que el *biochar* se vuelve menos hidrofóbico y su CRA aumenta cuando se produce a 500°C (Kinney et al., 2012). En un estudio realizado en macetas, se observó que el crecimiento del maíz fue el más alto cuando se usó *biochar* producido a 500 °C (Rajkovich et al., 2012),. **borrar esta cita** (Lee et al., 2013).

En la Tabla 10 se puede observar la comparación entre el *biochar* obtenido a partir de pencas completas y de bagazo de agave. Los rendimientos de producción de ambos fueron bajos debido que el *A. salmiana* posee un alto contenido de humedad del (82.3%). Además del contenido de humedad, los rendimientos de producción dependen de factores como lo es el tipo de biomasa empleada, la temperatura de gasificación y la velocidad de calentamiento (Akhtar et al., 2012). Una biomasa con alto contenido de lignina, otorga rendimientos de producción elevados (Sohi et al., 2010). Este tipo de biomasa es preferible para lograr un mayor rendimiento de *biochar*. Las estabilidades estructurales más bajas de la hemicelulosa y la celulosa conducen a una degradación térmica más temprana de estos componentes, lo que contribuye significativamente al rendimiento de los gases condensables. Por otro lado la lignina, al ser más estable, contribuye a un mayor rendimiento del *biochar* (Pereira et al., 2013).

Tabla 10. Caracterización del biochar.

Determinación		Resultados	
		<i>Biochar Agave</i>	<i>Biochar bagazo</i>
Rendimiento de producción (%)		13.6	7.9
Humedad (%)		4.8 ± 0.18	7.4 ± 0.71
Sólidos Totales (%)		95.2 ± 0.2	92.6 ± 0.7
Cenizas (%)		46.1 ± 0.13	32.3 ± 0.91
Sólidos Volátiles (%)		53.9 ± 0.1	67.7 ± 0.9
Carbono Fijo (%)		16 ± 0.05	ND
Análisis Elemental	C	57.1	ND
	H	2.2	ND
	O	40.4	ND
	N	0.3	ND
pH		12.4 ± 0.25	8.2 ± 0.03
Capacidad de Retención de Agua (%)		77.2 ± 0.21	199.1 ± 5.28
Densidad aparente (g·cm ⁻¹)		0.17 ± 0.0	0.06 ± 0.00
Densidad real (g·cm ⁻¹)		0.65 ± 0.04	0.83 ± 0.02
Fósforo (mg kg ⁻¹)		16.3 ± 0.2	49.5 ± 2.6
Poder alcalinizante (%CaO)		17.9 ± 0.57	ND
CaCO ₃ (%CaCO ₃)		17.2 ± 0.05	16.6 ± 0.00
Tamaño de partícula		28.8%<0.6mm	25.9%<0.6mm
Nitrógeno orgánico (mg kg ⁻¹)		4173 ± 195.3	2538 ± 97.9
Capacidad de Intercambio Catiónico (cmol ⁺ kg ⁻¹)		32.5 ± 1.25	27.2 ± 0.42
Carbono total (%)		33.28	ND
Carbono orgánico (%)		29.71	37.6
Carbono inorgánico (%)		3.57	ND
Poder calorífico (MJ kg ⁻¹)		13.8	13.8
Metales (mg/kg)	Ca	32149	33314
	Mg	28855	20955
	Cu	<LD	22.3
	K	221	3790
	Mn	17.9	248.6
	Na	<LD	<LD
	Ni	<LD	<LD
	Zn	6.6	32.9

Determinación	Resultados	
	<i>Biochar Agave</i>	<i>Biochar bagazo</i>
Cd	<LD	69.2
Cr	<LD	<LD
Pb	<LD	<LD

La composición química del *biochar* es relevante dependiendo del uso que se le dé; por ejemplo, se observó que la eliminación de alquitrán dependía del contenido de C en el *biochar* preparado por pirólisis de cáscaras de arroz (Paethanom & Yoshikawa, 2012). Guizani et al. (2017) encontró que el *biochar* se vuelve más rico en C y más pobre en H y O a medida que aumenta la temperatura del proceso. Además, se ha observado que el contenido de C del *biochar* está relacionado con su estabilidad en el suelo cuando se destina a mejorar la calidad de este o secuestrar el C para mitigar el calentamiento global (Crombie et al., 2013). El contenido de N y S es importante en los procesos de combustión, ya que un bajo contenido de N y S reduce el riesgo de producir emisiones de NO_x y SO_x.

El pH es una propiedad importante del suelo, que influye en el desarrollo de plantas y microorganismos, y promueve la disponibilidad de nutrientes para ser absorbidos. La acidificación del suelo es el resultado del ácido nítrico y el ácido sulfúrico producto de la quema de combustibles fósiles (Reuss & Johnson, 1985) y de la aplicación a largo plazo de fertilizantes nitrogenados (Malhi et al., 1998). Uno de los beneficios del *biochar* es que tiende a ser alcalino, por lo que puede ayudar a disminuir la acidez de los suelos (Gaskin et al., 2008). El pH de la mayoría de los *biochares* puede ir de 7.5 a 10.5, es decir de medianamente alcalinos a fuertemente alcalinos según la NOM-021-SEMARNAT-2000, sin embargo, se pueden encontrar valores desde cuatro hasta arriba de 12 con otros tipos de pirólisis (Lehmann et al., 2011). Aunque el pH del *Agave* es muy fuertemente ácido (5), el pH del *biochar* de las pencas completas y del bagazo fue muy fuertemente alcalino (12.4) y moderadamente alcalino (8.2), respectivamente, esto se debe a las temperaturas altas del proceso, sin embargo, esta no es la única causa (Alotaibi & Schoenau, 2019; Ghodake et al., 2021; Kavitha et al., 2018; Kloss et al., 2014; Novak et al., 2009; Peiris et al., 2019). La alcalinidad del *biochar* está influenciada por tres factores: i) grupos funcionales orgánicos, ii) carbonatos y iii) álcalis inorgánicos (Fidel, 2012; Yuan; et al., 2011). Se sabe que la contribución de los grupos funcionales orgánicos tales como -COOH y -OH disminuye al aumentar la temperatura de

pirólisis por el progreso de la descomposición térmica. En cambio, la formación de carbonatos (como CaCO_3 y MgCO_3) y álcalis inorgánicos (de Na y K) cobra importancia por encima de los 500 °C (Yuan; et al., 2011). Como resultado, las temperaturas de pirólisis más altas aumentan significativamente el pH del *biochar* (Spokas et al., 2012; Wu et al., 2012; Kim et al., 2013). Por lo general, el *biochar* producido a temperaturas menores de 450°C desarrolla más grupos funcionales superficiales que el que se produce por encima de 500°C y algunos de estos grupos funcionales, particularmente los grupos que contienen oxígeno, como el carboxilo, son débilmente ácidos (Glaser et al., 2004; Shen; et al., 2017; Yuan; et al., 2011). Por ejemplo, el *biochar* derivado de los residuos de las fábricas de papel, pirolizado a 550°C, posee un valor de encalado de alrededor del 30% de CaCO_3 (Van Zwieten et al., 2010). Los grupos funcionales orgánicos en las muestras de *biochar* no se analizaron en este trabajo. Sin embargo, se puede observar en la Tabla 13 que el *biochar* posee concentraciones elevadas de elementos alcalinos como Ca y Mg, además los *biochars* que tienen una alta cantidad de carbonatos son mejores reduciendo la acidez del suelo (Steiner et al., 2007). Esta podría ser otra de las razones del pH alcalino en el *biochar*. Además de disminuir la temperatura del proceso, otro método para disminuir los valores de pH, es el que llevó a cabo Suthar et al. (2018), el cual consiste en exponer la superficie de las partículas del *biochar*, al medio ambiente, lo cual aumenta la oxidación hasta tal punto que el pH resultante es ácido.

En este estudio, se aplicó el método de Suthar et al. (2018): se oxidó el *biochar* con diferentes granulometrías (2 mm, 1.4 mm, 1mm, 600 μm , 500 μm y 250 μm) para determinar si a menor tamaño de partícula se obtenía un pH menor, debido a una mayor oxidación, sin embargo los valores de pH fueron prácticamente iguales, de 7 y 7.1.

En un estudio llevado a cabo por Carrier et al. (2013) se comprobó que una proporción equivalente de hemicelulosa y lignina puede disminuir el pH del *biochar*, mientras que una mayor proporción de celulosa puede aumentarlo. En este estudio se observó que a mayor contenido de celulosa en los residuos, mayor fue el pH del *biochar*.

En cuanto a la densidad real del *biochar*, se menciona que existe un rango entre 1.5 y 2.1 g cm^{-1} , mientras que de la densidad aparente se han publicado valores que van desde 0.09 hasta 0.5 g cm^{-1} , ya que el tipo de materia prima y el proceso de pirólisis utilizados influyen el desarrollo de poros, que a su vez impacta en el valor de la densidad aparente (Brewer et al., 2009; Downie et al., 2012; Lehmann et al., 2011). La densidad aparente más alta en el

presente estudio fue la del *biochar* de pencas completas (0.17 g cm^{-1}), valor muy similar a los reportados por Ogunjobi and Lajide (2013), para *biochar* de olote amarillo (0.22 mg cm^{-1}) y blanco (0.26 g cm^{-1}). Por otro lado, la densidad real de los *biochar*es de este estudio (0.65 y 0.83 g gm^{-1}) fue muy bajo comparado a otros valores (1.5 a 2.1 g cm^{-1}) (Lehmann et al., 2011). Esto puede ser debido a la metodología empleada en este estudio, pues el agua no puede penetrar a poros tan pequeños o cerrados o a superficies que son hidrofóbicas en el *biochar* (Amonette & Joseph, 2012; Brewer et al., 2014; Downie et al., 2012). Una forma correcta de medirla, es utilizando un picnómetro de helio, en donde se asume que el helio penetra a todos los poros abiertos de la partícula del *biochar* (Brewer et al., 2014; Brewer et al., 2012; Brewer et al., 2009). El *biochar* de pencas de *Agave* fue el que tuvo la mayor densidad real, esto puede ser debido a que son fibras y su porosidad es menor en comparación a otros sustratos (Crespo-González et al., 2013).

Uno de los objetivos en la producción de *biochar* es el cambio en la composición química en comparación con la de la biomasa original, sobre todo en el aumento del contenido de carbono. Esto se debe principalmente a la descomposición de los grupos funcionales que contienen oxígeno e hidrógeno. Por lo tanto, un aumento en la temperatura de reacción conduce a un aumento en el contenido de C, lo que resulta en un menor contenido de H y O. Por otra parte, la mayoría de la biomasa vegetal produce *biochar* rico en C y con menor contenido de N, P y otros nutrientes que los materiales de origen animal (Cruz-Méndez et al., 2021). Además del tipo de biomasa, temperaturas elevadas generan menores cantidades de N y mayores de C (H. Zhang et al., 2017), como es el caso de ambos *biochar*es obtenidos en el presente trabajo. Los *biochar*es de alta temperatura pueden alcanzar contenidos de carbono de más del 95% y contenidos de oxígeno de menos del 5%. El contenido de hidrógeno de la madera varía entre el 5 y el 7 % y disminuye durante la pirólisis a menos del 2 % (para temperaturas superiores a $700 \text{ }^{\circ}\text{C}$) o incluso por debajo del 1 % para temperaturas de tratamiento más elevadas (Weber & Quicker, 2018). En el caso del *biochar* producido a partir de *Agave*, podemos observar que el contenido de carbono contenido en la biomasa sin tratar, incrementó de un 36.6% a un 57.1%, mientras que para el caso del hidrogeno los valores disminuyeron de 5.6% a 2.2%, y finalmente, en el caso del oxígeno, los valores permanecieron similares (39.9% del *Agave*, y 40.1% para el *biochar*). No se puede ver una correlación clara entre la temperatura del tratamiento y el contenido de N en la comparación

general. Al observar los valores obtenidos, se puede notar un ligero aumento en el contenido de N. Este aumento relativo se debe a la disminución de otros componentes durante el proceso de desvolatilización (Quicker & Weber, 2016).

En cuanto al contenido de metales, las concentraciones de estos en el *biochar* podrían ser hasta 1500 veces más altas que las de sus materias primas (Shen et al., 2016). Durante la gasificación del *Agave*, la mayoría de los elementos se enriquecieron en el *biochar*, mientras que la evaporación de partículas se produjo para algunos elementos volátiles como el Cd y el Zn, lo que condujo a la reducción de sus concentraciones (Kim et al., 2016). Se espera que las concentraciones de los metales se conserven solo si la temperatura del proceso es inferior a su temperatura de volatilización respectiva. Si la temperatura del proceso en un gasificador excede el punto de fusión de ciertos metales (p. ej., Zn, Cd, As, Se, K y Na), estos metales podrían volatilizarse y tener bajas concentraciones en el *biochar* (Shackley et al., 2012). No se encontró en otros estudios un valor de P tan bajo como el que obtuvo el *biochar* de *Agave*, sin embargo, ningún *biochar* de los estudios revisados tiene tanta cantidad de Ca como el *biochar* de *Agave* (Gaskin et al., 2008; J. Lehmann et al., 2003; Major et al., 2010). En general, el *biochar* producido a partir del bagazo contiene una concentración de metales superior a la del producido a partir de pencas completas, incluyendo al Cd; esto último, seguramente se deba a que fue recolectado a orillas de un jale minero.

Una de las funciones principales del *biochar* en el suelo es proporcionar una mayor retención de nutrientes y agua. Por lo tanto, la CRA es una de las propiedades cruciales del *biochar*, ya que determina la capacidad de adsorción de nutrientes y agua. El *biochar* de *Agave* presentó una CRA similar al del *biochar* de bambú reportado por Cruz-Méndez et al. (2021), usado con éxito como mejorador en un suelo semiárido del estado de Hidalgo. Además de la CRA, la CIC, el NT y el carbono orgánico e inorgánico, presentaron también valores similares al *biochar* de bambú, por lo tanto, es de esperar que el *biochar* de *Agave* tenga un desempeño similar al de bambú en suelos con esas características.

La CIC es la cantidad de cationes (p. ej., Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+) que un material es capaz de retener (Lee et al., 2010) como resultado de las cargas superficiales negativas que los atraen. La CIC es usada frecuentemente para describir el grado de fertilidad de los suelos, esto debido a que la mayoría de los nutrientes que usan las plantas y los microorganismos se absorben en su forma iónica (Robertson et al., 1999). Generalmente la CIC en los *biochar*es

recién producidos es baja (aunque sigue siendo más alta que en algunos suelos degradados) si se compara con la de la materia orgánica presente en el suelo (Carter et al., 2013). Sin embargo, a medida que el *biochar* envejece, la CIC tiende a aumentar (Cheng et al., 2008; Laird et al., 2010; Lehmann et al., 2011). La CIC depende directamente de la estructura de la superficie, ya que los grupos funcionales proporcionan cargas superficiales, mientras que el área superficial, vuelve accesibles dichas cargas (Liang et al., 2006). Las mayores CIC se encuentran en los *biochar*es producidos a temperaturas relativamente bajas, en los que el área de superficie ha aumentado significativamente en comparación con la biomasa original, pero quedan suficientes grupos funcionales en la estructura para proporcionar cargas negativas. Un estudio realizado por Mukherjee et al. (2011) para tres *biochar*es (roble, pino, hierba) a diferentes pH (1,5 – 7,5) encontró que la CIC más alta ($51.9 \pm 15.3 \text{ cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$) fue para la temperatura de producción más baja (250 °C). Temperaturas de 400 y 650 °C produjeron *biochar*es con una CIC de 16.2 ± 6.0 y $21.0 \pm 17.2 \text{ cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$, respectivamente. En otro estudio realizado por Ippolito et al. (2015), la CIC disminuyó de $32.7 \text{ cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$ en promedio, cuando el *biochar* fue producido a temperaturas inferiores de 300 °C, a menos de $5 \text{ cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$ cuando el *biochar* se produjo a temperaturas mayores a 800 °C. El *biochar* producido a partir de *A. salmiana* a una temperatura de 500°C, presentó una CIC de $32.5 \text{ cmol}^+ \cdot \text{kg}^{-1}$, la cual podría incrementar disminuyendo la temperatura de producción. Si el proceso de producción del *biochar* es llevado a cabo bajo condiciones adecuadas, su adición al suelo puede propiciar el aumento de la CIC (Liang et al., 2006).

CAPÍTULO 9

9.1 Pruebas de inhibición de la germinación

Una de las recomendaciones del *International Biochar Institute (IBI)* para evaluar la posible toxicidad del *biochar* es estudiar su efecto durante la germinación. En el caso del *biochar* producido a partir de residuos de *A. salmiana*, se evaluaron dos dosis: i) *biochar* al 0.4% p/p (BCH0.4, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y ii) *biochar* al 0.2% p/p (BCH0.2, equivalente a 8 Mg ha⁻¹). Las dosis de *biochar* se propusieron con base en los resultados obtenidos por Cruz-Méndez et al. (2021) quienes adicionaron 0.2% (8 Mg ha⁻¹) a un suelo del estado de Hidalgo. Estas pruebas se realizaron con el *biochar* producido a partir de las pencas de poda de los camellones de Mineral de la Reforma, Hgo., que no presentó metales tóxicos en su composición. Previamente, el *biochar* se dejó oxidar por 15 días antes de aplicarlo a los sustratos, esto se hizo para disminuir el pH alcalino del *biochar*.

Los sustratos usados en las pruebas fueron suelo y vermiculita, ya que se hizo la prueba con semillas de cultivos que se siembran directamente en suelo y otros cuya germinación se realiza en semilleros con sustratos como la vermiculita. Los cultivos evaluados en este estudio fueron maíz y cebada, que fueron germinados en suelo, y jitomate y lechuga, que se germinaron en vermiculita. Cada dosis de *biochar* se probó por triplicado en cada cultivo y también se tuvo un tratamiento control para cada sustrato y cultivo sin adición de *biochar*, de manera que se tuvieron nueve cajas de germinación por cada cultivo.

Se usaron cajas de germinación portátiles de plástico con tapa transparente para mantener la humedad y permitir el paso de luz. Para la cebada, lechuga y el jitomate, se usaron cajas de 23 cm de largo, 15 cm de ancho y 5 cm de profundidad; para el maíz fueron cajas de 40 cm de largo, 20 cm de ancho y 5 cm de profundidad. Para la cebada, se prepararon nueve cajas con 1444 g de suelo cada una, a seis de ellas se le agregó *biochar* para los tratamientos: BCH0.2 (2.9 g) y BCH0.4 (5.8 g). Para el maíz, se prepararon nueve cajas con 3767 g de suelo cada una, a seis de ellas se le agregó *biochar* para los tratamientos: BCH0.2 (7.5 g) y BCH0.4 (15 g). Finalmente, para la fresa y la lechuga, se prepararon seis cajas con 155 g de vermiculita cada una, para los controles; seis cajas con 154.7 g de vermiculita y 0.3 g de *biochar* para el tratamiento BCH0.2 y seis cajas con 154.4 g de vermiculita y 0.6 g de *biochar* para el tratamiento BCH0.4. Una vez preparados los sustratos con las dosis de *biochar*, se midió la capacidad de retención de agua (CRA) y el pH del suelo, la vermiculita y

de cada mezcla. Las determinaciones se hicieron por triplicado, aplicando los métodos del Anexo A (A.2 y A.11).

En cada caja se ajustó la humedad del sustrato al 60% de la CRA, luego se colocaron 100 semillas por caja, excepto para el caso del maíz que solo se utilizaron 25 semillas por caja. Se colocaron las tapas en las cajas y se mantuvieron en las siguientes condiciones: 8 h en oscuridad a 20 °C y 16 h de luz a 30 °C.

En los días siguientes se midió el porcentaje de la germinación contando el número de semillas germinadas, se consideró germinada toda semilla cuya radícula hubiera emergido de la cubierta seminal. También se midió la longitud de la plúmula y se contaron todas las plántulas que presentaban un desarrollo normal. Posteriormente se calcularon los porcentajes correspondientes.

Una vez que las plántulas alcanzaron una altura de 5 cm en el caso del maíz y de 3 cm en el resto de los cultivos, se determinó el peso seco y las fitohormonas (sección 9.3). Al finalizar la germinación se midieron nuevamente la CRA y el pH de los sustratos, siguiendo los métodos del Anexo A.

Para determinar si los resultados obtenidos por la experimentación se comportaban normalmente, se realizó un análisis de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilks. Posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) con un nivel de significancia de 0.05 para comparar las medias, aplicando una prueba de Tukey.

9.2 Resultados y discusión

Ambos tratamientos (BCH0.4 y BCH0.2), incrementaron el pH del suelo (Tabla 11), es importante mencionar que la cebada puede cultivarse en suelos con pH de 6 a 8.5, mientras el maíz prefiere un pH entre 6 a 7.2. Con el aumento en el pH, el suelo se encuentra fuera del intervalo óptimo para el cultivo del maíz. No obstante, en algunos casos, el incremento del pH del suelo es benéfico, como ocurrió en el estudio llevado a cabo por Novak; et al. (2009), en el que encontraron que la adición de *biochar* mejoró la fertilidad al aumentar el pH del suelo, así como el contenido de carbono orgánico, Ca, K, Mn y P. En otro estudio llevado a cabo por Qayyum et al. (2015), convirtieron varios desechos en *biochar* usando pirólisis (350 - 450 °C). El *biochar* se aplicó a suelos alcalinos a una tasa del 1% en los que luego cultivaron semillas de maíz. Los resultados mostraron un efecto significativo del *biochar* en la masa seca

de las plántulas, la longitud de los brotes y la longitud de las raíces, además de un incremento significativo en el pH del suelo. Olszyk et al. (2018), desarrollaron una prueba rápida para detectar los efectos del *biochar* en la germinación de semillas y los suelos. Las semillas se colocaron en recipientes y se cubrieron con 15 g de suelo con 1% de *biochar* en peso. Los autores probaron dieciocho *biochar*es que se obtuvieron a partir de seis materias primas, pirolizadas a tres temperaturas (350, 500 y 700°C). Se observaron pocos efectos sobre la germinación de las semillas, sin embargo, aumentó el peso seco de los brotes de zanahoria, pepino, lechuga, avena y tomate; principalmente con el *biochar* producido a partir de gallianza. También se encontró un aumento del pH y la CE del suelo, especialmente con *biochar* de gallianza y de sólidos porcinos. Liang et al. (2014) realizaron un experimento de campo a largo plazo para determinar el efecto del *biochar* (90 t ha⁻¹) en el rendimiento de los cultivos y las propiedades de un suelo calcáreo. El rendimiento anual de los cultivos no aumentó significativamente después de la aplicación del *biochar*, sin embargo, el rendimiento acumulativo durante las primeras 4 temporadas de crecimiento sí aumentó significativamente. El pH del suelo, medido *in situ*, aumentó en un máximo de 0,35 unidades después de 2 años de la aplicación de *biochar*.

Tabla 11. Efecto del *biochar* sobre el pH del suelo.

Cultivo	pH antes del tratamiento	pH después del tratamiento		
		BCH0.4	BCH0.2	Control
Cebada	7.12	8.26±0.14	8.24±0.02	7.39±0.03
Maíz	7.12	8.16±0.05	8.04±0.08	7.27±0.05

BCH0.4, *biochar* al 0.4% (p/p, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y BCH0.2, *biochar* al 0.2% (p/p, equivalente a 8 Mg ha⁻¹)

En la Tabla 12 se observa que la altura de las plántulas fue mayor con el tratamiento BCH0.4 para todos los cultivos, sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa respecto al BCH0.2 y el control (Tabla 12).

En cuanto al porcentaje de germinación, para la cebada, el tratamiento con BCH0.4 presentó los mejores resultados, con diferencias significativas respecto al BCH0.2 y el control. En el caso del BCH0.2 también presentó diferencias significativas respecto al control (Figuras 21 y 22a). Para el maíz, en la Figura 22b se aprecia que el porcentaje de germinación fue

significativamente mayor con el tratamiento BCH0.4 que con el BCH0.2 y el control. Para la lechuga y el jitomate, el BCH0.4 también incrementó el porcentaje de germinación respecto al BCH0.2 y el control, sin embargo, el aumento no fue estadísticamente significativo (Figura 22c, d).

Tabla 12. Datos generados durante los ensayos de germinación.

Cultivo	Sustrato	Humedad (%)	tiempo (días)	Altura (cm)		
				BCH0.4	BCH0.2	Control
Cebada	Suelo	60	12	19.8±1.5	19.7±0.3	18.1±1.5
Maíz	Suelo	50	8	7.6±1.3	6.4±1.1	6.5±1
Jitomate	Vermiculita	60	13	3.4±0.3	3.1±0.1	2.8±0.3
Lechuga	Vermiculita	60	9	3.2±0.1	3±0.1	2.6±0.2

BCH0.4, biochar al 0.4% (p/p, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y BCH0.2, biochar al 0.2% (p/p, equivalente a 8 Mg ha⁻¹)



Figura 21. Germinación de las plántulas de cebada con 0.4 % de biochar (BCH0.4, izquierda); con 0.2 % de biochar (BCH0.2, centro); y Control (derecha).

Varios investigadores han reportado mejoras en la germinación, rendimiento y producción de biomasa en varios cultivos con el uso de biochar, bien solo o combinado con fertilización y con tasas de aplicación muy distintas, como se comenta a continuación. Van Zwieten et al. (2010), determinaron que la germinación del trigo mejoró en presencia de biochar, incrementó del 97 % ±2 % en el control, al 100 % con biochar, con una dosis de 2 % por peso seco de biochar. Chan et al. (2007a) llevaron a cabo una prueba en macetas para investigar los efectos del biochar en los rendimientos de rábano (*Raphanus sativus*) y encontraron que la aplicación de biochar en presencia de fertilizante nitrogenado aumentó significativamente el rendimiento del cultivo, lo que indica que el biochar mejora de manera

eficiente la utilización del N por parte de la planta. El aumento del rendimiento del rábano en presencia de fertilizante nitrogenado fue del 266% con una tasa de aplicación de biochar de 100 t ha⁻¹. De manera similar, dos biochares producidos a partir de excretas de ave, con tasas de aplicación de biochar de 0, 10, 25 y 50 t ha⁻¹ y sin el uso de fertilizante nitrogenado, produjeron aumentos similares en el rendimiento de materia seca del rábano (Chan et al., 2008).

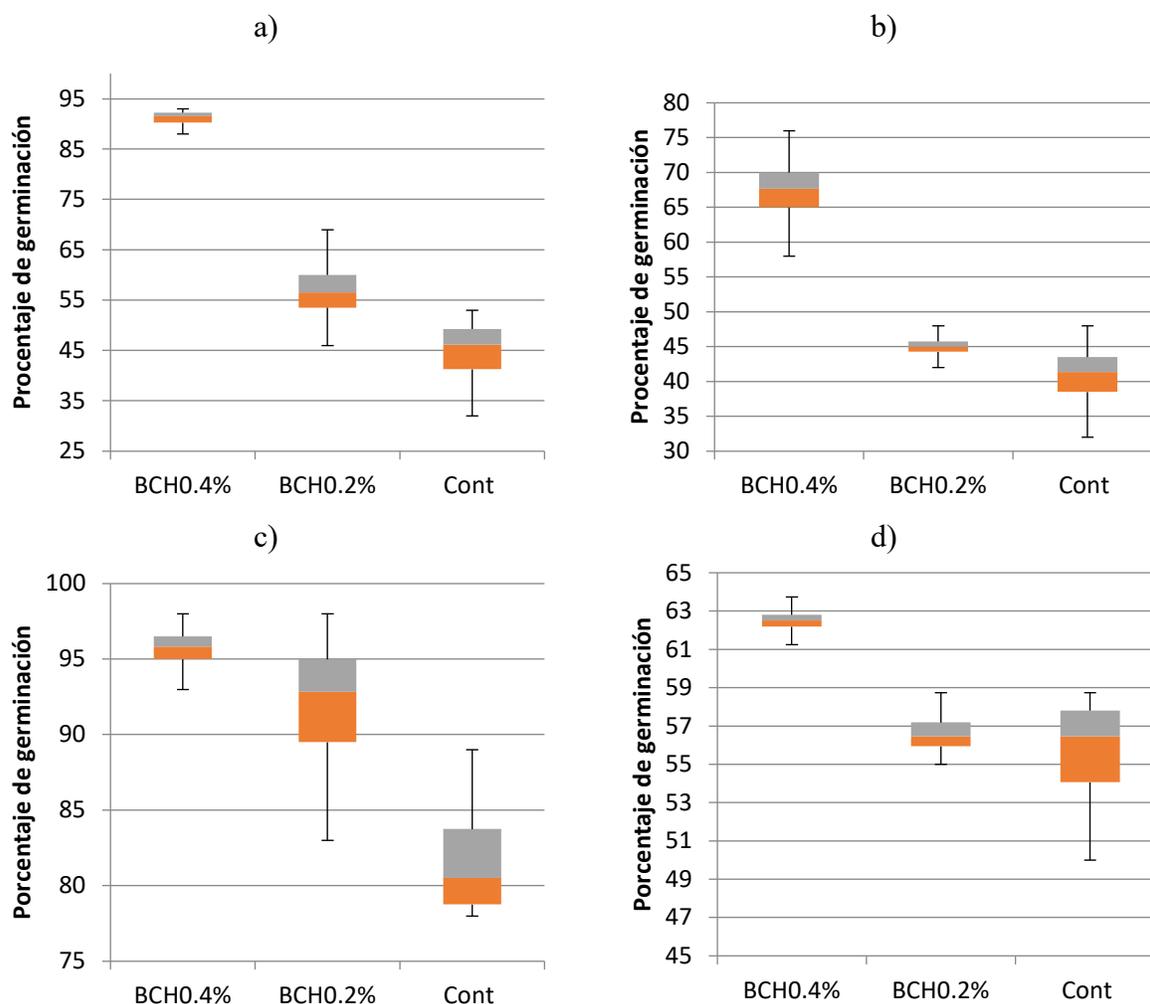


Figura 22. Porcentaje de germinación de. a) cebada b) maíz c) lechuga d) jitomate. BCH0.4, biochar al 0.4% (p/p, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y BCH0.2, biochar al 0.2% (p/p, equivalente a 8 Mg ha⁻¹)

Otros autores reportaron que la aplicación de *biochar* aumentó la biomasa de arroz (*Oriza sativa* L.) y frijón chino (*Vigna unguiculata* L.) en 20 % y 50 %, respectivamente (Glaser et al., 2002). La adición de *biochar* también aumentó la biomasa de un cultivo de trigo duro (*Triticum durum* L.) hasta un 30 %, y de maíz (*Zea mays* L.) hasta un 44 % (Oguntunde

et al., 2004; Vaccari et al., 2011). Cabe mencionar que la aplicación de *biochar* ha tenido un gran potencial especialmente en suelos deficientes de nutrientes (Hussain et al., 2017; Van Zwieten et al., 2010).

Aunque la adición de *biochar* ha producido mejoras en las características agronómicas de varios cultivos, como en los casos antes comentados; también existen estudios en los que se han descritos efectos adversos por la aplicación de *biochar*. Un experimento llevado a cabo para estudiar el efecto de diferentes *biochar*es obtenidos de cuatro biomásas diferentes (Das et al., 2020b) encontraron que tanto el *biochar* de tallo de maíz como el *biochar* de *Lantana camara* tuvieron un ligero efecto inhibitorio en la germinación a medida que se aumentó la dosis de *biochar*. Este efecto se debió a la presencia de algunos metales pesados. Los porcentajes de germinación para el maíz fueron 98 %, 96 % y 94% con la aplicación de 5,0, 7,5 y 10 t ha⁻¹, respectivamente. En otro trabajo llevado a cabo por Gasco et al. (2016) con tres *biochar*es preparados a partir de madera, lodos de papel más cáscaras de trigo y lodos de aguas residuales; probados en cinco especies de plantas superiores (berro, lenteja, pepino, tomate y lechuga), únicamente se observó inhibición de la germinación de las semillas de lenteja, pepino y tomate con el *biochar* de madera, y de la lechuga con el *biochar* de lodo de papel. Rogovska et al. (2012) evaluaron los efectos de seis *biochar*es en el crecimiento de plántulas y la absorción de aleloquímicos presentes en residuos de maíz (*Zea mays* L.). Para ello, germinaron semillas de maíz en extractos acuosos de los *biochar*es, producidos a partir de materias primas, procesos termoquímicos y temperaturas variados. Se evaluó el porcentaje de germinación y la longitud de brotes y radículas al final de la de germinación. Ninguno de los extractos de los seis *biochar*es tuvo efecto sobre el porcentaje de germinación; sin embargo, los extractos de tres *biochar*es producidos a altas temperaturas inhibieron significativamente el crecimiento de los brotes. Zhang et al. (2020) investigaron los efectos de seis tipos de nanopartículas de *biochar* (BNP, por sus siglas en inglés) en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de arroz, tomate y caña. Las BNP se recolectaron de *biochar*es derivados de dos materias primas (paja de arroz y aserrín de madera) por debajo de 300 °C (temperatura baja), 500 °C (temperatura media) y 700 °C (temperatura alta). Las BNP de *biochar* de alta temperatura inhibieron la germinación de las semillas de arroz. Además, las BNP a partir de *biochar* de alta temperatura y materia prima rica en lignina (aserrín de madera) tuvieron un efecto inhibitorio en la caña: redujeron drásticamente la longitud de los

brotos y la biomasa. En otro estudio, se llevó a cabo un experimento para estudiar las respuestas ecotoxicológicas de cuatro *biochares* producidos a partir de malas hierbas sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de maíz y gramo negro, en suelos ácidos adicionados con tres dosis diferentes de biochar producidos a 600 °C (Das et al., 2020a). El crecimiento de las plántulas mejoró significativamente con una tasa de aplicación de *biochar* baja (5 t ha⁻¹) a diferencia de una tasa alta (10 t ha⁻¹). El *biochar* de *Artemisia vulgaris* (AVB) funcionó mejor que todos los demás, lo que pudo deberse a que esta planta es de naturaleza medicinal. El peso de la raíz fue muy bajo en el tratamiento con biochar de *Bidens* sp en comparación con los otros *biochares* y puede deberse a la presencia de trazas de metales pesados como Se y Cr.

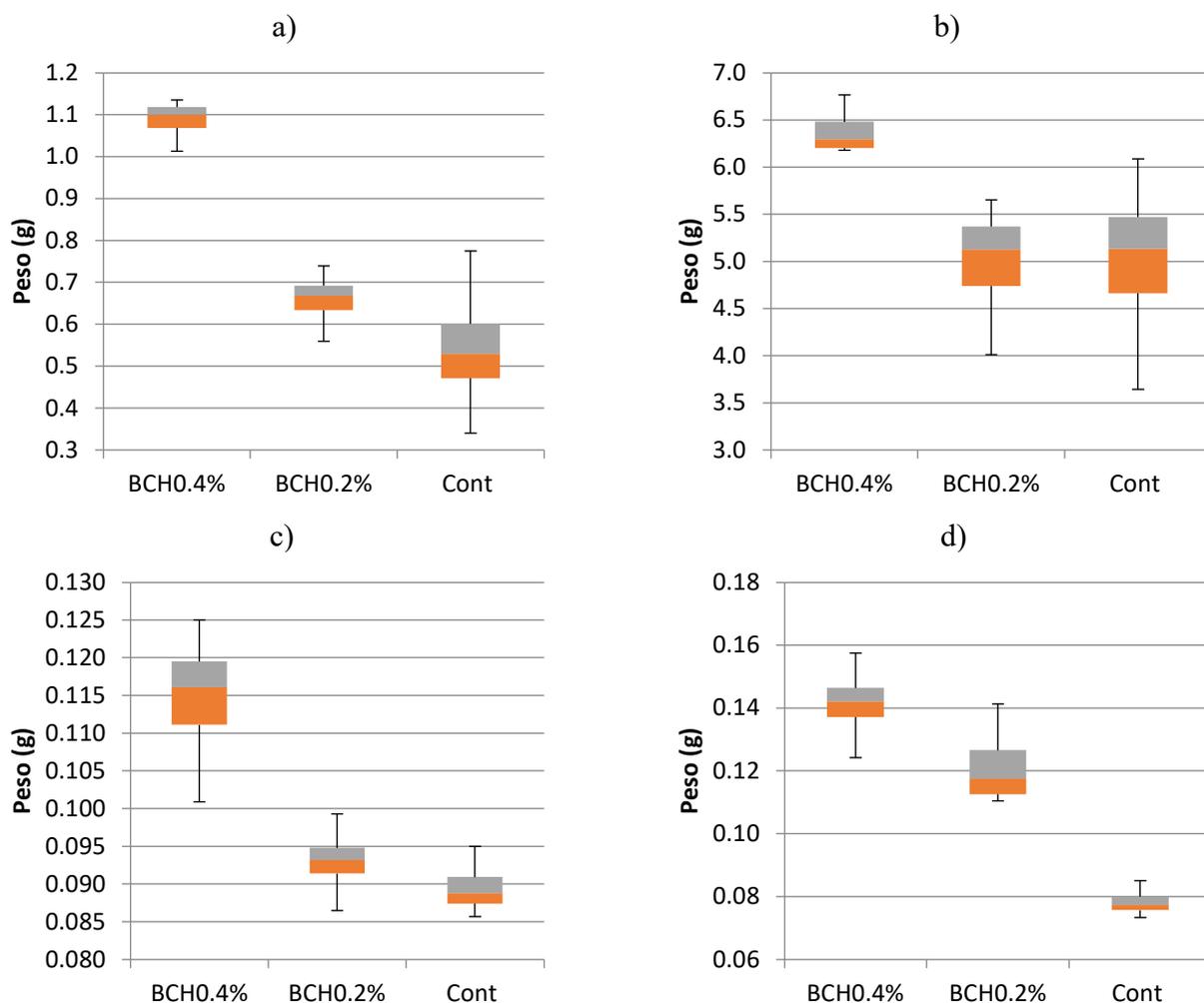


Figura 23. Peso seco de los germinados. a) germinados de cebada b) germinados de maíz c) germinados de lechuga d) germinados de jitomate.

BCH0.4, biochar al 0.4% (p/p, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y BCH0.2, biochar al 0.2% (p/p, equivalente a 8 Mg ha⁻¹)

Respecto al peso seco, en el presente estudio, fue el tratamiento de BCH0.4 el que presentó diferencias significativas respecto al BCH0.2 y el control en los cuatro germinados (cebada, maíz, lechuga y jitomate) (Figura 23). De igual forma, con respecto al control, el tratamiento con *biochar* al 0.2% presentó mayor peso seco.

Ali et al. (2021) realizó un experimento para evaluar la influencia del biochar en la germinación de semillas de maíz, el crecimiento temprano de las plántulas y sus atributos fisiológicos. El biochar de mazorca de maíz se mezcló con suelo en diferentes proporciones (0.5 %, 1 %, 1.5 %, 2 %, 2.5 % y 3 % p/p) antes de la siembra de semillas. La adición de biochar a una tasa del 1.5 % (p/p) aumentó significativamente la biomasa seca de los brotes (40 %), la biomasa seca de las raíces (32 %), el contenido total de clorofila (a y b) (55 %), el porcentaje de germinación (13 %), el vigor de las plántulas (85 %) y el contenido relativo de agua (68 %), en comparación con el tratamiento de control no modificado. Además de esto, también mejoró la tasa de germinación en un 3% en comparación con el tratamiento de control, al tiempo que provocó una reducción en el tiempo medio de emergencia.

9.3 Métodos de cuantificación de fitohormonas

9.3.1 Extracción de fitohormonas

Una vez que la plántula alcanzó una altura de aproximadamente 5 cm en el maíz, 3 cm en lechuga y tomate, y 17-19 cm en cebada, se trituró y se le agregó de 10 a 20 ml de alcohol. Posteriormente, la suspensión se pasó a un recipiente con tapa y protegido de la luz y se dejó en refrigeración de 3 a 5 días. Transcurrido ese tiempo, se filtró y centrifugó durante 15 minutos, a 5,000 RPM, el sobrenadante guardó en refrigeración en un frasco con tapa y protegido de la luz hasta su uso para la determinación de las fitohormonas.

9.3.2 Determinación de la concentración de Ácido Indolacético

El reactivo Salkowski (Salkowski, 1889) se preparó a partir de una dilución de 7.5 ml de 0.5 M FeCl₃ en 142 ml de HClO₄ y 250 ml de agua destilada. Se realizó una curva patrón de ácido 3-indolacético (AIA) sintético a diferentes concentraciones (0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 µg ml⁻¹) (Rojas et al., 2012). Se transfirió 1 mL de cada concentración de la curva a un tubo, se le agregó 2 mL de de reactivo Salkowski, se agitó y se dejó incubar en la oscuridad por 30

minutos y luego se leyó a 530 nm. Posteriormente, se siguió el mismo procedimiento con los extractos obtenidos de las plantas (Glickmann et al., 1995).

9.3.3 Determinación de la concentración de giberelinas

La solución concentrada de giberelinas fue preparada a partir de ácido giberélico comercial (GA₃) para posteriormente realizar una curva patrón con las siguientes concentraciones: 100, 200, 400, 600 800 y 1000 µg ml⁻¹. El reactivo de ácido fosfomolibdico se preparó a partir de ácido molibdico al 85%, una solución de tungstanato de sodio al 10% e hidróxido de sodio al 10%. El reactivo fue preparado en dos etapas, en la primera se adicionaron 7 gramos de ácido molibdico y 1 gramo de tungstanato de sodio en un matraz de 250 ml y posteriormente se adicionaron 40 ml de hidróxido de sodio al 10% y 40 ml de agua destilada. La solución se llevó a ebullición durante 40 minutos para remover los rastros de amonio presentes en el ácido molibdico. En la segunda etapa, se dejó enfriar la solución y se adicionaron 70 ml de agua destilada y 25 ml de ácido fosfórico al 85%. Finalmente, la mezcla fue transferida a un matraz volumétrico de 100 ml y se aforó con agua destilada.

Para la cuantificación de giberelinas se colocaron en un tubo de ensaye 1 ml del extracto de cada planta previamente obtenido y 3 ml de reactivo de ácido fosfomolibdico, luego para que ocurriera la reacción, los tubos se mantuvieron en baño maría a ebullición durante 60 minutos. El tiempo de reacción comenzó a contarse dos minutos después de que se introdujeron los tubos en el baño, pasados los 60 minutos se retiraron los tubos del baño y se disminuyó la temperatura mediante un baño de hielo. Una vez a temperatura ambiente, la intensidad del color azul desarrollado en los tubos se leyó a una longitud de onda de 780 nm en espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

9.4 Resultados y discusión

Tanto para AIA como para giberelinas, el germinado de cebada presentó una concentración significativamente mayor con BCH0.4 que con BCH0.2 y el control (Figuras 24 y 25). Para el maíz y la lechuga, BCH0.2 fue el tratamiento que presentó mayor concentración de fitohormonas, aunque la diferencia con respecto a BCH0.4 y el control no fueron significativas. Para el jitomate, fue el control el que presentó la mayor concentración de ambas fitohormonas; para AIA, las concentraciones fueron significativamente mayores en el control

y en BCH0.2 que en BCH0.4, mientras que para giberelinas la concentración fue significativamente mayor en el control que en los dos tratamientos con biochar. Estas diferencias en las concentraciones, probablemente se deba al tamaño de los germinados que se usó para cuantificar las fitohormonas: 17-19 cm en cebada, 5 cm en maíz y 3 cm en lechuga y tomate.

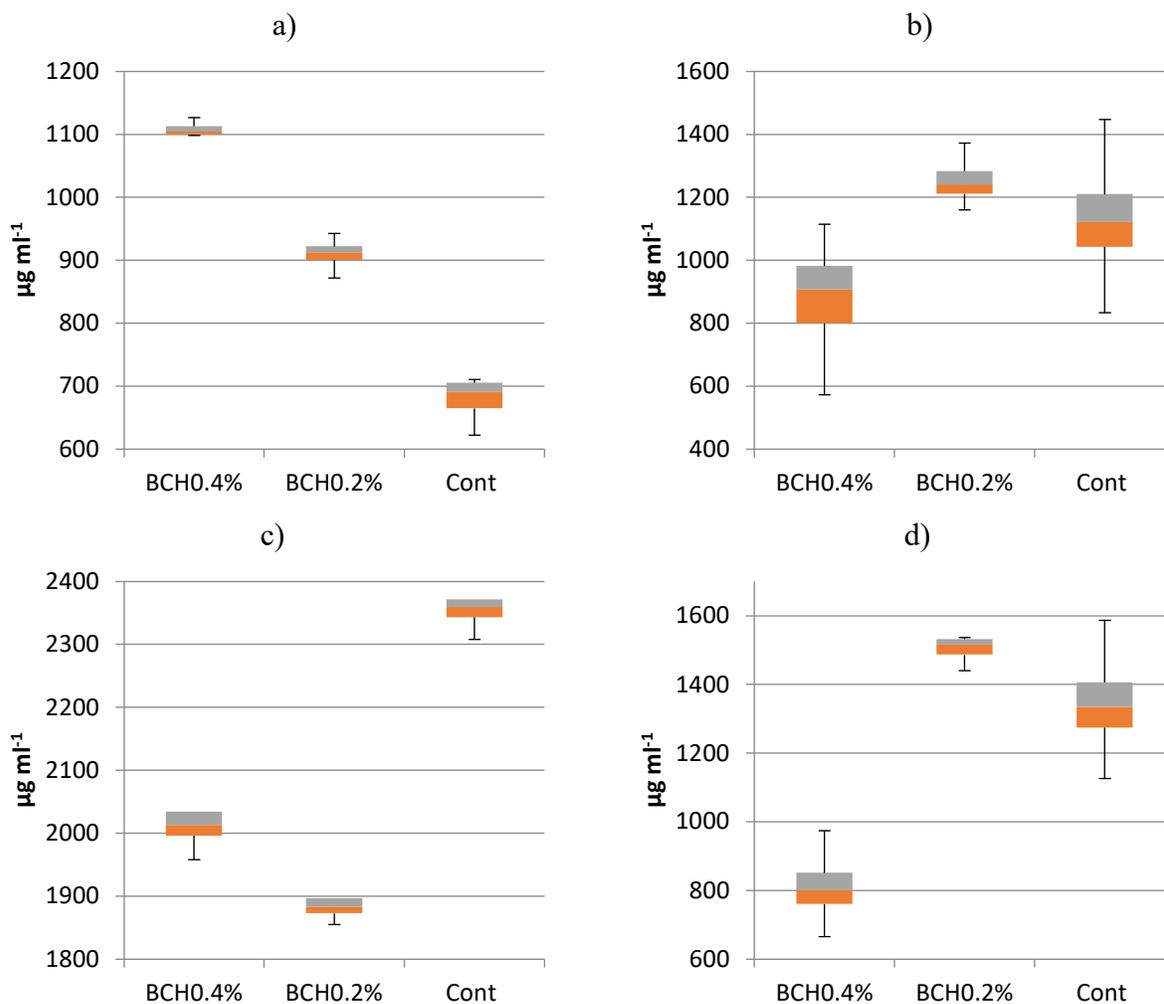


Figura 24. Concentración de auxinas (AIA). a) germinados de cebada b) germinados de maíz c) germinados de lechuga d) germinados de jitomate.

BCH0.4, biochar al 0.4% (p/p, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y BCH0.2, biochar al 0.2% (p/p, equivalente a 8 Mg ha⁻¹)

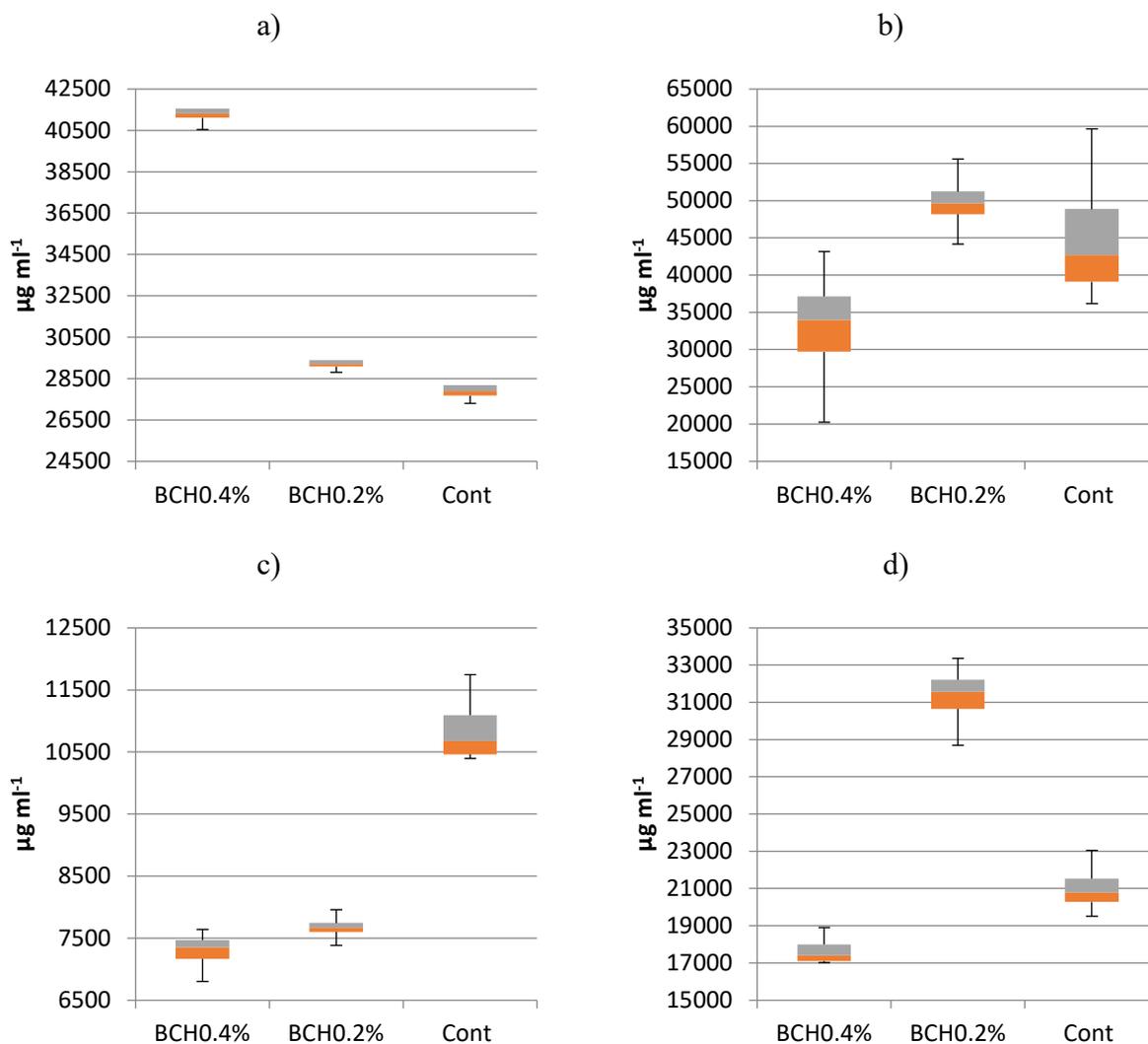


Figura 25. Concentración de giberelinas. a) germinados de cebada b) germinados de maíz c) germinados de lechuga d) germinados de jitomate.

BCH0.4, biochar al 0.4% (p/p, equivalente a 16 Mg ha⁻¹), y BCH0.2, biochar al 0.2% (p/p, equivalente a 8 Mg ha⁻¹)

9.5 Monitoreo de las propiedades físicas y químicas del suelo con respecto al tiempo

Con el objetivo de evaluar la acción del *biochar* sobre las propiedades físicas y químicas del suelo a mediano plazo, se hizo un seguimiento durante un año de la CRA y el pH del suelo usado en los ensayos de inhibición de la germinación, pues estas son unas de las principales características que se modifican con la incorporación del *biochar* al suelo. Las determinaciones se realizaron mensualmente durante los tres primeros meses y posteriormente, de forma trimestral durante nueve meses.

9.6 Resultados y discusión

Los resultados obtenidos de la evaluación de las propiedades del suelo una vez adicionado el *biochar* se pueden observar en las Figuras 26 y 27.

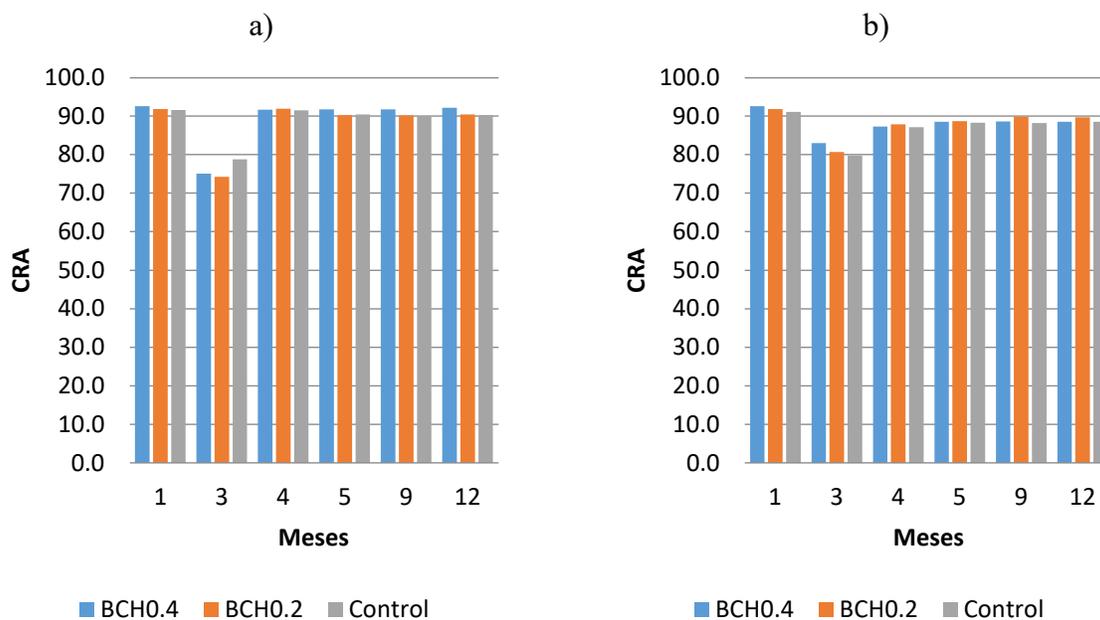


Figura 26. Gráficas de la CRA del suelo de los germinados: a) cebada y b) maíz.

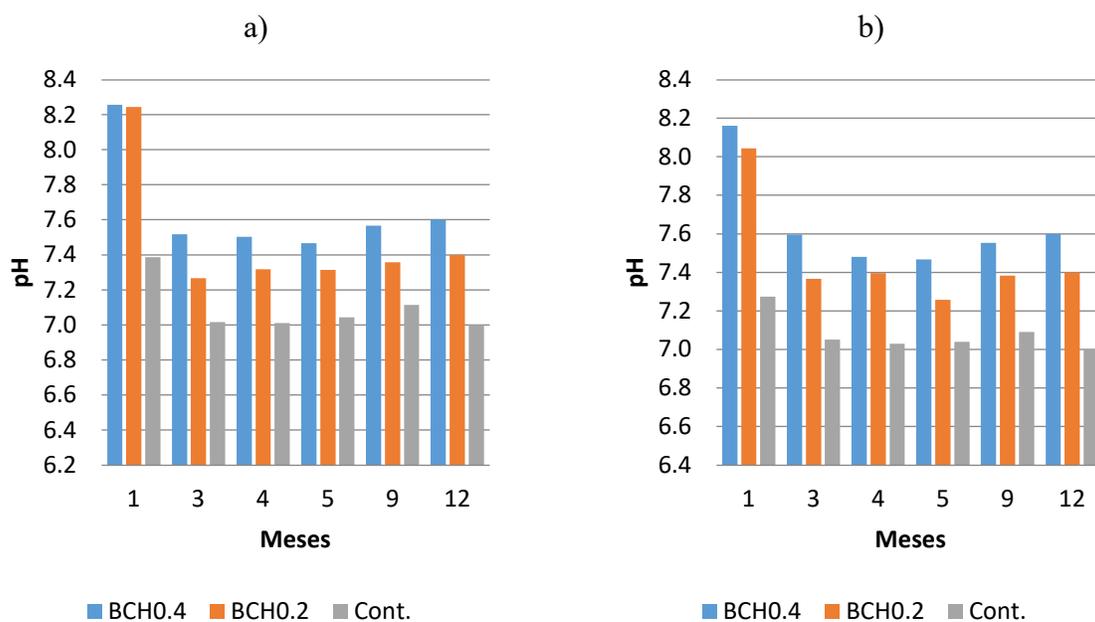


Figura 27. Gráficas del pH del suelo de los germinados. a) cebada y b) maíz.

El *biochar* puede aumentar el pH en 0.5–1.0 unidades en la mayoría de los casos para tasas de aplicación de 30 Mg ha⁻¹ de *biochar* (Shackley et al., 2013). En la Figura 25 se puede observar que con ambos tratamientos se incrementó el pH posterior a la adición del *biochar*, sin embargo, dos meses después las condiciones regresan a unos valores muy similares a los originales. El pH alcalino del *biochar* produce el mismo efecto que la cal en suelos ácidos, por lo que se puede sustituir la cal por el *biochar* y así obtener efectos benéficos para el suelo además de la corrección del pH. Como ya se ha mencionado antes, el efecto alcalinizante del *biochar* depende de su capacidad de neutralización de ácidos, que varía según la materia prima y la temperatura de pirólisis. Por ejemplo, el *biochar* producido a partir de residuos de molinos de papel pirólizados a 550 °C posee un valor alcalinizante aproximado del 30% de CaCO₃ (Van Zwieten et al., 2010). Se han reportado aumentos significativos en la germinación de semillas, el crecimiento de plantas y los rendimientos de cultivos en suelos mejorados con *biochar* (Glaser et al., 2002). También se ha observado un aumento en la población microbiana y la actividad microbiana en suelos adicionados con *biochar* (Lehmann et al., 2011; Verheijen et al., 2010).

9.7 Análisis microbiológico del suelo

Para evaluar el efecto del *biochar* sobre los microorganismos del suelo, se cuantificaron las poblaciones de mesófilos aerobios, *Escherichia coli* y coliformes totales en los suelos utilizados en las pruebas de inhibición de la germinación de la cebada y el maíz: suelos adicionados con 0.2% y 0.4% de *biochar* (BCH0.2 y BCH0.4, respectivamente), el suelo control (germinación sin *biochar*) y el suelo original, sin tratamiento alguno (SST). Para determinar el número de colonias presentes en los suelos, se aplicó la técnica de las diluciones decimales y siembra en placa de Petri, empleando 3 placas por dilución. Para mesófilos aerobios se utilizó agar para cuenta estándar (Difco™, Le Pont Claix, France) y para *Escherichia coli* y coliformes totales se usó el agar de bilis y rojo de violeta con MUG (Difco™, Le Pont Claix, France). Para este último, se utilizó base de doble capa. Todas las cajas sembradas se incubaron a 35°C durante 24 horas y transcurrido ese tiempo, se procedió a la observación macroscópica de las cajas en un contador de colonias de la marca Felisa®, modelo FE-500. En el caso del medio selectivo (agar bilis y rojo de violeta con MUG), los organismos coliformes forman colonias de color rojo púrpura que generalmente están

rodeadas por una zona rojiza de bilis precipitada. Cuando se examinan bajo luz fluorescente de onda larga, las colonias positivas para MUG están rodeadas por un halo fluorescente azulado. Mientras que las colonias de *E. coli* son rojas, rodeadas por una zona de bilis precipitada y emiten una fluorescencia azul bajo la luz ultravioleta de onda larga.

9.8 Resultados y discusión

El *biochar*, además de inducir la alcalinización del suelo, mejorara la retención de nutrientes y la inmovilización de metales pesados mediante adsorción catiónica, también se ha demostrado que puede modificar la composición y abundancia de la comunidad biológica de los suelos (Grossman et al., 2010; Jin, 2010; Kim et al., 2007; Lehmann et al., 2011; Liang et al., 2010; Liang et al., 2006; O'neill et al., 2009; Pietikäinen et al., 2000; Verheijen et al., 2010; Vivas et al., 2005; Yin et al., 2000). Los cambios significativos en las comunidades microbianas del suelo y sus actividades enzimáticas influyen en los procesos biogeoquímicos de los suelos (Awad et al., 2012; Lehmann et al., 2011). Dichos cambios pueden tener efectos sobre los ciclos de nutrientes (Steiner et al., 2008) o la estructura del suelo (Rillig & Mummey, 2006), generando que tanto las bacterias como los hongos de la rizosfera puedan promover el crecimiento de las plantas (Compant et al., 2010; Schwartz et al., 2006).

Los resultados obtenidos en el análisis microbiológico de los suelos de este estudio se pueden observar en la Tabla 13. Es importante mencionar, que solo se reportan los datos del suelo donde se germinó la cebada porque en las cajas del suelo de maíz hubo muy poco crecimiento. Esto último se atribuyó a que, durante la germinación del maíz hubo crecimiento de hongos, por lo que se trató el suelo con una solución de Caldo Bordelés, el cual consiste en una preparación a base de sulfato de cobre e hidróxido de calcio (cal apagada), que además de eliminar los hongos, probablemente afectó las colonias bacterianas.

Como resultado de la aplicación de *biochar* al suelo, se observó un incremento en las colonias bacterianas en ambos tratamientos con biochar (BCH0.2 y BCH0.4), respecto al Control y el SST. Sin embargo, existe una concentración menor de las tres poblaciones estudiadas en el suelo con BCH0.4 respecto al suelo con BCH0.2. Lo anterior podría deberse a una competencia entre las plantas y los microorganismos por los nutrientes; al haber un mayor crecimiento de la cebada con BCH0.4, posiblemente hay menos nutrientes para el desarrollo de los microorganismos.

Tabla 133. Resultados del análisis microbiológico.

Suelo Cebada \ UFC g ⁻¹	Mesófilos aerobios	Coliformes totales	<i>E.coli</i>
SST	5.4x10 ⁶	1.5x10 ⁴	1666
Control	2x10 ⁶	6x10 ⁴	1x10 ⁵
BCH0.2	2.3x10 ⁷	5x10 ⁶	7x10 ⁵
BCH0.4	6.5x10 ⁶	4.5x10 ⁶	6.3x10 ⁵

SST: suelo sin tratamiento, BCH0.2 y BCH0.4: con 0.2% y 0.4 %de biochar, respectivamente.

La abundancia microbiana en suelos modificados con *biochar* se ha cuantificado mediante varios métodos, incluido el ADN genómico total extraído (Grossman et al., 2010; Jin, 2010; Neill, 2007), cultivo y recuento en placa (Jackson, 1958; O’neill et al., 2009), respiración inducida por sustrato (Kolb et al., 2009; Steiner et al., 2004; Wardle et al., 2008; Zackrisson et al., 1996), fumigación/extracción (Jin, 2010; Liang et al., 2010), extracción de ácidos grasos de fosfolípidos (Birk et al., 2009), tinción y observación directa de partículas de *biochar* individuales (Jackson, 1958; Jin, 2010; Pietikäinen et al., 2000; Warnock et al., 2007). Además, como se mencionó anteriormente, se ha demostrado que la tasa de reproducción microbiana aumenta en algunos suelos adicionados con *biochar* (Pietikäinen et al., 2000; Steiner et al., 2004) y regados con aguas residuales (Koch et al., 1991). Jin (2010) encontró una mejora en la abundancia microbiana mediante la adición de *biochar*. Un estudio llevado a cabo por Liu et al. (2018) encontró que agregar *biochar* junto con el inoculante micorrízico arbuscular promueve significativamente las poblaciones de hongos. La modificación del *biochar* a menudo es beneficiosa para la proliferación y el desarrollo de poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares (Hammer et al., 2014; Wu et al., 2005; Xu et al., 2013). El *biochar* usado como mejorador de suelo puede afectar estos hongos a través de varios mecanismos que incluyen la modificación de las propiedades fisicoquímicas para facilitar su crecimiento y proporcionar refugio de los herbívoros de hifas, la promoción de microorganismos que interactúan con los hongos, como las bacterias solubilizadoras de P, y cambios en los compuestos de señalización de los hongos que afectan la germinación de esporas y la ramificación de hifas (Hammer et al., 2015; Hu et al., 2014; Liu et al., 2017; Vanek et al., 2015; Zwetsloot et al., 2016). Por otro lado, la abundancia microbiana, especialmente la de los microorganismos no simbióticos en condiciones limitantes de

nutrientes, puede aumentar con una disponibilidad de nutrientes ligeramente mayor, ya sea debido a mejoras en la retención de nutrientes causadas por el *biochar* o a los nutrientes que son liberados por este mismo (Lochhead & Chase, 1943; Taylor, 1951). También se ha reportado que el uso de *biochar* promueve la respiración del suelo (Yu et al., 2013), debido a la estimulación de la actividad microbiana a través de la adición de carbono soluble y nutrientes, la mejora de la aireación del suelo y la disminución de la acidez (Hamer et al., 2004; Kuzyakov et al., 2000).

Otra posible explicación de la disminución en el conteo de colonias en el suelo tratado con BCH0.4, podría ser el efecto contrario: a mayor disponibilidad de nutrientes, las plantas prescinden de algunas relaciones simbióticas, lo que afecta a esos grupos microbianos. Se ha observado una disminución en la abundancia o proporción relativa de las micorrizas y la biomasa microbiana total después de la adición de *biochar* (Birk et al., 2009; Gaur & Adholeya, 2000; Warnock et al., 2007; Warnock et al., 2010). Esta disminución podría deberse a: (i) un requerimiento reducido de simbiosis debido a una mayor disponibilidad de nutrientes y agua para las plantas; por ejemplo, se han observado disminuciones en la abundancia de micorrizas cuando existe una mayor disponibilidad de P en el suelo (Corbin et al., 2003; Covacevich et al., 2006; Gryndler et al., 2006); (ii) efectos negativos causados por altos contenidos de elementos minerales o compuestos orgánicos perjudiciales, como altos contenidos de sal o metales pesados (Killham, 1985; Killham & Firestone, 1984); o (iii) cambios en las condiciones del suelo debido a modificaciones en el pH o la CRA. Se ha demostrado que el pH del *biochar* influye en la población microbiana del suelo y en las actividades enzimáticas involucradas en los ciclos del P, N y C (fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, fosfohidrolasa, lipasa-estereasa, estereasa, quimotripsina, tripsina) (Trupiano et al., 2017). Pietri et al. (2008) encontraron un aumento de la biomasa microbiana con valores crecientes de pH en un rango de 3.7 a 8,3 bajo las mismas condiciones ambientales. En otro estudio llevado a cabo por Rousk et al. (2010) encontraron que el número de colonias bacterianas aumenta con el aumento del pH hasta valores de alrededor de 7. También se han observado otros signos de disminución de la actividad microbiana con la adición de ciertos tipos de *bichar*, como la disminución de la producción de N₂O y la oxidación de CH₄ y la producción del inhibidor microbiano etileno (Spokas et al., 2010; Spokas & Reicosky, 2009).

Uno de los principales problemas con los que se ha enfrentado la aplicación de *biochar* es su efecto sobre el C nativo del suelo (Awad et al., 2013; Wardle et al., 2008). El *biochar* acelera la descomposición del C nativo del suelo (efecto de cebado positivo) al mejorar las poblaciones microbianas y la hidrólisis química al aumentar el pH del suelo (Kuzyakov et al., 2009; Yu et al., 2013). Sin embargo, también se ha demostrado que el *biochar* aumenta la adsorción de C orgánico disuelto, disminuyendo así su tasa de descomposición (efecto de cebado negativo) (Kwon et al., 2005; Zimmerman et al., 2011). Este efecto de cebado negativo se ha atribuido a la toxicidad del *biochar*, lo que resulta en una disminución de la actividad microbiana (Zimmerman et al., 2011).

CONCLUSIONES

De acuerdo a la caracterización y a la evaluación teórica realizada, *A. salmiana* es un sustrato prometedor para producir metano mediante una digestión anaerobia semiseca, con adición exógena de K, Mn y Ni, mientras que la ausencia de metales tóxicos en *A. salmiana* y en las excretas de conejo es un aspecto importante para usarlos como insumos en un proceso biotecnológico y para asegurar la calidad de los productos obtenidos. Otra opción factible para producir biogás rico en metano (CH₄), es usar un cosustrato, como *O. heliabravoana*, que aporte agua y los elementos antes mencionados. El conocimiento de la composición orgánica de un sustrato es útil para predecir el potencial de CH₄ y la biodegradabilidad de diferentes sustratos. Por otra parte, los modelos de predicción ayudan a explicar el comportamiento y la cinética del proceso, señalando la mejor configuración de codigestión y ahorrando tiempo y costos, con gran fiabilidad.

Las modificaciones realizadas al gasificador TLUD mantienen las ventajas del modelo original, en cuanto a la facilidad de construcción y a la economía en su construcción y operación, al mismo tiempo que agregan la posibilidad de controlar hasta cierto punto la temperatura y hacen más fácil y segura la finalización del proceso.

El *biochar* obtenido presenta características que lo hacen útil como mejorador de suelos pobres, como los de las zonas semiáridas y de suelos ácidos. Sin embargo, se podría utilizar en otro tipo de suelo reduciendo la alcalinidad que presenta, ya sea disminuyendo las temperaturas de gasificación, oxidando el *biochar* producido o mezclándolo con otros residuos orgánicos. La producción de *biochar* representa una opción para la valoración de los residuos de la poda de los magueyes.

Los rendimientos de producción del *biochar* fueron similares empleando ASS y ASH, y aunque el proceso del ASH puede controlarse con mayor facilidad, debido a que la humedad es más baja y homogénea, el ASS no requiere de energía adicional, lo cual disminuiría los costos de producción.

Las pruebas de inhibición de la germinación demostraron que el *biochar* no es tóxico, por el contrario, incrementó el porcentaje de germinación con ambas dosis. Sin embargo, el tratamiento con 0.4% de biochar (BCH0.4) fue el que mostró los mejores resultados en cuanto a porcentaje de germinación, incremento en peso seco y altura de las plántulas. Mientras que

para las poblaciones microbianas, el tratamiento con biochar al 0.2% fue el que favoreció más su desarrollo. Al final del ensayo, se determinó que, en el caso de la cebada, usando como tratamiento *biochar* al 0.4%, es el que presenta una mayor producción de fitohormonas, mientras que, en el resto de las semillas, el control era el que predominaba, ya que uno de los factores importante en el proceso de producción de fitohormonas es el tiempo de crecimiento, por lo que largos períodos de maduración originan el decremento del contenido de auxinas, debido a su catabolismo.

REFERENCIAS

- Achinas, S., & Euverink, G. J. W. J. R.-E. T. (2016). Theoretical analysis of biogas potential prediction from agricultural waste. *2*(3), 143-147.
- Ahmad, M., Rajapaksha, A. U., Lim, J. E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., . . . Ok, Y. S. J. C. (2014). Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review. *99*, 19-33.
- Akhtar, J., Amin, N. S. J. R., & Reviews, S. E. (2012). A review on operating parameters for optimum liquid oil yield in biomass pyrolysis. *16*(7), 5101-5109.
- Ali, L., Xiukang, W., Naveed, M., Ashraf, S., Nadeem, S. M., Haider, F. U., & Mustafa, A. J. A. S. (2021). Impact of biochar application on germination behavior and early growth of maize seedlings: insights from a growth room experiment. *11*(24), 11666.
- Alonso, D. M., Bond, J. Q., & Dumesic, J. A. J. G. c. (2010). Catalytic conversion of biomass to biofuels. *12*(9), 1493-1513.
- Alotaibi, K. D., & Schoenau, J. J. J. A. (2019). Addition of biochar to a sandy desert soil: effect on crop growth, water retention and selected properties. *9*(6), 327.
- Amonette, J. E., & Joseph, S. (2012). Characteristics of biochar: microchemical properties. In *Biochar for environmental management* (pp. 65-84): Routledge.
- Angelidaki, I., Ellegaard, L., & Ahring, B. K. J. B. I. (2003). Applications of the anaerobic digestion process. 1-33.
- Aruhiza, P. (2013). *Efecto de biol como fertilizante foliar a diferentes niveles en la producción del cultivo de frutilla (Fragaria x annanasa) en el Centro Experimental de Cota Cota*. Retrieved from
- Awad, Y. M., Blagodatskaya, E., Ok, Y. S., & Kuzyakov, Y. J. E. J. o. S. B. (2012). Effects of polyacrylamide, biopolymer, and biochar on decomposition of soil organic matter and plant residues as determined by ¹⁴C and enzyme activities. *48*, 1-10.
- Awad, Y. M., Blagodatskaya, E., Ok, Y. S., & Kuzyakov, Y. J. E. j. o. s. s. (2013). Effects of polyacrylamide, biopolymer and biochar on the decomposition of ¹⁴C-labelled maize residues and on their stabilization in soil aggregates. *64*(4), 488-499.
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2000). *Fundamentos de la Fisiología Vegetal*. España: Ediciones Universitat de Barcelona. Editorial Mc Graw-Hill. In: interamericana de España, SAU.
- Balat, M., Balat, M., Kirtay, E., Balat, H. J. E. c., & Management. (2009). Main routes for the thermo-conversion of biomass into fuels and chemicals. Part 1: Pyrolysis systems. *50*(12), 3147-3157.
- Birk, J., Steiner, C., Teixeira, W., Zech, W., & Glaser, B. J. A. d. e. W. S. s. v. (2009). Microbial response to charcoal amendments and fertilization of a highly weathered tropical soil. 309-324.
- Bolyos, E., Lawrence, D., & Nordin, A. (2003). *Biomass as an energy source: the challenges and the path forward*. Paper presented at the Proceedings from the Third International Disposal Conference; Karlskoga; Sweden; 10-11 November; 2003.
- Borland, A. M., Griffiths, H., Hartwell, J., & Smith, J. A. C. J. J. o. E. B. (2009). Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *60*(10), 2879-2896.
- Bremner, J. (1965). Nitrogen availability indexes. *9*, 1324-1345.
- Brewer, C. E., Chuang, V. J., Masiello, C. A., Gonnermann, H., Gao, X., Dugan, B., . . . bioenergy. (2014). New approaches to measuring biochar density and porosity. *66*, 176-185.
- Brewer, C. E., Hu, Y. Y., Schmidt-Rohr, K., Loynachan, T. E., Laird, D. A., & Brown, R. C. J. J. o. e. q. (2012). Extent of pyrolysis impacts on fast pyrolysis biochar properties. *41*(4), 1115-1122.

- Brewer, C. E., Schmidt-Rohr, K., Satrio, J. A., Brown, R. C. J. E. P., & Engineers, S. E. A. O. P. o. t. A. I. o. C. (2009). Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems. *28*(3), 386-396.
- Bridgwater. (2003). Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. *91*(2-3), 87-102.
- Bridgwater. (2012). Review of fast pyrolysis of biomass and product upgrading. *38*, 68-94.
- Bridgwater, & Peacocke, G. (2000). Fast pyrolysis processes for biomass. *4*(1), 1-73.
- Cagnon, B., Py, X., Guillot, A., Stoeckli, F., & Chambat, G. J. B. T. (2009). Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors. *100*(1), 292-298.
- Callaghan, F., Wase, D., Thayanithy, K., Forster, C. J. B., & bioenergy. (2002). Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *22*(1), 71-77.
- Cao, X., & Harris, W. J. B. t. (2010). Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. *101*(14), 5222-5228.
- Carrier, M., Joubert, J.-E., Danje, S., Hugo, T., Görgens, J., & Knoetze, J. H. J. B. t. (2013). Impact of the lignocellulosic material on fast pyrolysis yields and product quality. *150*, 129-138.
- Carrier, M., Loppinet-Serani, A., Denux, D., Lasnier, J.-M., Ham-Pichavant, F., Cansell, F., . . . bioenergy. (2011). Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass. *35*(1), 298-307.
- Carter, S., Shackley, S., Sohi, S., Suy, T. B., & Haefele, S. J. A. (2013). The impact of biochar application on soil properties and plant growth of pot grown lettuce (*Lactuca sativa*) and cabbage (*Brassica chinensis*). *3*(2), 404-418.
- Celis, Lina Ximena, Gallardo Echeverri, & Ricardo, I. (2008). Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (ácido indol acético y giberelinas) en cultivos microbianos.
- Cengel, Y. A., Boles, M. A., & Kanoğlu, M. (2011). *Thermodynamics: an engineering approach* (Vol. 5): McGraw-hill New York.
- Cha, J. S., Park, S. H., Jung, S.-C., Ryu, C., Jeon, J.-K., Shin, M.-C., . . . Chemistry, E. (2016). Production and utilization of biochar: A review. *40*, 1-15.
- Chan, Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., & Joseph, S. (2007a). Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. *45*(8), 629-634.
- Chan, Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., & Joseph, S. (2007b). *Assessing the agronomic values of contrasting char materials on Australian hardsetting soil*. Paper presented at the Proceedings of the Conference of the International Agrichar Initiative.
- Chang, S.-T., & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*: CRC press.
- Chávez-Guerrero, L., & Hinojosa, M. J. F. (2010). Bagasse from the mezcal industry as an alternative renewable energy produced in arid lands. *89*(12), 4049-4052.
- Chen, Chen, Z., & Lv, S. J. B. t. (2011). A novel magnetic biochar efficiently sorbs organic pollutants and phosphate. *102*(2), 716-723.
- Chen, Liu, D., Shen, Z., Bao, B., Zhao, S., & Wu, L. J. E. a. (2015). Functional biomass carbons with hierarchical porous structure for supercapacitor electrode materials. *180*, 241-251.
- Cheng, C.-H., Lehmann, J., & Engelhard, M. H. J. G. e. c. a. (2008). Natural oxidation of black carbon in soils: changes in molecular form and surface charge along a climosequence. *72*(6), 1598-1610.
- Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A. J. S. B., & Biochemistry. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *42*(5), 669-678.
- Corbin, J. D., Avis, P. G., Wilbur, R. B. J. W., Air,, & Pollution, S. (2003). The role of phosphorus availability in the response of soil nitrogen cycling, understory vegetation and arbuscular mycorrhizal inoculum potential to elevated nitrogen inputs. *147*, 141-162.

- Costa, I., Massard, G., & Agarwal, A. J. J. o. C. P. (2010). Waste management policies for industrial symbiosis development: case studies in European countries. *18*(8), 815-822.
- Covacevich, F., Marino, M. A., & Echeverría, H. E. J. E. J. o. S. B. (2006). The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. *42*(3), 127-138.
- Crombie, K., Mašek, O., Sohi, S. P., Brownsort, P., & Cross, A. J. G. B. (2013). The effect of pyrolysis conditions on biochar stability as determined by three methods. *5*(2), 122-131.
- Cruz-Méndez, A. S., Ortega-Ramírez, E., Lucho-Constantino, C. A., Arce-Cervantes, O., Vázquez-Rodríguez, G. A., Coronel-Olivares, C., & Beltrán-Hernández, R. I. J. A. S. (2021). Bamboo Biochar and a Nopal-Based Biofertilizer as Improvers of Alkaline Soils with Low Buffer Capacity. *11*(14), 6502.
- Das, S. K., Ghosh, G. K., & Avasthe, R. (2020a). Ecotoxicological responses of weed biochar on seed germination and seedling growth in acidic soil. *20*, 101074.
- Das, S. K., Ghosh, G. K., & Avasthe, R. (2020b). Evaluating biomass-derived biochar on seed germination and early seedling growth of maize and black gram. 1-14.
- Demirbas, A. (2004). Effects of temperature and particle size on bio-char yield from pyrolysis of agricultural residues. *72*(2), 243-248.
- Demirbas, A., & Arin, G. (2002). An overview of biomass pyrolysis. *24*(5), 471-482.
- Dou, L., Komatsuzaki, M., Nakagawa, M. J. I. R. J. o. A. S., & Science, S. (2012). Effects of Biochar, Mokusakueki and Bokashi application on soil nutrients, yields and qualities of sweet potato. *2*(8), 318-327.
- Doumer, M. E., Arízaga, G. G. C., da Silva, D. A., Yamamoto, C. I., Novotny, E. H., Santos, J. M., . . . Pyrolysis, A. (2015). Slow pyrolysis of different Brazilian waste biomasses as sources of soil conditioners and energy, and for environmental protection. *113*, 434-443.
- Downie, A., Crosky, A., & Munroe, P. (2012). Physical properties of biochar. In *Biochar for environmental management* (pp. 45-64): Routledge.
- Dutta, B., Raghavan, V. J. I. J. o. E., & Engineering, E. (2014). A life cycle assessment of environmental and economic balance of biochar systems in Quebec. *5*(2), 1-11.
- Escalante Rebolledo, A., Pérez López, G., Hidalgo Moreno, C., López Collado, J., Campo Alves, J., Valtierra Pacheco, E., & Etchevers Barra, J. D. J. T. L. (2016). Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *34*(3), 367-382.
- Fabbri, D., & Torri, C. J. C. o. i. b. (2016). Linking pyrolysis and anaerobic digestion (Py-AD) for the conversion of lignocellulosic biomass. *38*, 167-173.
- Feng, Q., Lin, Y. J. R., & Reviews, S. E. (2017). Integrated processes of anaerobic digestion and pyrolysis for higher bioenergy recovery from lignocellulosic biomass: a brief review. *77*, 1272-1287.
- Fernández, A. J. T. d. g. M., Puebla.: Universidad de Las Américas. Escuela de Ciencias. Departamento de Química y Biología. (2005). Fitoquímica del Agave salmiana.
- Fidel, R. B. (2012). *Evaluation and implementation of methods for quantifying organic and inorganic components of biochar alkalinity*. Iowa State University,
- Fischer-Kowalski, M., Krausmann, F., Giljum, S., Lutter, S., Mayer, A., Bringezu, S., . . . Weisz, H. J. J. o. I. E. (2011). Methodology and indicators of economy-wide material flow accounting: State of the art and reliability across sources. *15*(6), 855-876.
- Flores-Gómez, C. A., Escamilla Silva, E. M., Zhong, C., Dale, B. E., da Costa Sousa, L., & Balan, V. J. B. f. b. (2018). Conversion of lignocellulosic agave residues into liquid biofuels using an AFEX™-based biorefinery. *11*(1), 1-18.
- Flores-Sahagún, T. H., Dos Santos, L. P., Dos Santos, J., Mazzaro, I., Mikowski, A. J. C. P. A. A. S., & Manufacturing. (2013). Characterization of blue agave bagasse fibers of Mexico. *45*, 153-161.

- Funke, A., Mumme, J., Koon, M., Diakité, M. J. B., & bioenergy. (2013). Cascaded production of biogas and hydrochar from wheat straw: Energetic potential and recovery of carbon and plant nutrients. *58*, 229-237.
- García-Herrera, E. J., Méndez-Gallegos, S., & Talavera-Magana, D. J. R. S. P. y. N., Special Ed. (2010). El genero *Agave* spp. en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *5*, 109-129.
- García, G. J., & Ballesteros, G. M. I. (2005). Evaluación de parámetros de calidad para la determinación de carbono orgánico en suelos. *34*(2), 201-209.
- Gasco, G., Cely, P., Paz-Ferreiro, J., Plaza, C., Mendez, A. J. B. A., & Horticulture. (2016). Relation between biochar properties and effects on seed germination and plant development. *32*(4), 237-247.
- Gaskin, J. H., Steiner, C., Harris, K., Das, K., & Bibens, B. J. T. o. t. A. (2008). Effect of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agricultural use. *51*(6), 2061-2069.
- Gaur, A., & Adholeya, A. J. M. (2000). Effects of the particle size of soil-less substrates upon AM fungus inoculum production. *10*, 43-48.
- Geissdoerfer, M., Savaget, P., Bocken, N. M., & Hultink, E. J. J. o. c. p. (2017). The Circular Economy—A new sustainability paradigm? , *143*, 757-768.
- Gelegenis, J., Georgakakis, D., Angelidaki, I., Christopoulou, N., & Goumenaki, M. J. A. E. (2007). Optimization of biogas production from olive-oil mill wastewater, by codigesting with diluted poultry-manure. *84*(6), 646-663.
- Geng, Y., Doberstein, B. J. T. I. J. o. S. D., & Ecology, W. (2008). Developing the circular economy in China: Challenges and opportunities for achieving 'leapfrog development'. *15*(3), 231-239.
- Ghodake, G. S., Shinde, S. K., Kadam, A. A., Saratale, R. G., Saratale, G. D., Kumar, M., . . . Syed, A. J. J. o. C. P. (2021). Review on biomass feedstocks, pyrolysis mechanism and physicochemical properties of biochar: State-of-the-art framework to speed up vision of circular bioeconomy. 126645.
- Glaser, B., Guggenberger, G., & Zech, W. (2004). Identifying the pre-Columbian anthropogenic input on present soil properties of Amazonian dark earths (Terra Preta). In *Amazonian dark earths: Explorations in space and time* (pp. 145-158): Springer.
- Glaser, B., Haumaier, L., Guggenberger, G., & Zech, W. J. N. (2001). The 'Terra Preta' phenomenon: a model for sustainable agriculture in the humid tropics. *88*(1), 37-41.
- Glaser, B., Lehmann, J., Zech, W. J. B., & soils, f. o. (2002). Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal—a review. *35*(4), 219-230.
- Glickmann, E., Dessaux, Y. J. A., & microbiology, e. (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *61*(2), 793-796.
- Goyal, H., Seal, D., Saxena, R. J. R., & reviews, s. e. (2008). Bio-fuels from thermochemical conversion of renewable resources: a review. *12*(2), 504-517.
- Grossman, J. M., O'Neill, B. E., Tsai, S. M., Liang, B., Neves, E., Lehmann, J., & Thies, J. E. J. M. e. (2010). Amazonian anthrosols support similar microbial communities that differ distinctly from those extant in adjacent, unmodified soils of the same mineralogy. *60*, 192-205.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hřelová, H., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., & Kubát, J. J. M. (2006). Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *16*(3), 159-166.
- Guizani, C., Jeguirim, M., Valin, S., Limousy, L., & Salvador, S. J. E. (2017). Biomass chars: The effects of pyrolysis conditions on their morphology, structure, chemical properties and reactivity. *10*(6), 796.
- Hamer, U., Marschner, B., Brodowski, S., & Amelung, W. J. O. g. (2004). Interactive priming of black carbon and glucose mineralisation. *35*(7), 823-830.

- Hammer, E. C., Balogh-Brunstad, Z., Jakobsen, I., Olsson, P. A., Stipp, S. L., Rillig, M. C. J. S. B., & Biochemistry. (2014). A mycorrhizal fungus grows on biochar and captures phosphorus from its surfaces. *77*, 252-260.
- Hammer, E. C., Forstreuter, M., Rillig, M. C., & Kohler, J. J. A. s. e. (2015). Biochar increases arbuscular mycorrhizal plant growth enhancement and ameliorates salinity stress. *96*, 114-121.
- Hansen, V., Müller-Stöver, D., Ahrenfeldt, J., Holm, J. K., Henriksen, U. B., Hauggaard-Nielsen, H. J. B., & Bioenergy. (2015). Gasification biochar as a valuable by-product for carbon sequestration and soil amendment. *72*, 300-308.
- Hartmann, H., Ahring, B. K. J. W. s., & technology. (2006). Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: an overview. *53*(8), 7-22.
- Heredia, A., Esparza Ibarra, E. L., Romero Bautista, L., Cabral Arellano, F. J., & Bañuelos Valenzuela, R. (2014). Bagazos de *Agave salmiana* y *Agave weberi* utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*.
- Horikawa, M., Rossi, F., Gimenes, M., Costa, C., & Da Silva, M. J. B. j. o. c. e. (2004). Chemical absorption of H₂S for biogas purification. *21*, 415-422.
- Hu, J., Wu, F., Wu, S., Lam, C. L., Lin, X., & Wong, M. H. J. S. r. (2014). Biochar and *Glomus caledonium* influence Cd accumulation of upland kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) intercropped with Alfred stonecrop (*Sedum alfredii* Hance). *4*(1), 4671.
- Hunt, R. G., Franklin, W. E., & Hunt, R. J. T. i. j. o. l. c. a. (1996). LCA—How it came about. *1*(1), 4-7.
- Hussain, M., Farooq, M., Nawaz, A., Al-Sadi, A. M., Solaiman, Z. M., Alghamdi, S. S., . . . Sediments. (2017). Biochar for crop production: potential benefits and risks. *17*, 685-716.
- IBI. (2015). Standardized product definition and product testing guidelines for biochar that is used in soil. *23*.
- Ippolito, J. A., Spokas, K. A., Novak, J. M., Lentz, R. D., & Cantrell, K. B. (2015). Biochar elemental composition and factors influencing nutrient retention. In *Biochar for environmental management* (pp. 139-163): Routledge.
- Izumi, Y., Okazawa, A., Bamba, T., Kobayashi, A., & Fukusaki, E. J. A. C. A. (2009). Development of a method for comprehensive and quantitative analysis of plant hormones by highly sensitive nanoflow liquid chromatography–electrospray ionization-ion trap mass spectrometry. *648*(2), 215-225.
- Jackson, R. (1958). *The ecology of fungi in the soil with special reference to fungistasis*. University of London (University College, Ibadan and Rothamsted Experimental ...,
- Jawahir, I., & Bradley, R. J. P. C. (2016). Technological elements of circular economy and the principles of 6R-based closed-loop material flow in sustainable manufacturing. *40*, 103-108.
- Jenkins, B., Baxter, L., Miles Jr, T., & Miles, T. J. F. p. t. (1998). Combustion properties of biomass. *54*(1-3), 17-46.
- Jin, H. (2010). Characterization of microbial life colonizing biochar and biochar-amended soils.
- Kambo, H. S., Dutta, A. J. R., & Reviews, S. E. (2015). A comparative review of biochar and hydrochar in terms of production, physico-chemical properties and applications. *45*, 359-378.
- Karthikeyan, O. P., Visvanathan, C. J. R. i. E. S., & Bio/Technology. (2013). Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review. *12*(3), 257-284.
- Kavitha, B., Reddy, P. V. L., Kim, B., Lee, S. S., Pandey, S. K., & Kim, K.-H. J. J. o. e. m. (2018). Benefits and limitations of biochar amendment in agricultural soils: A review. *227*, 146-154.
- Keiluweit, M., Nico, P. S., Johnson, M. G., Kleber, M. J. E. s., & technology. (2010). Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). *44*(4), 1247-1253.
- Killham. (1985). A physiological determination of the impact of environmental stress on the activity of microbial biomass. *38*(3), 283-294.

- Killham, & Firestone, M. (1984). Salt stress control of intracellular solutes in streptomycetes indigenous to saline soils. *47*(2), 301-306.
- Kim, Lee, Y., Park, J., Ryu, C., & Ohm, T.-I. J. W. M. (2016). Partial oxidation of sewage sludge briquettes in a updraft fixed bed. *49*, 204-211.
- Kim, Sparovek, G., Longo, R. M., De Melo, W. J., Crowley, D. J. S. B., & Biochemistry. (2007). Bacterial diversity of terra preta and pristine forest soil from the Western Amazon. *39*(2), 684-690.
- Kinney, T., Masiello, C., Dugan, B., Hockaday, W., Dean, M., Zygourakis, K., . . . Bioenergy. (2012). Hydrologic properties of biochars produced at different temperatures. *41*, 34-43.
- Kloss, S., Zehetner, F., Wimmer, B., Buecker, J., Rempt, F., Soja, G. J. J. o. P. N., & Science, S. (2014). Biochar application to temperate soils: effects on soil fertility and crop growth under greenhouse conditions. *177*(1), 3-15.
- Koch, B., Ostermann, M., Höke, H., & Hempel, D.-C. J. W. r. (1991). Sand and activated carbon as biofilm carriers for microbial degradation of phenols and nitrogen-containing aromatic compounds. *25*(1), 1-8.
- Kolb, S. E., Fermanich, K. J., & Dornbush, M. E. J. S. S. S. o. A. J. (2009). Effect of charcoal quantity on microbial biomass and activity in temperate soils. *73*(4), 1173-1181.
- Konwar, L. J., Boro, J., Deka, D. J. R., & Reviews, S. E. (2014). Review on latest developments in biodiesel production using carbon-based catalysts. *29*, 546-564.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J., Stahr, K. J. S. B., & Biochemistry. (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. *32*(11-12), 1485-1498.
- Kuzyakov, Y., Subbotina, I., Chen, H., Bogomolova, I., Xu, X. J. S. B., & Biochemistry. (2009). Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by ¹⁴C labeling. *41*(2), 210-219.
- Kwon, S., Pignatello, J. J. J. E. s., & technology. (2005). Effect of natural organic substances on the surface and adsorptive properties of environmental black carbon (char): pseudo pore blockage by model lipid components and its implications for N₂-probed surface properties of natural sorbents. *39*(20), 7932-7939.
- Laird, D. A., Fleming, P., Davis, D. D., Horton, R., Wang, B., & Karlen, D. L. J. G. (2010). Impact of biochar amendments on the quality of a typical Midwestern agricultural soil. *158*(3-4), 443-449.
- Lawrence, G. (1951). *Taxonomy of vascular plants* New York.
- Lazarevic, D., Valve, H. J. E. R., & Science, S. (2017). Narrating expectations for the circular economy: Towards a common and contested European transition. *31*, 60-69.
- Lee, Flores-Encarnacion, M., Contreras-Zentella, M., Garcia-Flores, L., Escamilla, J., & Kennedy, C. J. J. o. B. (2004). Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome c biogenesis genes. *186*(16), 5384-5391.
- Lee, Kidder, M., Evans, B. R., Paik, S., Buchanan Iii, A., Garten, C. T., . . . technology. (2010). Characterization of biochars produced from cornstovers for soil amendment. *44*(20), 7970-7974.
- Lee, Ryu, C., Park, Y.-K., Jung, J.-H., & Hyun, S. J. B. T. (2013). Characteristics of biochar produced from slow pyrolysis of *Geodae-Uksae* 1. *130*, 345-350.
- Lehmann. (2009). Terra preta Nova—where to from here? In *Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision* (pp. 473-486): Springer.
- Lehmann, da Silva Jr, J. P., Rondon, M., Cravo, M. d. S., Greenwood, J., Nehls, T., . . . Glaser, B. (2002). *Slash-and-char-a feasible alternative for soil fertility management in the central Amazon*. Paper presented at the Proceedings of the 17th World Congress of Soil Science.
- Lehmann, Gaunt, J., Rondon, M. J. M., & change, a. s. f. g. (2006). Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems—a review. *11*(2), 403-427.
- Lehmann, & Joseph, S. (2015). Biochar for environmental management: an introduction. In *Biochar for environmental management* (pp. 1-13): Routledge.

- Lehmann, Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., Crowley, D. J. S. b., & biochemistry. (2011). Biochar effects on soil biota—a review. *43*(9), 1812-1836.
- Lehmann, J. (2007). Bio-energy in the black. *5*(7), 381-387.
- Lehmann, J., Pereira da Silva, J., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., Glaser, B. J. P., & soil. (2003). Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *249*, 343-357.
- Li, Y. (2014). *Studies on cellulose hydrolysis and hemicellulose monosaccharide degradation in concentrated hydrochloric acid*. Université d'Ottawa/University of Ottawa,
- Liang, Lehmann, J., Sohi, S. P., Thies, J. E., O'Neill, B., Trujillo, L., . . . Neves, E. G. J. O. G. (2010). Black carbon affects the cycling of non-black carbon in soil. *41*(2), 206-213.
- Liang, Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Grossman, J., O'Neill, B., . . . Petersen, J. J. S. s. o. A. j. (2006). Black carbon increases cation exchange capacity in soils. *70*(5), 1719-1730.
- Liang, Li, G.-t., LIN, Q.-m., & ZHAO, X.-r. J. J. o. I. A. (2014). Crop yield and soil properties in the first 3 years after biochar application to a calcareous soil. *13*(3), 525-532.
- Liñán-Montes, A., De La Parra-Arciniega, S., Garza-González, M., García-Reyes, R., Soto-Regalado, E., Cerino-Córdova, F. J. J. o. T. A., & Calorimetry. (2014). Characterization and thermal analysis of agave bagasse and malt spent grain. *115*(1), 751-758.
- Liu, Charrua, A. B., Weng, C.-H., Yuan, X., & Ding, F. J. B. T. (2015). Characterization of biochars derived from agriculture wastes and their adsorptive removal of atrazine from aqueous solution: A comparative study. *198*, 55-62.
- Liu, Li, J., Yue, F., Yan, X., Wang, F., Bloszies, S., & Wang, Y. J. C. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and biochar amendment on maize growth, cadmium uptake and soil cadmium speciation in Cd-contaminated soil. *194*, 495-503.
- Liu, Wang, Y., Yan, X., Li, J., Jiao, N., Hu, S. J. A., *Ecosystems, & Environment*. (2017). Biochar amendments increase the yield advantage of legume-based intercropping systems over monoculture. *237*, 16-23.
- Lochhead, A., & Chase, F. J. S. S. (1943). Qualitative studies of soil microorganisms: V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *55*(2), 185-196.
- López-Serrano, P. M., Hernández-Ramos, A., Méndez-González, J., Martínez-Salvador, M., Aguirre-Calderón, O., Vargas-Larreta, B., Corral-Rivas J.J. (2021). Mejores prácticas de manejo y ecuaciones alométricas de biomasa de Agave salmiana Otto., en el estado de Zacatecas. Proyecto: 2017-4-292674. CONAFOR-CONACYT. México. .
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. J. T. O. C. d. I. S. M. d. I. C. d. S., AC. (2004). Plant growth-promoting bacteria in association with graminaceous species: A review.
- Luo, Z., Wang, S., Liao, Y., Zhou, J., Gu, Y., Cen, K. J. B., & bioenergy. (2004). Research on biomass fast pyrolysis for liquid fuel. *26*(5), 455-462.
- MacArthur, E. J. J. o. I. E. (2013). Towards the circular economy. *2*(1), 23-44.
- Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S. J., Lehmann, J. J. P., & soil. (2010). Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *333*, 117-128.
- Malhi, S., Nyborg, M., Harapiak, J. J. S., & research, t. (1998). Effects of long-term N fertilizer-induced acidification and liming on micronutrients in soil and in bromegrass hay. *48*(1-2), 91-101.
- McCourt, P. J. A. r. o. p. b. (1999). Genetic analysis of hormone signaling. *50*(1), 219-243.
- McSteen, P., & Zhao, Y. J. D. c. (2008). Plant hormones and signaling: common themes and new developments. *14*(4), 467-473.
- Melda, B., & Ruiz, M. d. I. L. (2004). Comparación del crecimiento de magueyes pulqueros (Agave salmiana Otto ex. Salm y Agave mapisaga Trel.) bajo esquemas de propagación in vitro y condiciones de invernadero. *1*, 1-6.

- Mohan, D., Pittman Jr, C. U., Steele, P. H. J. E., & fuels. (2006). Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. *20*(3), 848-889.
- Mohan, D., Sarswat, A., Ok, Y. S., & Pittman Jr, C. U. J. B. t. (2014). Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent—a critical review. *160*, 191-202.
- Moriguchi, Y. J. J. o. M. C., & Management, W. (2007). Material flow indicators to measure progress toward a sound material-cycle society. *9*(2), 112-120.
- Mukherjee, A., Zimmerman, A., & Harris, W. J. G. (2011). Surface chemistry variations among a series of laboratory-produced biochars. *163*(3-4), 247-255.
- Muñoz, E. G. F. (2005). *Biología floral de Agave salmiana*.
- Neill, B. E. (2007). *Microbial communities in Amazonian dark earth soils analyzed by culture-based and molecular approaches*: Cornell University, Jan.
- NMX-AA-026-SCFI-2001. AA-026-SCFI-2001. Análisis de agua. Determinación de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Página consultada el 14 de Mayo del 2009. In.
- NOM-021-RECNAT-2000. NORMA OFICIAL MEXICANA (NOM) NOM-021-RECNAT-2000, QUE ESTABLECE LAS ESPECIFICACIONES DE FERTILIDAD, SALINIDAD Y CLASIFICACION DE SUELOS. ESTUDIOS, MUESTREO Y ANALISIS INDICE.
- Novak, Lima, I., Xing, B., Gaskin, J. W., Steiner, C., Das, K., . . . Busscher, W. J. (2009). Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *3*(1), 195-206.
- Novak;, Busscher, W. J., Laird, D. L., Ahmedna, M., Watts, D. W., & Niandou, M. A. J. S. s. (2009). Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *174*(2), 105-112.
- O’neill, B., Grossman, J., Tsai, M., Gomes, J. E., Lehmann, J., Peterson, J., . . . Thies, J. E. J. M. e. (2009). Bacterial community composition in Brazilian Anthrosols and adjacent soils characterized using culturing and molecular identification. *58*, 23-35.
- Ogunjobi, J. K., & Lajide, L. J. J. S. E. E. (2013). Characterisation of bio-oil and bio-char from slow-pyrolysed Nigerian yellow and white corn cobs. *4*(2), 77-84.
- Oguntunde, P. G., Fosu, M., Ajayi, A. E., Van De Giesen, N. J. B., & soils, F. o. (2004). Effects of charcoal production on maize yield, chemical properties and texture of soil. *39*, 295-299.
- Olszyk, D. M., Shiroyama, T., Novak, J. M., Johnson, M. G. J. C. i. s. s., & analysis, p. (2018). A rapid-test for screening biochar effects on seed germination. *49*(16), 2025-2041.
- Pacioni, T. R., Soares, D., Di Domenico, M., Rosa, M. F., Moreira, R. d. F. P. M., & José, H. J. J. W. m. (2016). Bio-syngas production from agro-industrial biomass residues by steam gasification. *58*, 221-229.
- Paethanom, A., & Yoshikawa, K. J. E. (2012). Influence of pyrolysis temperature on rice husk char characteristics and its tar adsorption capability. *5*(12), 4941-4951.
- Patwardhan, P. R. (2010). *Understanding the product distribution from biomass fast pyrolysis*: Iowa State University.
- Peiris, C., Nayanathara, O., Navarathna, C. M., Jayawardhana, Y., Nawalage, S., Burk, G., . . . Kaumal, M. J. R. A. (2019). The influence of three acid modifications on the physicochemical characteristics of tea-waste biochar pyrolyzed at different temperatures: a comparative study. *9*(31), 17612-17622.
- Pereira, B. L. C., Carneiro, A. d. C. O., Carvalho, A. M. M. L., Colodette, J. L., Oliveira, A. C., & Fontes, M. P. F. J. B. (2013). Influence of chemical composition of Eucalyptus wood on gravimetric yield and charcoal properties. *8*(3), 4574-4592.
- Persson, M., Jönsson, O., & Wellinger, A. (2006). *Biogas upgrading to vehicle fuel standards and grid injection*. Paper presented at the IEA Bioenergy task.

- Pietikäinen, J., Kiikkilä, O., & Fritze, H. J. O. (2000). Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus. *89*(2), 231-242.
- Pietri, J. A., Brookes, P. J. S. B., & Biochemistry. (2008). Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *40*(7), 1856-1861.
- Qayyum, M. F., Abid, M., Danish, S., Saeed, M. K., & Ali, M. A. J. P. J. A. S. (2015). Effects of various biochars on seed germination and carbon mineralization in an alkaline soil. *51*, 977-982.
- Quicker, P., & Weber, K. J. H., Eigenschaften und Verwendung von Biomassekarbonisaten. Wiesbaden. (2016). Biokohle.
- Quintanar-Orozco, E. T., Vázquez-Rodríguez, G. A., Beltrán-Hernández, R. I., Lucho-Constantino, C. A., Coronel-Olivares, C., Montiel, S. G., . . . Research, P. (2018). Enhancement of the biogas and biofertilizer production from *Opuntia heliabravoana* Scheinvar. *25*(28), 28403-28412.
- Rajkovich, S., Enders, A., Hanley, K., Hyland, C., Zimmerman, A. R., Lehmann, J. J. B., & Soils, F. o. (2012). Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. *48*, 271-284.
- Ramaraj, R., Dussadee, N. J. I. J. o. S., & Energy, G. (2015). Biological purification processes for biogas using algae cultures: a review. *4*(1), 20-32.
- Ramos-Suárez, J. L., Martínez, A., Carreras, N. J. E. c., & management. (2014). Optimization of the digestion process of *Scenedesmus* sp. and *Opuntia maxima* for biogas production. *88*, 1263-1270.
- Rasul, G. (1999). *PRODUCTION OF GROWTH HORMONES AND NITROGEN BY DIAZOTROPHIC BACTERIA AND THEIR EFFECT ON PLANT GROWTH*. UNIVERSITY OF THE PUNJAB, LAHORE, PAKISTAN,
- Raveendran, K., Ganesh, A., & Khilar, K. C. J. F. (1996). Pyrolysis characteristics of biomass and biomass components. *75*(8), 987-998.
- Reuss, J., & Johnson, D. (1985). *Effect of soil processes on the acidification of water by acid deposition* (0047-2425). Retrieved from
- Rillig, M. C., & Mummey, D. L. J. N. p. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *171*(1), 41-53.
- Robertson, G. P., Sollins, P., Ellis, B. G., & Lajtha, K. J. S. s. m. f. l.-t. e. r. (1999). Exchangeable ions, pH, and cation exchange capacity. *2*, 462.
- Rogovska, N., Laird, D., Cruse, R., Trabue, S., & Heaton, E. J. J. o. e. q. (2012). Germination tests for assessing biochar quality. *41*(4), 1014-1022.
- Rojas, M. M., Hernández, A., Rives, N., Tejera, B., Acebo, Y., & Heydrich, M. J. A. B. C. (2012). Producción de antiseros para la detección de ácido indolacético en cultivos de bacterias promotoras del crecimiento vegetal. *17*(2), 271-280.
- Rollinson, A. (2016). Gasification reactor engineering approach to understanding the formation of biochar properties. *472*(2192), 20150841.
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P. C., Lauber, C. L., Lozupone, C., Caporaso, J. G., . . . Fierer, N. J. T. I. j. (2010). Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *4*(10), 1340-1351.
- Rutherford, D. W., Wershaw, R. L., & Cox, L. G. (2005). *Changes in composition and porosity occurring during the thermal degradation of wood and wood components*: US Department of the Interior, US Geological Survey.
- Ryckebosch, E., Drouillon, M., Vervaeren, H. J. B., & bioenergy. (2011). Techniques for transformation of biogas to biomethane. *35*(5), 1633-1645.
- Rzedowski, J., & Huerta, L. J. M., DF. (1978). Vegetación de México editorial limusa.
- Salisbury, F. B., Ross, C. W., González Velázquez, V., Palacios Martínez, R., & Philip, G. (1994). Fisiología vegetal.
- Salkowski, E. (1889). Ueber die Bildung von flüchtigen Fettsäuren bei der ammoniakalischen Harnsäuregärung.

- Schwartz, M. W., Hoeksema, J. D., Gehring, C. A., Johnson, N. C., Klironomos, J. N., Abbott, L. K., & Pringle, A. J. E. I. (2006). The promise and the potential consequences of the global transport of mycorrhizal fungal inoculum. *9*(5), 501-515.
- Shackley, S., Carter, S., Knowles, T., Middelink, E., Haefele, S., Sohi, S., . . . Haszeldine, S. J. E. P. (2012). Sustainable gasification–biochar systems? A case-study of rice-husk gasification in Cambodia, Part I: Context, chemical properties, environmental and health and safety issues. *42*, 49-58.
- Shackley, S., Sohi, S., Ibarrola, R., Hammond, J., Mašek, O., Brownsort, P., . . . Technology. (2013). Biochar, tool for climate change mitigation and soil management. *73-140*.
- Shafizadeh, F., & Fu, Y. L. (1973). Pyrolysis of cellulose. *29*(1), 113-122.
- Shen. (2015). Chars as carbonaceous adsorbents/catalysts for tar elimination during biomass pyrolysis or gasification. *43*, 281-295.
- Shen, Linville, J. L., Ignacio-de Leon, P. A. A., Schoene, R. P., & Urgun-Demirtas, M. J. J. o. C. P. (2016). Towards a sustainable paradigm of waste-to-energy process: Enhanced anaerobic digestion of sludge with woody biochar. *135*, 1054-1064.
- Shen;, Zhang, Y., McMillan, O., Jin, F., Al-Tabbaa, A. J. E. S., & Research, P. (2017). Characteristics and mechanisms of nickel adsorption on biochars produced from wheat straw pellets and rice husk. *24*(14), 12809-12819.
- SIAPI. (2024). Retrieved from <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Silva, C. J. F. d. m. o. d. s. e. t. e. s. (2008). Uso de resíduos orgânicos na agricultura. *2*, 597-624.
- Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-Capel, E., & Bol, R. J. A. i. a. (2010). A review of biochar and its use and function in soil. *105*, 47-82.
- Somers, E., Ptacek, D., Gysegom, P., Srinivasan, M., Vanderleyden, J. J. A., & Microbiology, E. (2005). Azospirillum brasilense produces the auxin-like phenylacetic acid by using the key enzyme for indole-3-acetic acid biosynthesis. *71*(4), 1803-1810.
- Spokas, K. A., Baker, J. M., Reicosky, D. C. J. P., & soil. (2010). Ethylene: potential key for biochar amendment impacts. *333*, 443-452.
- Spokas, K. A., & Reicosky, D. C. (2009). Impacts of sixteen different biochars on soil greenhouse gas production.
- Srivastava, L. M. (2002). *Plant growth and development: hormones and environment*: Elsevier.
- Steiner, C., Glaser, B., Geraldtes Teixeira, W., Lehmann, J., Blum, W. E., Zech, W. J. J. o. p. n., & science, s. (2008). Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered central Amazonian Ferralsol amended with compost and charcoal. *171*(6), 893-899.
- Steiner, C., Teixeira, W. G., Lehmann, J., Nehls, T., de Macêdo, J. L. V., Blum, W. E., . . . soil. (2007). Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. *291*, 275-290.
- Steiner, C., Teixeira, W. G., Lehmann, J., Zech, W. J. A. D. E. E. i. s., & time. (2004). Microbial response to charcoal amendments of highly weathered soils and Amazonian Dark Earths in Central Amazonia—preliminary results. *195-212*.
- Suthar, R. G., Wang, C., Nunes, M. C. N., Chen, J., Sargent, S. A., Bucklin, R. A., & Gao, B. J. A. (2018). Bamboo biochar pyrolyzed at low temperature improves tomato plant growth and fruit quality. *8*(10), 153.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiologia vegetal* (Vol. 10): Universitat Jaume I.
- Tanimoto, E. J. C. r. i. p. s. (2005). Regulation of root growth by plant hormones—roles for auxin and gibberellin. *24*(4), 249-265.
- Taylor, C. (1951). *The nutritional requirements of the predominant bacterial flora of the soil*. Paper presented at the Proceedings of the Society for Applied Bacteriology.

- Thies, J. E., & Rillig, M. C. (2012). Characteristics of biochar: biological properties. In *Biochar for environmental management* (pp. 117-138): Routledge.
- Tippayawong, N., & Thanompongchart, P. J. E. (2010). Biogas quality upgrade by simultaneous removal of CO₂ and H₂S in a packed column reactor. *35*(12), 4531-4535.
- Trupiano, D., Coccozza, C., Baronti, S., Amendola, C., Vaccari, F. P., Lustrato, G., . . . Scippa, G. S. J. I. J. o. A. (2017). The effects of biochar and its combination with compost on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth, soil properties, and soil microbial activity and abundance. *2017*.
- Vaccari, F., Baronti, S., Lugato, E., Genesio, L., Castaldi, S., Fornasier, F., & Miglietta, F. J. E. j. o. a. (2011). Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *34*(4), 231-238.
- Van Zwieten, L., Kimber, S., Morris, S., Chan, K., Downie, A., Rust, J., . . . soil. (2010). Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *327*(1), 235-246.
- Vanek, S. J., Lehmann, J. J. P., & soil. (2015). Phosphorus availability to beans via interactions between mycorrhizas and biochar. *395*, 105-123.
- Vassilev, S. V., Baxter, D., Andersen, L. K., & Vassileva, C. G. J. F. (2010). An overview of the chemical composition of biomass. *89*(5), 913-933.
- Verheijen, F., Jeffery, S., Bastos, A., Van der Velde, M., Diafas, I. J. A. c. s. r. o. e. o. s. p., processes,, & EUR, f. (2010). Biochar application to soils. *24099*, 162.
- Vivas, A., Barea, J., & Azcón, R. J. E. p. (2005). Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. *134*(2), 257-266.
- Walkey, A., & Black, C. J. S. S. (1934). An examination of the method for determining soil organic matter and proposed modification of chromic and titration method. *36*, 29-39.
- Wang, Sun, L., Su, S., Xiang, J., Hu, S., Fei, H. J. E., & Fuels. (2012). Char structural evolution during pyrolysis and its influence on combustion reactivity in air and oxy-fuel conditions. *26*(3), 1565-1574.
- Wang, H., Wang, X., Cui, Y., Xue, Z., & Ba, Y. J. B. t. (2018). Slow pyrolysis polygeneration of bamboo (*Phyllostachys pubescens*): Product yield prediction and biochar formation mechanism. *263*, 444-449.
- Wang;, Hashimoto, S., Moriguchi, Y., Yue, Q., & Lu, Z. J. J. o. I. E. (2012). Resource use in growing China: Past trends, influence factors, and future demand. *16*(4), 481-492.
- Wardle, D. A., Nilsson, M.-C., & Zackrisson, O. J. S. (2008). Fire-derived charcoal causes loss of forest humus. *320*(5876), 629-629.
- Warnock, D. D., Lehmann, J., Kuyper, T. W., Rillig, M. C. J. P., & soil. (2007). Mycorrhizal responses to biochar in soil—concepts and mechanisms. *300*, 9-20.
- Warnock, D. D., Mummey, D. L., McBride, B., Major, J., Lehmann, J., & Rillig, M. C. J. A. S. E. (2010). Influences of non-herbaceous biochar on arbuscular mycorrhizal fungal abundances in roots and soils: results from growth-chamber and field experiments. *46*(3), 450-456.
- Weber, K., & Quicker, P. J. F. (2018). Properties of biochar. *217*, 240-261.
- Wheatley, Johnson, K., & Winstanley, C. J. A. D., IAWPRC. (1990). The reliability of anaerobic digestion for the treatment of food processing effluents. 135-146.
- Winans, K., Kendall, A., Deng, H. J. R., & Reviews, S. E. (2017). The history and current applications of the circular economy concept. *68*, 825-833.
- Woolf, D., Amonette, J. E., Street-Perrott, F. A., Lehmann, J., & Joseph, S. J. N. c. (2010). Sustainable biochar to mitigate global climate change. *1*(1), 1-9.
- Wu, Cao, Z., Li, Z., Cheung, K., & Wong, M. H. J. G. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *125*(1-2), 155-166.

- Wu, Shi, Y., Xia, Q., Zhu, W.-d. J. R., conservation, & recycling. (2014). Effectiveness of the policy of circular economy in China: A DEA-based analysis for the period of 11th five-year-plan. *83*, 163-175.
- Xu, X., Cao, X., & Zhao, L. J. C. (2013). Comparison of rice husk-and dairy manure-derived biochars for simultaneously removing heavy metals from aqueous solutions: role of mineral components in biochars. *92*(8), 955-961.
- Yamaguchi, S., Kamiya, Y. J. P., & physiology, c. (2000). Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. *41*(3), 251-257.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D. H., & Zheng, C. J. F. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *86*(12-13), 1781-1788.
- Yang, H., Yan, R., Chin, T., Liang, D. T., Chen, H., Zheng, C. J. E., & fuels. (2004). Thermogravimetric analysis– Fourier transform infrared analysis of palm oil waste pyrolysis. *18*(6), 1814-1821.
- Yin, B., Crowley, D., Sparovek, G., De Melo, W. J., Borneman, J. J. A., & microbiology, e. (2000). Bacterial functional redundancy along a soil reclamation gradient. *66*(10), 4361-4365.
- Yu, Han, F., & Cui, Z. J. J. o. C. P. (2015). Evolution of industrial symbiosis in an eco-industrial park in China. *87*, 339-347.
- Yu, Tang, J., Zhang, R., Wu, Q., Gong, M. J. B., & Soils, F. o. (2013). Effects of biochar application on soil methane emission at different soil moisture levels. *49*, 119-128.
- Yuan, Bi, J., & Moriguichi, Y. J. J. o. i. e. (2006). The circular economy: A new development strategy in China. *10*(1-2), 4-8.
- Yuan;, Xu, R.-K., & Zhang, H. J. B. t. (2011). The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *102*(3), 3488-3497.
- Zackrisson, O., Nilsson, M.-C., & Wardle, D. A. J. O. (1996). Key ecological function of charcoal from wildfire in the Boreal forest. *10*-19.
- Zhang, Wang, Y., Mao, J., & Chen, B. J. E. p. (2020). Effects of biochar nanoparticles on seed germination and seedling growth. *256*, 113409.
- Zhang, H., Chen, C., Gray, E. M., Boyd, S. E. J. B., & Bioenergy. (2017). Effect of feedstock and pyrolysis temperature on properties of biochar governing end use efficacy. *105*, 136-146.
- Zhu, J., Fan, C., Shi, H., & Shi, L. J. J. o. I. E. (2019). Efforts for a circular economy in China: A comprehensive review of policies. *23*(1), 110-118.
- Zimmerman, A. R., Gao, B., Ahn, M.-Y. J. S. b., & biochemistry. (2011). Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *43*(6), 1169-1179.
- Zwetsloot, M. J., Lehmann, J., Bauerle, T., Vanek, S., Hestrin, R., Nigussie, A. J. P., & soil. (2016). Phosphorus availability from bone char in a P-fixing soil influenced by root-mycorrhizae-biochar interactions. *408*, 95-105.

ANEXO A. Técnicas de análisis para evaluar las características fisicoquímicas del A. salmiana y el Biochar.

A.1 Determinación del contenido de humedad por gravimetría a través del método AS-05.

El método se basa en la medición o determinación de la cantidad de agua expresada en gramos que contiene una muestra. La determinación de la masa de agua se realiza por la diferencia en peso entre la masa de la muestra húmeda y la masa seca. Se considera como muestra seca aquél secado a la estufa a 105°C hasta obtener un peso constante.

Procedimiento: Se lavó y limpió perfectamente los crisoles los cuales posteriormente fueron introducidos a la estufa durante 8 horas a una temperatura de 105°C, una vez transcurrido el tiempo, se registró el peso y se volvieron a introducir a la estufa hasta que se logró un peso constante, todo este procedimiento previo al enfriamiento de los crisoles (PC) que se colocan en un desecador. Después se tomó una muestra (0.5 g) y se colocó en los crisoles, se pesó el crisol con la muestra húmeda, este peso deberá ser el peso del crisol más la muestra húmeda (PC + Pmh). Se introdujo a la estufa a una temperatura de 105°C. Después de 24 horas se sacó el crisol de la estufa y colocó en el desecador de vacío hasta que se enfrió, posteriormente se pesó, este peso será el peso del crisol más el peso de la muestra seca (PC + Pms). Se introdujo el crisol nuevamente a la estufa y una hora después se sacó, se enfrió en el desecador y pesó; este procedimiento se repitió hasta obtener el peso constante. Con los datos obtenidos en el procedimiento, aplicar la siguiente ecuación:

$$\theta g = \frac{(PC + Psh) - (PC + Pmh)}{(PC + Pmh) - PC} \times 100$$

Donde:

θg = Contenido de humedad gravimétrica expresado en porcentaje (%).

PB = Peso del crisol (g).

Pmh = Peso de la muestra húmeda (g).

PC+Psh = Peso del crisol más peso de la muestra húmeda (g).

PC + Pms = Peso del crisol más peso de la muestra seca (g).

A.2 Determinación de pH y conductividad eléctrica

La determinación del pH y la CE se llevó a cabo en base a la metodología descrita en la norma mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007. La medición del pH se llevó a cabo en un potenciómetro previamente calibrado. Para la determinación de la CE se analizaron las mismas muestras con un conductímetro. La lectura de pH y CE para las muestras se determinó en soluciones de muestra/agua, 1:2.5. Se pesaron 20 g de muestra y se añadieron 50 mL de agua desionizada, posteriormente se agitó durante 30 minutos y se dejó reposar 15 minutos y se tomó la lectura. Para la lectura de CE no se llevó a cabo por el método de extracto de saturación, ya que las muestras presentaron CE menor a 1 dS m⁻¹ y se tomó en cuenta el factor de corrección de CE (1.012) a una temperatura de 24.4 °C, ya que se debe estandarizar a 25 °C (NOM-021-RECNAT-2000).

A.3 Determinación de nitrógeno total (NT)

La determinación de NT se llevó a cabo por el método Kjeldahl. La muestra fue digerida en presencia de H₂SO₄ concentrado, K₂SO₄ y CuSO₄ (1g). Después de que la muestra fue digerida, el residuo se enfrió a temperatura ambiente y se llevó a condiciones alcalinas (NaOH al 50%) para la determinación del amonio (Bremner, 1965; NMX-AA-026-SCFI-2001).

Solución indicadora. Se disolvieron 200 mg de rojo de metilo en 100 mL de alcohol etílico al 95%; así como también se disolvieron 100 mg de azul de metileno en 50 mL de alcohol etílico y se combinaron las 2 soluciones.

Solución de ácido bórico (H₃BO₃). Se pesaron 20 g de H₃BO₃, los cuales se disolvieron en agua destilada, posteriormente se agregaron 10 mL de la solución indicadora y se aforo a un litro.

Solución de hidróxido de sodio (NaOH). Se disolvieron 500 g de NaOH y 25 g de tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃·5H₂O) en un litro de agua destilada.

Procedimiento: En un matraz Kjeldahl se colocó 0.5 g de la muestra y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) y 1.1 g una mezcla de los catalizadores (K₂SO₄, CuSO₄ y Se^o). El matraz se colocó en un digestor y se aumentó la temperatura gradualmente hasta llegar a 450 °C durante 2 horas, la muestra viró de turbia a transparente o una ligera coloración amarillo pálido, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se conectó en un destilador, en el cual se colocó previamente un matraz Erlenmeyer en la salida del refrigerante con 10 mL de solución indicadora

H₃BO₃. Finalmente se recolectó el producto destilado y se tituló con H₂SO₄ 0.04 N hasta el vire de verde a morado. También se corrieron blancos, los cuales contenían agua destilada con los mismos reactivos con los que se prepararon las muestras.

$$NT \text{ NT (mg kg)}^{-1} = \frac{(P - B) * N * 14 * 1000}{mm}$$

Donde:

P: Volumen gastado en la titulación de la muestra.

B: Volumen gastado en la titulación del blanco.

N: Normalidad del H₂SO₄.

mm: masa de la muestra.

14: Peso molecular del nitrógeno.

A.4 Determinación de carbono orgánico total (COT)

El COT se cuantificó por el método colorimétrico de Walkey and Black (1934) descrito por García and Ballesteros (2005). Para determinar el contenido de carbono orgánico, se colocó 1 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se adicionaron 15 mL de K₂CrO₇ 0.5 M y 10 mL de H₂SO₄ concentrado, se agitaron por 1 min y se dejó reposar por 30 min, posteriormente se completaron a 150 mL con agua destilada. Luego se dejó decantar y enfriar durante dos horas. Finalmente, el sobrenadante se transfirió a tubos de ensayo, se dejó reposar un día y se determinó la absorbancia a 585 nm en un espectrofotómetro. Previamente se elaboró una curva patrón a partir de una solución de sacarosa al 5%, de la cual se tomaron alícuotas de 5, 10, 15, 20, 25 y 50 mL que se aforaron a 100 mL. De cada una de las soluciones preparadas se tomaron 2 mL, y se siguió el mismo procedimiento descrito para las muestras.

$$COT \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = (B - M) / m * 1000$$

Donde:

B: absorbancia del blanco

M: absorbancia de la muestra

m: pendiente de la ecuación de la curva de calibración

A.5 Determinación de fósforo (P) extraíble (muestras neutras y ácidas)

La prueba de Olsen es recomendada para suelos con un pH mayor a 5.5 y es utilizada ampliamente en suelos neutros y alcalinos.

Las soluciones patrones fueron sometidas al mismo tratamiento que las muestras y se realizó una curva patrón, en la cual se interpolaron los resultados obtenidos para conocer la concentración de fósforo total. El P en la mayoría de ocasiones se encuentra en combinación con materia orgánica y es necesaria una oxidación.

Hidróxido de sodio 1M. Se disolvieron 4 g de NaOH en 100 ml de agua.

Bicarbonato de sodio (NaHCO_3) 0.5 M. Se disolvió 42 g de NaHCO_3 en aproximadamente 1 litro de agua. Posteriormente se ajustó el pH de esta solución a 8.5 mediante la adición de solución de NaOH 1 M. Finalmente se llevó a volumen con agua destilada.

Solución de tartrato de antimonio y potasio al 0.5%. Se pesó 0.5 g de $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$, y transfirió a un matraz volumétrico de 100 ml hasta disolverlo, se aforó con agua destilada.

Solución de molibdato de amonio $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$. Se disolvieron 20 g de $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ en 300 ml de agua destilada. Se agregó lentamente bajo constante agitación 450 ml de H_2SO_4 (14 N) (194.4 ml H_2SO_4 concentrado diluido a 500 ml con agua da

una concentración de aproximadamente 14 N). Después se agregaron 100 ml de una solución al 0.5% (p/v) de tartrato de antimonio y potasio. Se diluyeron las mezclas a 1 L con agua destilada.

Solución reductora con ácido ascórbico. Se disolvieron 0.50 g de ácido ascórbico con un poco de solución de molibdato de amonio y aforó a 100 ml con la misma solución.

Solución patrón de fósforo (200 mg L⁻¹). Se pesó exactamente 0.8786 g de fosfato de potasio

monobásico (KH_2PO_4) seco al horno a 105°C, se disolvió en agua y aforó a 1 litro.

Solución patrón de 5 mg L⁻¹ de P. Se diluyeron 5 ml de la solución de 200 mg L⁻¹ de P a 200 ml con agua destilada.

Procedimiento: Se pesó 0.1 g de muestra y se colocaron en los tubos de polietileno. Se adicionó 50 ml de la solución extractora, tapó y agitó la suspensión en agitador de acción recíproca durante 30 min. a 180 oscilaciones por minuto. Se filtró inmediatamente a través de papel filtro. Posteriormente se prepararon blancos a partir de alícuotas de solución extractora y se adicionaron todos los reactivos como en las muestras. Se tomó una alícuota de 5 ml (o 10 ml si la concentración de P es muy baja) del filtrado y colocó en un matraz aforado de 50 ml. Se agregó 5.0 ml de la solución reductora, agitó y aforó. Se leyó después de 30 min. pero antes de una hora a una longitud de onda 882 nm. Previamente se leyó la curva de calibración, la cual se preparó con patrones de 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mg L⁻¹ de P. Se pipeteo 0, 1, 2, 4, 6 y 10 ml de una solución de 5 mg L⁻¹ de P a matraces aforados de 50 ml. Se adicionó un volumen de solución extractante de NaHCO₃ 0.5 M igual a la alícuota empleada para medir en las muestras desconocidas. Se llevó a aproximadamente 40 ml con agua y adicionó 5 ml de la solución reductora con ácido ascórbico, para finalmente aforar. Se agitó nuevamente y leyó después de 30 minutos, pero antes de una hora a 882 nm.

$$P \text{ (mg Kg}^{-1} \text{ de muestra)} = CC \times Vi/p \times Vf/a$$

Donde:

CC = mg L⁻¹ de P en la solución. Se obtiene graficando la curva de calibración (absorbancia contra mg L⁻¹) e interpolando en la misma los valores de absorbancia de las muestras analizadas a las cuales previamente se les ha estado el valor promedio de los blancos o por medio de una regresión simple.

Vi = volumen de la solución extractora adicionada.

p = peso de la muestra de suelo seca al aire.

Vf = volumen final de la solución colorimétrica a leer.

A = alícuota de la muestra empleada para la cuantificación.

A.6 Determinación del fósforo extraíble en suelos neutros y ácidos

Este método, es ampliamente utilizado en estudios de fertilidad de suelos para la determinación de fósforo disponible en suelos ácidos.

Solución de fluoruro de amonio 1 N. Se disolvieron 37 g de NH₄F en agua destilada y diluyó hasta un litro.

Ácido clorhídrico 0.5 N. Se diluyeron 20.4 ml de HCl concentrado hasta 500 ml con agua destilada.

Solución extractora Bray-kurtz 1. Se mezcló 30 ml de la solución de fluoruro de amonio 1 N con 50 ml de la solución de ácido clorhídrico 0.5 N y diluir a un litro con agua destilada. La solución resultante es 0.03 N en NH_4F y 0.025 N en HCl.

Solución de tartrato de antimonio y potasio al 0.5%. Se pesó 0.5 g de $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$, y posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 100 ml disuélvalo y aforó con agua destilada.

Solución de molibdato de amonio $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$. Se disolvió 20 g de molibdato de amonio $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ en 300 ml de agua destilada y agregó lentamente bajo constante agitación, 450 ml de H_2SO_4 (14 N) (194.4 ml H_2SO_4). Posteriormente se agregó 100 ml de una solución al 0.5% (p/v) de tartrato de antimonio y potasio. Diluya las mezclas a 1 litro con agua destilada.

Solución reductora con ácido ascórbico. Se disolvió 0.50 g de ácido ascórbico con un poco de solución patrón de molibdato de amonio y aforó a 100 ml con la misma solución.

Solución patrón de 200 mg L^{-1} de P. Se disolvieron 0.8786 g de fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4), seco al horno, en agua y diluyó a un litro.

Solución patrón de 10 mg L^{-1} de P. Se diluyó 10 ml de la solución de 200 mg L^{-1} P en 200 ml con agua destilada.

Procedimiento: Se pesó 0.1 g de la muestra y colocó en un tubo de polietileno de 50 ml, posteriormente se adicionaron 25 ml de la solución extractora, se tapó y agitó la suspensión en agitador de acción recíproca regulado a 180 oscilaciones por minuto, por 5 min.

El extracto se filtró a través de papel filtro. Se tomó una alícuota de 5 ml del extracto, (la alícuota depende de la concentración de P en solución, y colocó en un matraz aforado de 50 ml. Posteriormente se adicionó agua hasta completar aproximadamente 40 ml, 5 ml de la solución reductora, se agitó y completó a volumen. Se dejó 30 minutos y leyó la intensidad de la absorción de luz a 882 nm. Los blancos se prepararon siguiendo el mismo procedimiento que en las muestras. Se preparó una curva de calibración que contenga puntos correspondientes a 0, 1.0, 2.0,

3.0, 4.0 y 5 mg L⁻¹ de P. Para esto se colocó en matraces aforados de 50 ml, 0, 5, 10, 15, 20 y 25 ml de la solución de 10 mg L⁻¹ de P y se prosiguió en la forma descrita para las muestras. Se adicionó un volumen de solución extractante igual a la alícuota empleada para medir en las muestras conocidas, y llevó a aproximadamente 40 ml con agua y adicionó 5 ml de la solución reductora, agitó y completó a volumen. Finalmente se esperó 30 minutos y leyó a la intensidad de la absorción de luz a 862 nm (nanómetros).

A.7 Determinación de metales

La determinación de la concentración de los metales (Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn, Na, Ni, Zn, Cd, Cr y Pb) en las muestras se llevó a cabo utilizando el método de espectrofotometría de absorción atómica. Para la digestión de las muestras se utilizaron 0.2 g de muestra y 50 mL de HNO₃ concentrado, se empleó el método EPA 3051 que consistió en dos etapas, donde la primera etapa se llevó a cabo a una rampa de temperatura de 175°C y una presión 300 psi por 10 min y la segunda etapa se llevó a cabo a una rampa de temperatura de 180°C y una presión 300 psi por 10 min.

A.8 Determinación de DQO

Se entiende por demanda química de oxígeno (DQO) a la cantidad de materia orgánica e inorgánica susceptible de ser oxidada por un oxidante fuerte. La solución digestora está compuesta por un ácido fuerte como el ácido sulfúrico (H₂SO₄) y dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇), el cual oxida la materia orgánica. También contiene sulfato de plata (Ag₂SO₄) que actúa como catalizador de la reacción y el sulfato de mercurio (Hg₂SO₄) que ayuda a reducir el efecto negativo de los cloruros. Para llevar a cabo la prueba de DQO, se colocaron tubos de ensaye (16x100 mm) en un reactor a reflujo cerrado a 150°C durante 2 h. En cada uno de los tubos de ensaye se colocaron 0.05 g de muestra, 1.5 mL de solución digestora y 3.5 mL de solución ácida. Después del proceso de digestión química se determinó en un espectro UV/VIS a una densidad óptica de 600 nm la cantidad de K₂Cr₂O₇ consumido en la oxidación y se calculó la materia oxidable en términos de oxígeno equivalente (mg O₂ L⁻¹). Se realizó una curva de calibración con valores de DQO conocidos (500, 400, 300, 250, 200, 100, 50 y 0 mg O₂ L⁻¹), y se realizó un análisis de regresión lineal de los resultados obtenidos.

A.9 Determinación de SST y SVT

Los SST están constituidos por sólidos sedimentables, en suspensión y coloidales cuyo tamaño de partícula no pasa el filtro de fibra de vidrio estándar, mientras que los SSV están constituidos por sólidos en suspensión y coloidales, capaces de volatilizarse por el efecto de la calcinación a 550°C. El fundamento de este método se basa en los residuos de una y otra operación, así como la cantidad de materia orgánica presente en los efluentes como base para el cálculo del contenido de sólidos.

Procedimiento: Se llevó el crisol a masa constante introduciéndolo en la mufla a 550 °C durante 20 min y posteriormente se transfirió a la estufa a 103°C - 105°C durante 20 min. Se dejó en el desecador aproximadamente 1h y se registró el peso de cada crisol (C1).

Determinación para sólidos suspendidos totales: Se transfirió una muestra de 5 g en cada crisol y se dejó en una estufa a una temperatura de 103°C a 105°C durante 1 hora aproximadamente. Posteriormente, se sacó el crisol, se dejó enfriar a una temperatura ambiente y se registró su peso (C2). El contenido de SST en la muestra se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{SST (mg L}^{-1}\text{)} = (C2-C1) * 1000/m$$

Donde:

SST: sólidos suspendidos totales en mg L⁻¹,

G1: peso del crisol a peso constante, en mg,

G2: peso del crisol con el residuo seco, en mg,

m: muestra en g.

Determinación para sólidos suspendidos volátiles: Se introdujo el crisol que contenía los residuos obtenidos durante la determinación de los sólidos suspendidos totales a la mufla a 550°C durante 20 min, posteriormente se enfrió el crisol a temperatura ambiente en un desecador y se registró su peso (C3). El contenido de SSV en la muestra se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{SSV (mg L}^{-1}\text{)} = (G2-G3)* 1000/V$$

Donde:

SSV: sólidos suspendidos volátiles en mg L^{-1} ,

C3: peso del crisol con el residuo, después de la calcinación, en mg,

m: muestra en g.

A.10 Determinación de la capacidad de intercambio catiónico y bases intercambiables a través del método AS-12

El método para la determinación consiste en la saturación de la superficie de intercambio con un catión índice, el ion amonio; lavado del exceso de saturante con alcohol; desplazamiento del catión índice con potasio y determinación del amonio mediante destilación. El amonio se emplea como catión índice debido a su fácil determinación, poca presencia en los suelos y porque no precipita al entrar en contacto con el suelo.

Solución de acetato de amonio 1.0N, pH 7.0. Se diluyó 57 ml de ácido acético glacial (99.5%) con agua a un volumen de aproximadamente 500 ml. Agregó 60 ml de hidróxido de amonio concentrado, se diluyó con agua a un volumen de 990 ml, mezcló completamente, ajustó a pH 7.0 y diluyó a un volumen final de 1 litro con agua.

Alcohol etílico, usar $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ grado industrial.

4Solución de cloruro de sodio al 10%. Se pesó 100 g de cloruro de sodio grado analítico y disolvió en 1 L de agua empleando un matraz aforado.

Solución de cloruro de amonio 1N. Se pesó 53.50 g de NH_4Cl y disolvió en agua. Ajustó a pH 7.0 con hidróxido de amonio y diluyó a 1 litro empleando un matraz aforado.

Solución de cloruro de amonio 0.25N. Se pesó 13.38 g de NH_4Cl y disolvió en agua. Ajustó a pH 7.0 con hidróxido de amonio y diluyó a 1 litro empleando un matraz aforado.

Indicador mixto. Se mezclaron volúmenes iguales de rojo de metilo al 0.66% y de verde de bromocresol al 0.99%. Ambos disueltos en etanol al 95%.

Solución de ácido bórico. Se usó H_3BO_3 al 2% en agua destilada que contiene 10 ml del indicador por litro.

Ácido clorhídrico diluido valorado. Se usó HCl 0.01 N.

Hidróxido de sodio al 40%. Se disolvió 400 g. de NaOH en agua destilada y llevó a 1000 ml.

Nitrato de plata 0.1 N. Se disolvió 16.98 g de AgNO_3 en agua destilada y llevar a 1000 ml.

Solución de lantano acidificada. Se pesó 7.742 g de $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en un matraz volumétrico de 250 ml con agua destilada, añadió 17.5 ml de HNO_3 concentrado y aforó.

Solución diluida de lantano acidificada. Se tomó 50 ml de la solución de lantano acidificada en un matraz volumétrico de 500 ml y aforó con agua destilada.

Solución de cloruro de cesio acidificada. Se disolvió 11.12 g de CsCl y 250 ml de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua en un matraz volumétrico de 1000 ml, añadió 20 ml de HNO_3 2 M y aforó con agua.

Solución de ácido nítrico 2 M. Se diluyó 7 ml de HNO_3 concentrado en agua y aforó a 100 ml en un matraz volumétrico.

Procedimiento: Se pesó 5 g de la muestra secada al aire y tamizado por malla de abertura de 2 mm, posteriormente se transfirió a un tubo de centrifuga de 50 ml. Se agregaron 33 ml de solución de acetato de amonio. Se tapó y agitó en posición horizontal durante 10 minutos. Luego, se centrifugó hasta que el líquido sobrenadante quedó claro. Se decantó el líquido en un matraz de 100 ml y repitió la extracción otras dos veces, se aforó con acetato de amonio. Se agregaron 30 ml de la solución de cloruro de amonio 1N; agitó durante 10 minutos y luego centrifugó hasta que el líquido sobrenadante quedó claro y se desechó. Se adicionaron 30 ml de la solución de cloruro de amonio 0.25N, y agitó durante 10 minutos, centrifugó y desechó el sobrenadante. Se lavó la muestra con porciones de alcohol de 30 ml agitando durante 10 minutos, centrifugó y eliminó el sobrenadante cada vez. El lavado terminó cuando la prueba de cloruros en el decantado fue mínima.

A.11 Determinación de la capacidad de retención de agua

Para determinar la capacidad de retención de agua (CAR) en el suelo, se comenzó pesando un papel filtro para cada muestra, registrando su peso y marcándolo adecuadamente. Adicionalmente, se pesaron dos papeles filtro adicionales para los blancos. Posteriormente, se

pesaron 25 g de suelo para cada papel filtro y se colocaron en embudos dispuestos sobre matraces, colocando primero el papel filtro y después el suelo. A cada muestra se le añadieron 50 ml de agua, asegurándose de cubrir completamente los embudos con papel aluminio para evitar la evaporación. Las muestras se dejaron drenar durante 16 horas, y finalmente se pesaron nuevamente tanto los blancos como las muestras junto con sus respectivos papeles filtro. La CRA en la muestra se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$CRA = \frac{P_{mh} - P_{pf} - P_m + (P_{fH_2O} \cdot P_m)}{P_m \cdot (1 - P_{fH_2O})}$$

Donde:

P_{mh} = Peso de la muestra húeda

P_{pf} = Peso del papel filtro

P_m = Peso de la muestra

P_{fH_2O} = Peso de la fracción de agua en la muestra

A.12 Concentración de auxinas

Una vez que el germinado tiene un tamaño aproximado de 3 cm de longitud (5 cm para los germinados de maíz), se procedió a moler. Al germinado (ya molido) se le agregan 500 ml de alcohol y se mezcla. Una vez hecha la molienda, se pasó a un recipiente, el cual debe cerrarse y dejarlo en refrigeración de 3 a 5 días. Transcurrido el tiempo se filtró y el filtrado se guardó en refrigeración. El filtrado se centrifugó durante 15 min. a 10000 RPM. Cuidadosamente, se tomó un ml de sobrenadante y se adicionaron 4 ml de reactivo de Salkowski, se agitó y dejó incubar en la obscuridad durante 30 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, se lee a 530 nm. Se realizaron tres réplicas y como blanco se utilizó el medio correspondiente sin incubar. Se realizó una curva patrón de AIA sintético utilizando diferentes concentraciones (0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 g mL⁻¹) de AIA sintético en metanol (Rojas et al., 2012). La mezcla permitió mantener 30 minutos estable el color (Figura 23).

Reactivo de Salkowski: El reactivo se preparó a partir de la dilución de 1.5 ml de 0.5 M FeCl₃ en 30 ml de H₂SO₄ y 50 ml de aguadestilada.

A.13 Concentración de giberelinas

Las soluciones concentradas de giberelinas fueron preparadas a partir de GA3 comercial y se obtuvieron soluciones de 100, 200, 400, 600, 800 y 1000 µg/L. Para la cuantificación de giberelinas en los extractos de los germinados, se empleó 1mL de muestra y 3 mL de reactivo de ácido fosfomolibdico, el tiempo de reacción fue de 60 minutos, a baño maría en ebullición. El tiempo cero fue estimado luego de dos minutos que fueron sumergidos los tubos de ensayo en el baño maría a ebullición, pasados los 60 minutos los tubos se retiraron del baño maría y se disminuyó la temperatura mediante un baño de hielo. Una vez a temperatura ambiente, la intensidad de color (azul) fue observada y se leyó a una longitud de onda de 780 nm en un espectrofotómetro (Graham y Henderson, 1960).

Reactivo de ácido fosfomolibdico: Se preparó a partir de ácido molibdico al 85%, una solución de tungstanato de sodio al 10% e hidróxido de sodio al 10%. El reactivo fue preparado en dos fases, en la primera se adicionaron 7 gramos de ácido molibdico y 1 gramo de tungstanato de sodio en un matraz de 250 mL y posteriormente se adicionaron 40 mL de hidróxido de sodio al 10% y 40 mL de agua destilada. La solución se llevó a ebullición durante 40 minutos para remover los rastros de amonio presentes en el ácido molibdico. En la segunda fase se dejó enfriar la solución y se adicionaron 70 mL de agua destilada y 25 mL de ácido fosfórico al 85%. Finalmente, la mezcla fue transferida a un matraz volumétrico de 200 mL y se aforó con agua destilada.