



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ELABORACIÓN DE SOPORTES GRANULARES A PARTIR DE CÁSCARA DE
COCO CON PRETRATAMIENTO ALCALINO E IMPREGNADOS CON
MAGNETITA PARA EVALUAR SU DESEMPEÑO EN EL PROCESO DE
DIGESTIÓN ANAEROBIA

Tesis

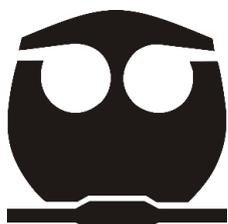
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

PRESENTA

MARIAN AYLIN NAVARRO CÁZARES

Tutor: Dr. Sergio Adrián García González



Ciudad Universitaria, CDMX, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente:	Dr. Víctor Manuel Luna Pabello
Vocal:	M. en I. María Rafaela Gutiérrez Lara
Secretario:	Dr. Sergio Adrián García González
Suplente 1:	Dra. Gema Luz Andraca Ayala
Suplente 2:	M. en C. Alejandra Mendoza Campos

El presente trabajo de tesis se realizó en los Laboratorios 301-303 del Conjunto E de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT/ IT 102322 “Desarrollo de aditivos y medios de soporte biológico para mejorar la producción de biogás en reactores de digestión anaerobia a partir de residuos orgánicos” por la beca otorgada, la cual tuvo la finalidad de apoyarme y fomentar el desarrollo de mi trabajo de investigación.

ÍNDICE

GLOSARIO	8
ÍNDICE DE TABLAS.....	14
ÍNDICE DE FIGURAS.....	16
RESUMEN	20
1. INTRODUCCIÓN.....	22
1.1. Problemática	22
1.2. Justificación.....	23
1.3. Objetivo general	33
1.4. Objetivos específicos	34
2. PRETRATAMIENTO Y SÍNTESIS DE BIOCARBÓN	34
3. POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM).....	37
3.1. Inóculo	38
3.1.1. Técnicas Analíticas	39
3.1.1.1. Demanda química de oxígeno (DQO).....	39
3.1.1.2. Nitrógeno Amoniacal.....	40
3.1.1.3. Sólidos volátiles (SV).....	40
3.1.1.4. pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGV´ s)	41
3.2. Condiciones experimentales.....	42
3.2.1. Controles	42
3.2.2. Soluciones	43

3.3. Condiciones operacionales	43
3.3.1. Capacidad del reactor y réplicas	43
3.3.2. Duración del ensayo.....	44
3.3.3. Agitación.....	44
3.3.4. Ajuste de pH	45
3.3.5. Unidad fijadora de CO ₂	45
3.3.6. Relación Inóculo/Sustrato (I/S).....	45
4. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)	46
5. METODOLOGÍA	47
5.1. Síntesis de biocarbones	47
5.1.1. Obtención de materiales conductores	47
5.1.2. Reducción de tamaño.....	47
5.1.3. Lavado y tratamiento térmico	48
5.1.4. Humectación alcalina	49
5.1.5. Impregnación con magnetita	49
5.1.6. Pirólisis	50
5.2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM)	51
5.2.1. Sustrato.....	51
5.2.2. Obtención, preparación y caracterización del inóculo.....	51
5.2.2.1. Técnicas Analíticas.....	52

5.2.2.1.1. Demanda química de oxígeno (DQO)	53
5.2.2.1.2. Nitrógeno Amoniacal	54
5.2.2.1.3. Sólidos totales, volátiles, fijos y humedad	54
5.2.2.1.4. pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGV 's).....	55
5.2.3. Condiciones experimentales y operacionales	56
5.2.4. Análisis de varianza (ANOVA)	59
5.3. Caracterización de biocarbones	61
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
6.1. Síntesis de biocarbones	62
6.1.1. Obtención de materiales conductores	62
6.1.2. Reducción de tamaño.....	62
6.1.3. Lavado y tratamiento térmico	64
6.1.4. Humectación alcalina	65
6.1.5. Impregnación con magnetita	65
6.1.6. Pirólisis	66
6.2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM)	68
6.2.1. Caracterización fisicoquímica del inóculo	69
6.2.2. Producción de metano.....	70
6.2.3. Técnicas Analíticas	75
6.2.3.1. pH, alcalinidad y AGV 's	75

6.2.3.2. Nitrógeno amoniacal	76
6.2.3.3. Sólidos totales y humedad	77
6.2.4. Variables de respuesta	78
6.2.5. Análisis de varianza (ANOVA)	80
6.3. Caracterización de biocarbones	86
7. CONCLUSIONES.....	88
8. REFERENCIAS.....	90
9. ANEXO	111
9.1. Técnicas analíticas	111
9.2. Variables de Respuesta.....	114

GLOSARIO

Ácidos grasos volátiles.- Son ácidos orgánicos de cadena corta de 3-6 átomos de carbono y consisten principalmente en ácidos acético, propiónico, butírico y valérico (Aboudi *et al.*, 2021).

Adsorción.- Se define como un proceso que ocurre cuando un gas o líquido se acumula en la superficie de un sólido o líquido (adsorbente), formando una película molecular o atómica (adsorbato) (Rolando y Roque, 2018).

Área de superficie específica (SSA).- El área superficial específica de un material poroso se define como el área superficial intersticial de los poros por unidad de volumen bruto o volumen sólido del sistema poroso (Baroud *et al.*, 2019).

Arqueas metanogénicas.- Las arqueas metanogénicas son microorganismos estrictamente anaeróbicos con un metabolismo energético único que depende de la formación de metano a través de la reducción de varios sustratos como CO₂, pequeños compuestos metilados y acetato (Costa y Leigh, 2014).

Bacterias acetogénicas.- Son microorganismos empleados para producir selectivamente ácido acético junto con hidrógeno y dióxido de carbono en un proceso denominado acetogénesis (Nandi *et al.*, 2023).

Bacterias acidogénicas fermentativas.- Las bacterias acidogénicas degradan los productos de la hidrólisis para producir alcoholes, aldehídos y ácidos grasos volátiles (AGV's) (Kamusoko *et al.*, 2022).

Bacterias hidrolíticas fermentativas.- Las bacterias hidrolíticas degradan compuestos solubles de alta masa molecular en azúcares y aminoácidos. Tienen un tiempo de duplicación rápido y pueden mantenerse en condiciones ambientales más variables comparado con los microorganismos metanógenos (Mata *et al.*, 2014).

Biomasa lignocelulósica.- es una biomasa formada principalmente por un compuesto complejo de dos carbohidratos estructurales, celulosa y hemicelulosa, y lignina (Tsita *et al.*, 2020).

Biopelícula.- Las biopelículas se pueden definir como comunidades altamente estructuradas de microorganismos que están asociados a una superficie o unidos entre sí, y están encerrados dentro de una matriz extracelular protectora autoproducida (Ranadheera *et al.*, 2017).

Capacidad *buffer* o de amortiguamiento.- Es el grado en que una disolución es capaz de resistir los cambios en el pH, en particular, la acidificación (Liu y Kleiner, 2013).

Citocromo tipo C.- Se pueden definir como proteínas de transferencia de electrones que tienen uno o varios grupos hemo C (protoporfirina IX con un ion de hierro coordinado) (Szaciłowski *et al.*, 2005).

Desgasificación.- Se define como la eliminación deliberada de gas de un sólido o líquido como resultado del impacto de moléculas, electrones, iones o fotones (Broom, 2007).

Difusión.- es el proceso de transporte predominante dentro de los agregados celulares y la resistencia a la difusión surge fácilmente en las biopelículas porque el flujo de fluido se reduce y la distancia de difusión aumenta en el modo de crecimiento de la biopelícula (Stewart, 2003).

Electrones retrodispersados.- Se producen cuando un electrón del haz colisiona de frente con el núcleo de un átomo en la muestra, siendo expulsado en dirección opuesta y saliendo de la muestra. Su análisis nos arroja una imagen con diferentes contrastes (Badía y Ibáñez, 1996).

Electrones secundarios.- son electrones de baja energía producidos en una región pequeña, generalmente limitada al área de impacto del haz, y por lo tanto proporcionan imágenes con altas resoluciones en 3D del orden del tamaño del haz de electrones (Michael *et al.*, 2011).

Emisión termoiónica.- Es el fenómeno por el cual los electrones son expulsados de un metal cuando se calienta en el vacío (Bare y Somorjai, 2003).

Estado estable.- Cuando la máquina o el sistema de proceso funciona a una velocidad fija y con parámetros de funcionamiento específicos (Mobley, 2001).

Estructura recalcitrante.- Estructura compleja de la biomasa que es difícil de degradar (Foston y Ragauskas, 2012).

Fase de latencia.- Es un período de adaptación en el que las células se aclimatan a un nuevo entorno (Chisti y Moo-Young, 2003).

Grupo funcional.- Es un grupo específico de átomos en una molécula, de modo que el grupo es responsable de la reactividad química característica de la molécula (Chung, 2017).

Homocedasticidad.- Una situación en la que todas las variables de una secuencia son iguales (misma varianza) (Cambridge Dictionary, 2023).

Microorganismo electroactivo.- son aquellos con la capacidad de llevar a cabo el intercambio de electrones entre las células intracelulares y

donadores y aceptores de electrones extracelulares redox-activos, tienen la capacidad de formación de biopelículas (Koch y Harnisch, 2016).

Oligoelementos.- También conocidos como microminerales se definen en términos fisiológicos como sustancias que comprenden menos del 0,01% de la masa corporal como hierro, zinc, cobre, manganeso (Mertz, 1981).

Pili conductiva.- Permite el intercambio de electrones de largo alcance mediante nanocables entre los microorganismos y su entorno extracelular (Lovley, 2017).

Potencial Bioquímico de Metano (PBM).- Proporciona una indicación de la biodegradabilidad de una materia prima y su potencial para producir metano por digestión anaerobia (Jingura y Kamusoko, 2017).

Potencial redox.- Es una medida de la facilidad con la que una molécula aceptará electrones, lo que significa que cuanto más positivo es el potencial redox, más fácilmente se reduce una molécula (Doble y Kumar, 2005).

Rayos X.- Son fotones ionizantes producidos cuando una partícula cargada, como un electrón, sufre una reducción de energía ya sea por transiciones electrónicas de un orbital atómico a un orbital de menor energía o por interacciones con un campo electromagnético fuerte (McGregor y Shultis, 2023).

Sintrofismo.- Es la interacción de organismos metabólicamente diferentes que intercambian metabolitos en distancias cortas. Este tipo de asociación permite a los organismos implicados realizar una función metabólica que ninguno de ellos puede realizar por sí solo (Zhang *et al.*, 2022).

Temperatura mesofílica.- Es un rango de temperatura de 25–40 °C (Angelidaki y Sanders, 2004).

Temperatura termofílica.- Es un rango de temperatura de 45–60 °C (Angelidaki y Sanders, 2004).

Transferencia directa de electrones interespecies (DIET).- Es un proceso por el cual los electrones se conducen a través de un material conductor y se transfieren entre células que están unidas a este, pero no en estrecho contacto entre sí (Lü *et al.*, 2018).

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mecanismos de acción y las desventajas del BC y materiales a base de Fe. Modificado de: Feng et al. (2023).	31
Tabla 2. Residuos lignocelulósicos para la elaboración de BC. Fuente: Elaboración propia a partir de las referencias mostradas.	32
Tabla 3. Serie americana de tamices.	48
Tabla 4. Parámetros deseables del inóculo.	52
Tabla 5. Técnicas empleadas para la caracterización del inóculo.	53
Tabla 6. Planteamiento del diseño experimental para ANOVA factorial 2^3	60
Tabla 7. Matriz experimental del diseño factorial 2^3 para la producción de metano con respecto a la humectación, impregnación y tamaño de partícula.	60
Tabla 8. Humedad (%) antes y después del tratamiento térmico.	65
Tabla 9. Soportes/Aditivos. H: Humectación, I: Impregnación, BU: Baño ultrasónico, PC: Parrilla de calentamiento, BC: biocarbón.....	67
Tabla 10. Caracterización del inóculo.....	69
Tabla 11. Incremento de CH ₄ según diferentes BC granulares. Fuente: Elaboración propia a partir de las referencias mostradas.	74
Tabla 12. Eficiencia de remoción de los ensayos del PBM. Variables de respuesta. H: Humectación, I: Impregnación, BU: Baño ultrasónico, PC: Parrilla de calentamiento.....	79
Tabla 13. Análisis de Varianza ANOVA: Modelo factorial con tres factores.	82

Tabla 14. Análisis de varianza para producción de metano, malla 30.....	84
Tabla 15. Análisis de varianza para producción de metano, malla 20.....	85
Tabla 16. Variables de respuesta.	114

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tres mecanismos DIET entre bacterias oxidantes orgánicas y arqueas metanogénicas. (A) DIET vía pili conductiva. (B) DIET a través de proteínas de transporte de electrones unidas a la membrana. (C) DIET a través de materiales conductores. Modificado de: Lovley, 2017.....	26
Figura 2. Transferencia directa de electrones interespecies en el biocarbón en la DA. SSA: área superficial específica, EDC: Capacidad de donación de electrones. Modificado de: Qin, et al., 2020.....	28
Figura 3. Humectación sobre material lignocelulósico. Modificado de: Hsu et al. (1980).	35
Figura 4. Tiempos para detener la prueba. TL: tiempo de latencia; TF: tiempo final; TP: tiempo de paro de la prueba. Fuente: Holliger, et al., 2016.	44
Figura 5. Molino de cuchillas (malla no. 2).	48
Figura 6. Tamizador. Mallas no. 8, 12, 20, 30, 40, 50, 70 y 100.	48
Figura 7. Balanza de humedad MB35 Ohaus.	48
Figura 8. Humectación en PC.	49
Figura 9. Humectación en BU.	49
Figura 10. Impregnación en PC.....	50
Figura 11. Impregnación en BU.	50
Figura 12. Mufla tubular Lindberg/Blue M Thermo Scientific.	51
Figura 13. Configuración de las pruebas de PBM (elaboración propia). ..	58
Figura 14. Sistema Automático de Pruebas de Potencial de Metano de Bioprocess Control.....	59

Figura 15. Microscopio electrónico de barrido de emisión termoiónica JEOL JSM 5900LV.....	61
Figura 16. Cáscara de coco.	62
Figura 17. Magnetita.....	62
Figura 18. Curva granulométrica. TE: Tamaño efectivo, CU: coeficiente de uniformidad.	63
Figura 19. Malla 20 (0.85 mm).	64
Figura 20. Malla 30 (0.60 mm).	64
Figura 21. Partículas de coco antes y después del tratamiento térmico (105 °C, 20hrs).....	64
Figura 22. Humectación en PC antes y después.....	65
Figura 23. Humectación en BU antes y	65
Figura 24. Impregnación en PC antes y después.	66
Figura 25. Impregnación BU antes y después.....	66
Figura 26. Partículas de coco con Fe ₃ O ₄ (antes de la pirólisis).....	66
Figura 27. BC malla 20 (después de la pirólisis).	67
Figura 28. BC malla 30 (después de la pirólisis).	67
Figura 29. Configuración de las pruebas de potencial bioquímico de metano (elaboración propia).	68
Figura 30. Gráfica del volumen acumulado de CH ₄ del control endógeno y el control positivo.	70
Figura 31. Gráfica de producción de CH ₄ de los controles.	71
Figura 32. Producción de CH ₄ de los BC humectados y/o impregnados malla 30.	71

Figura 33. Producción de CH ₄ de los BC humectados y/o impregnados malla 20.	72
Figura 34. pH de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.	76
Figura 35. Alcalinidad y AGV ´s de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.	76
Figura 36. Nitrógeno amoniacal de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.	77
Figura 37. Sólidos totales de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.	78
Figura 38. %Humedad de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.	78
Figura 39. Gráfica de probabilidad normal para producción de metano. .	81
Figura 40. Gráficas de residuos para producción de metano.	81
Figura 41. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.	83
Figura 42. Efectos principales para la producción de metano (medias de datos).	84
Figura 43. Intervalos de confianza simultáneos de 95% de Dunnett para malla 30.	85
Figura 44. Intervalos de confianza simultáneos de 95% de Dunnett para malla 20.	85
Figura 45. MEB de la superficie del control de biocarbón malla 30 a aumentos x100 (A), x750 (B) y x3000 (C).....	87
Figura 46. MEB de la superficie del control de biocarbón malla 30 humectado con BU a aumentos x100 (A), x750(B) y x3000 (C).....	87

Figura 47. MEB de la superficie del control de biocarbón malla 30
humectado con BU e impregnado con PC a aumentos x100 (A), x750(B) y
x3000 (C)..... 88

RESUMEN

Se ha demostrado que la incorporación de aditivos al proceso de digestión anaerobia (DA) tiene efectos positivos sobre el rendimiento de metano y la estabilidad del proceso debido a un aumento en la eficiencia energética. Las parejas sintróficas del sistema (bacterias fermentativas secundarias-arqueas metanogénicas) se adhieren a la superficie de estos materiales y los usan como conductos eléctricos para la transferencia directa de electrones interespecies (DIET).

Debido a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño de soportes granulares a partir de cáscara de coco como residuo lignocelulósico para la síntesis del biocarbón (BC) con pretratamiento alcalino e impregnados con magnetita (Fe_3O_4) en el proceso de DA, así como analizar la influencia del tamaño de partícula granular (malla 20 o 30) y su incorporación de forma suspendida al reactor para que puedan ser recuperados y reutilizados. También se analizaron los métodos de humectación e impregnación del BC llevados a cabo con baño ultrasónico (BU) o parrilla de calentamiento (PC) en condiciones similares. Para ello se realizaron pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM) en régimen discontinuo, monitoreando parámetros iniciales y finales como pH, alcalinidad, AGV's, nitrógeno amoniacal y DQO. Con estas pruebas se evidenció un mejor resultado con la malla 30 humectada en BU e impregnada en PC, produciendo 145.1 mLN/gDQO. Los soportes tratados tuvieron un incremento en la producción de metano desde 64% hasta 104%, respecto a los controles de biocarbón, es decir, tienen una

producción significativamente mayor, lo cual se comprobó con un análisis de varianza. Con los resultados obtenidos se evidenció que tanto el pretratamiento alcalino como la adición de más de un aditivo incrementan aún más la producción de metano. Por otro lado, la microscopía electrónica de barrido (MEB) corroboró los procesos fisicoquímicos atribuibles a la mejora del proceso, asimismo, se pudo constatar que el BC granular actúa como soporte para la Fe_3O_4 .

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problemática

Los procesos de digestión anaerobia (DA) pueden convertir sustratos orgánicos en biogás (Covarrubias *et al.*, 2020). Es ampliamente utilizado para el tratamiento de aguas residuales por sus bajos costos y producción de bioenergía. Sin embargo, los procesos de DA también tienen desventajas, como un largo tiempo de aclimatación y de retención hidráulica y bajas eficiencias, lo que conduce a mayores costos de capital (Azizi *et al.*, 2019), por lo tanto, las tasas de biodegradación y la eficiencia de la DA deben mejorar. En este sentido, existe evidencia suficiente de la eficiencia de materiales conductores (MC), principalmente carbonosos (biocarbón, carbón activado, nanotubos, telas y fieltros de carbono) y férricos (magnetita, hematita y acero inoxidable) con tamaño de partícula pequeña y adicionados de forma suspendida a los reactores anaerobios, sobre todo a escala laboratorio, con el propósito de mejorar las parejas sintróficas del sistema (bacterias fermentativas secundarias-arqueas metanogénicas) que pueden adherirse a la superficie de estos materiales y usarlos como conductos eléctricos para la transferencia directa de electrones interespecies (DIET) (Liu *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2016; Kato *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2014) y, en consecuencia, poseen ventajas como el amortiguamiento del pH, disminución de la fase de latencia, incremento en la tasa de producción de metano, incremento de la calidad y cantidad del biogás, entre las más destacadas (Saravanan *et al.*, 2018; Altamirano *et al.*, 2021; Chiappero *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022).

En la práctica, el carbón activado de 0.8–2.4 mm de diámetro (malla 20-8) se ha usado para experimentos con DIET (Lee *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2015). Este tamaño permite que el carbón activado pueda ser reciclado en los reactores más fácilmente (por ejemplo, por sedimentación por gravedad) que MC más pequeños, sin embargo, el biocarbón granular ha sido poco estudiado y su reducido tamaño de partícula implica su adición continua a biorreactores anaerobios para mantener la DIET dentro de la reacción anaerobia. Lo anterior hace que un proceso a mayor escala y operado en régimen continuo descargue estos aditivos por el efluente y no puedan ser recuperados, lo que disminuye la viabilidad técnica, económica y ambiental del proceso. Debido a esto, es importante analizar el rendimiento del biocarbón en forma granular para que puedan ser recuperados a escala industrial y puedan usarse durante varios ciclos de operación.

1.2. Justificación

La DA es un método eficaz para tratar los residuos orgánicos y recuperar energía en forma de biogás (Saravanan *et al.*, 2018). El componente principal del biogás es el metano, que representa el 55%-75% y podría usarse para calefacción y generación de electricidad (Abdallah *et al.*, 2019; Montiel y Razo, 2018). Hoy en día, la DA, puede desempeñar un papel fundamental debido a la necesidad urgente de proporcionar fuentes de energía renovables y gestionar de manera eficiente la cantidad, cada vez mayor, de residuos orgánicos (Chiappero *et al.*, 2020).

El proceso de degradación anaeróbica implica la hidrólisis de carbohidratos complejos de alto peso molecular, grasas y proteínas en polímeros solubles mediante la acción enzimática de bacterias fermentativas hidrolíticas y la conversión de estos polímeros en ácidos orgánicos, alcoholes, H_2 y CO_2 . Los ácidos grasos volátiles (AGV's) y los alcoholes se convierten en ácido acético mediante las bacterias acetogénicas productoras de H_2 , y finalmente las bacterias metanogénicas convierten el ácido acético y el gas H_2 en CO_2 y CH_4 . La estabilidad del proceso depende de la asociación sintrófica entre las bacterias productoras de H_2 y los metanógenos consumidores de H_2 (Angelidaki *et al.*, 2009).

Comparado con la digestión aerobia, los pasos de la DA poseen varias ventajas, como una menor producción de biomasa, mayores cargas orgánicas, menor aporte de energía y producción de energía más limpia (Ilmer *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2019; Lv *et al.*, 2010). Sin embargo, los procesos de DA también tienen desventajas, como un largo tiempo de aclimatación y tiempo de retención hidráulica y bajas eficiencias, lo que conduce a mayores costos de capital (Azizi *et al.*, 2019).

Las desventajas de los procesos de DA se deben principalmente a las siguientes tres razones. En primer lugar, Wang *et al.* (2011) lo atribuyeron al lento crecimiento de microorganismos anaeróbicos en la vía metanogénica. En segundo lugar, se piensa que los pasos de hidrólisis y acidificación son los pasos limitantes en la DA (Devlin *et al.*, 2011). La

tercera razón es la baja degradación fermentativa de los intermediarios clave, como el propionato y el butirato, que limitan la eficiencia de la DA (Müller *et al.*, 2010; Stams y Plugge, 2009). Para la degradación sintrófica de estos intermediarios en condiciones anaeróbicas, se propuso la transferencia de H₂ interespecies (IHT) como un mecanismo potencial (Sieber *et al.*, 2012). En el proceso IHT, el hidrógeno actúa como portador de electrones entre las bacterias oxidantes del sustrato y los metanógenos (de Bok *et al.*, 2004; Rotaru *et al.*, 2014). Además, el formiato también podría actuar como transferencia de electrones para conducir a la transferencia de formiato interespecies (IFT), que es similar a IHT (Dong y Stams, 1995; Rotaru *et al.*, 2014; Stams y Plugge, 2009). Los investigadores concluyeron que las bajas eficiencias de degradación de los intermediarios clave se debieron al metabolismo lento de IHT o IFT (Zhuang *et al.*, 2018).

Para mejorar la eficiencia de la DA, la transferencia directa de electrones interespecies (DIET) acelera el proceso. En la DIET, las especies anaeróbicas pueden intercambiar electrones a través de conexiones eléctricas (Rotaru *et al.*, 2014). Se aplica ampliamente en la digestión anaeróbica de lodos, el tratamiento de aguas residuales, la remediación del suelo y la mejora del ecosistema de humedales (Xing *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2017). Hay principalmente tres tipos de mecanismo DIET: a través de pili conductores, proteínas de transporte de electrones unidas a la membrana (como citocromos) y materiales conductores (Lovley, 2017), como se muestra en la Figura 1.

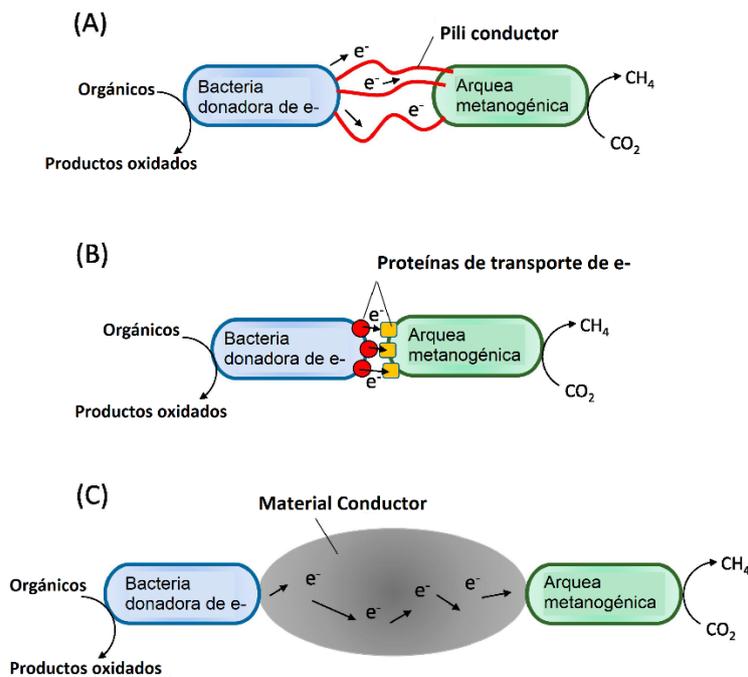


Figura 1. Tres mecanismos DIET entre bacterias oxidantes orgánicas y arqueas metanogénicas. (A) DIET vía pili conductiva. (B) DIET a través de proteínas de transporte de electrones unidas a la membrana. (C) DIET a través de materiales conductores. Modificado de: Lovley, 2017.

Los MC facilitan la DIET entre las bacterias secundarias fermentativas y las arqueas metanogénicas (Lee *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2012; Kato *et al.*, 2012). Por lo tanto, la adición de MC conduce a un aumento en la eficiencia energética y la producción de biogás a través de la DIET al eliminar varios pasos asociados con la producción y el consumo de hidrógeno (Lee *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2012). Además, un estudio realizado por Kato *et al.* (2012) concluyó que el transporte de electrones a través de MC es mucho más rápido que el transporte molecular de portadores de electrones. Las propiedades químicas (conductividad eléctrica, potencial redox y carga superficial) y físicas (tamaño, área de superficie específica y rugosidad) de estos MC afectan la eficiencia de la DIET.

Por otro lado, los MC pueden actuar como medios de soporte para el crecimiento bacteriano debido a su hidrofobicidad superficial y estructura microporosa (Dang *et al.*, 2017; Sasaki *et al.*, 2010).

Entre los aditivos, los MC carbonosos, como el carbón activado granular (GAC) y el biocarbón (BC), ganaron interés debido a su capacidad para mejorar la producción de metano (González *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). El BC puede presentar varias ventajas sobre otros aditivos; es un material de bajo costo y se puede producir con una amplia variedad de propiedades fisicoquímicas mediante el control de la materia prima, las condiciones de operación de pirólisis y el proceso de activación (Nanda *et al.*, 2016; Lehmann y Joseph, 2015). Debido a su estructura porosa, área de superficie específica, grupos funcionales de superficie y alto contenido de nutrientes (tanto micro como macronutrientes) el BC mitiga la inhibición por ácidos y amoníacos, promueve la formación de biopelícula y contribuye a la capacidad *buffer* del sistema (Gong *et al.*, 2011; Mumme *et al.*, 2014). Lo anterior promueve la DIET, como se muestra en la Figura 2, que favorece el enriquecimiento de ácido/acetógenos y metanógenos absorbidos en su superficie, acortando la distancia de contacto microbiano, por lo que los AGV's producidos por bacterias ácido/acetogénicas pueden transportarse más rápidamente a los metanógenos (Zhang *et al.*, 2018; Qin *et al.*, 2017).

poro se mueve hacia los microporos y esto a su vez resulta en un SSA más alta debido a la contribución máxima de microporos entre todos los tipos de poros del área superficial (Johnravindar *et al.*, 2021).

Gracias a la microporosidad, el BC actúa como soporte para el crecimiento bacteriano (He *et al.*, 2020). Los autores Luo *et al.* (2015) y Mumme *et al.* (2014) encontraron que los microorganismos enriquecidos en el BC contribuyen eficientemente a la metanogénesis debido a que la biopelícula apoya la colonización de acetógenos y metanógenos (Johnravindar *et al.*, 2021). La biopelícula también proporciona un escudo contra las duras condiciones externas y sustancias inhibitorias (Johnravindar *et al.*, 2021; Mumme *et al.*, 2014). La velocidad de transferencia de masa del sustrato y los nutrientes en el cuerpo de la biopelícula determina la eficiencia del proceso. La transferencia de masa está limitada por varios factores, como la resistencia a la difusión (dependiente del espesor de la biopelícula) y la porosidad de la biopelícula (Satya *et al.*, 2022). Por lo tanto, la biopelícula asociada con el BC tiene el potencial de ser reutilizada en la DA como un inóculo para aplicaciones a largo plazo (He *et al.*, 2020).

Los autores He *et al.* (2020) demuestran que las biopelículas en el BC de todos los tamaños podrían mantener una producción estable de metano durante al menos 4 ciclos de operación de DA (que duraron más de 5 meses), incluso con una carga orgánica creciente, utilizando el consorcio de BC-biopelícula en el ciclo 2, 3 y 4 del ciclo anterior, en vez de utilizar un inóculo. Las cantidades de microorganismos en los consorcios de BC-biopelícula reciclados fueron comparables a la efectividad de lodos frescos.

Por otro lado, los autores Gong *et al.* (2011) demuestran que un consorcio de GAC-biopelícula puede permitir mantener el reactor en estado estable (sin inhibición) durante casi 80 días y con mayores producciones de biogás y metano que el reactor de control sin GAC que solo duró unos 58 días cuando la producción de metano cayó rápidamente.

Además, algunos elementos como el sodio (Na), el magnesio (Mg), el zinc (Zn) y el hierro (Fe) son micronutrientes esenciales para el metabolismo bacteriano. Entre ellos, el Fe es un micronutriente vital (Junelles *et al.*, 1998). Kato *et al.* (2012) descubrieron por primera vez que, la síntesis de nanopartículas de Fe, como la hematita (Fe_2O_3) y magnetita (Fe_3O_4) en los digestores anaerobios pueden reducir significativamente la fase de latencia y mejorar la DA. Este mineral también juega un rol importante en el desarrollo microbiano que a su vez promueve la producción de CH_4 a través de la DIET (Zhao *et al.*, 2018). La Fe_3O_4 es un mineral eléctricamente conductor que contiene Fe^{3+} - Fe^{2+} en una proporción de 2:1, en términos de estado de oxidación (Skomurski *et al.*, 2010).

Para complementar la información sobre estos MC, la Tabla 1 muestra los mecanismos de acción y las desventajas del BC y materiales a base de Fe.

Tabla 1. Mecanismos de acción y las desventajas del BC y materiales a base de Fe. Modificado de: Feng et al. (2023).

Material conductor	Biocarbón	Partículas de hierro
Mecanismos de acción	<ol style="list-style-type: none"> 1) Promueve transferencia directa de electrones 2) Reemplaza pili conductor y citocromo tipo C para promover DIET 3) Promueve la DIET a través de grupos funcionales redox-activos 4) Enriquece microorganismos electroactivos 5) Su estructura microporosa conduce a la formación de biopelícula 6) Tiene área superficial específica grande y fuerte capacidad de adsorción 7) Grupos funcionales alcalinos promueven la capacidad <i>buffer</i> 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Promueve transferencia directa de electrones 2) Reemplaza citocromo tipo C para promover DIET 3) Provee oligoelementos de crecimiento microbiológico y mejora la actividad enzimática 4) Enriquece microorganismos electroactivos 5) Enriquece microorganismos reductores de Fe y promueve la descomposición de materia orgánica compleja 6) Induce la expresión de proteínas asociadas a la DIET 7) Fortalece aún más la DIET
Desventajas	Altas dosis adsorben mucha DQO y reducen la efectividad del sustrato para la conversión a metano	Altas dosis pueden actuar como aceptores de electrones y competir con los metanógenos aceptores de electrones, inhibiendo así la metanogénesis

Por lo tanto, los elementos u óxidos metálicos incorporados al BC exhiben mayor área de superficie específica y mejor capacidad de adsorción (Wu et al., 2020), así como mejor conductividad eléctrica para promover la transferencia de electrón (Feng et al., 2023), lo que mejoraría aún más el proceso de DA.

Por otro lado, la combinación de un pretratamiento alcalino con la adición de MC también podría estimular la producción de metano y mejorar el rendimiento de la DA que el de una sola aplicación de ellos (Lin *et al.*, 2020; Khalid *et al.*, 2011).

Por último, aprovechar residuos lignocelulósicos agroindustriales o forestales para la síntesis de materiales como el BC constituye una estrategia potencial para reducir costos, conservar los recursos naturales y desarrollar nuevos productos de valor agregado (González *et al.*, 2013). Como se puede observar en la Tabla 2, algunos residuos que han sido empleados para su producción han sido, cáscara de coco, paja de arroz, tallo de maíz, poda de huerto, entre otros.

Tabla 2. Residuos lignocelulósicos para la elaboración de BC. Fuente: Elaboración propia a partir de las referencias mostradas.

Material lignocelulósico	% Lignina	Tamaño de partícula	SSA (m ² /g)	Fuente
Paja de arroz (500°C)	14.85	< 1mm (malla 20)	77.1 4	(Qin <i>et al.</i> , 2020)
Tallo de maíz (550°C)	16.60		18.4 2	
Cáscara de coco (400°C)	42.3	< 10 μm (malla 1250)	16	(Ouyang <i>et al.</i> , 2013)
Cáscara de coco (450°C)			29	
Cáscara de coco (500°C)			36	
Cáscara de coco (600°C)			136	
Cáscara de coco (700°C)			229	
Cáscara de coco (650°C)		-		(Cai <i>et al.</i> , 2023)

Endocarpio de coco (500°C)		< 0.42 mm (malla 40)	56.3 80	(Altamirano <i>et al.</i> , 2021)
Poda de huerto (500 °C)	17.00	-	13.7	(Chiappero <i>et al.</i> , 2020)

Un alto contenido de lignina y minerales en la materia prima da como resultado mayores rendimientos de BC (Collison *et al.*, 2009; Antal y Grønli, 2003), siendo la cáscara de coco un buen residuo para trabajar (Tabla 2). Por otro lado, Li *et al.* (2023) reportan que el SSA es un factor decisivo para las aplicaciones del biocarbón. Una superficie pequeña no es propicia para la unión de microorganismos y puede reducir los efectos en la promoción de la DIET en la DA (Qin *et al.*, 2020). Por otro lado, la pirólisis en el rango 350–800 °C es casi lineal y positivamente relacionado con el SSA (Ouyang *et al.*, 2013), en este sentido, la temperatura óptima de producción de biocarbón en términos de recuperación de carbono y SSA es 500 °C (Lehmann, 2007).

1.3. Objetivo general

Evaluar la producción de metano en el proceso de digestión anaerobia mediante la incorporación de soportes suspendidos elaborados a partir de cáscara de coco con pretratamiento alcalino e impregnados con magnetita en reactores anaerobios operados en lote a escala laboratorio.

1.4. Objetivos específicos

- Aprovechar residuos orgánicos lignocelulósicos mediante la síntesis de biocarbón para promover la DIET y evaluar su desempeño en el proceso de digestión anaerobia.
- Evaluar la influencia del tamaño de partícula y los diferentes métodos de humectación e impregnación en los biocarbones mediante pruebas de potencial bioquímico de metano y un análisis estadístico para promover un mejor rendimiento en la producción de metano.
- Analizar la topografía y morfología superficial del soporte tratado con mayor producción de metano y de sus controles mediante la técnica de MEB para observar los procesos atribuibles a la mejora en el rendimiento del proceso e identificar si el biocarbón efectivamente actúa como soporte de la magnetita.

2. PRETRATAMIENTO Y SÍNTESIS DE BIOCARBÓN

El acceso a las fibras de celulosa en la biomasa lignocelulósica se ve impedido por la hemicelulosa y lignina (Venkatesh *et al.*, 2010). Por ello, se requiere un pretratamiento que incluye deshidratación, reducción de tamaño y una humectación química con álcali o ácido (Meng *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2022; Irawan *et al.*, 2018). Un pretratamiento efectivo aumenta la porosidad del material, remueve la hemicelulosa y reduce la lignina presente (González *et al.*, 2011), como se puede observar en la Figura 3.

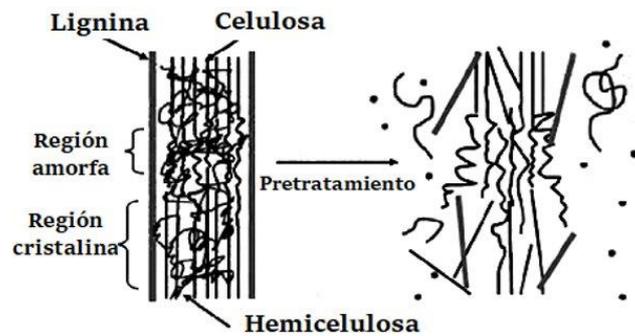


Figura 3. Humectación sobre material lignocelulósico. Modificado de: Hsu et al. (1980).

La humectación puede llevarse a cabo de varias maneras, dependiendo del tipo de agente (por ejemplo, activación física y química) o modo de operación de una o varias etapas. La activación química utiliza agentes químicos, por ejemplo, H_3PO_4 , HNO_3 , KOH , $NaOH$, H_2SO_4 y $ZnCl_2$ (Tan *et al.*, 2017; Cha *et al.*, 2016). Por lo general, implica dos pasos; en el primero, la materia prima se impregna con un agente químico seleccionado y luego es tratado térmicamente (Chiappero *et al.*, 2020).

La humectación alcalina se usa en materiales lignocelulósicos con un elevado contenido de lignina (Taherdanak y Zilouei, 2014). El empleo de diferentes álcalis como hidróxidos de sodio, potasio, calcio y amonio son efectivos deslignificando el material. Además, reduce el grado de inhibición durante el proceso de degradación anaerobia y proporciona un menor costo de producción (Bolado *et al.*, 2016). También, mejora el rendimiento de metano de biomásas lignocelulósicas (González *et al.*, 2019), siendo el tratamiento alcalino más efectivo y compatible con la DA en comparación con otros métodos de activación (Zhu *et al.*, 2010).

Según Irawan *et al.* (2018) el hidróxido de sodio (NaOH) elimina eficazmente la lignina de la fibra de coco, en concentraciones entre 2-15% a temperaturas entre 70-121 °C (Tahezadeh y Karimi, 2008; Silverstein *et al.*, 2007).

Por otro lado, la humectación alcalina convencional muestra un alto consumo de energía y una menor eficiencia para superar las fuertes energías interactivas del complejo lignina-carbohidrato, en última instancia, exhibieron un menor potencial de extracción de lignina y también produjeron reacciones secundarias innecesarias de lignina. A la luz de esto, muchos investigadores han centrado su atención en la extracción asistida por microondas, que es una tecnología atractiva basada en las ventajas de ahorro de tiempo, eficiencia energética, uniformidad, alto rendimiento de productos, así como su fácil operación (Davila *et al.*, 2019; Fan *et al.*, 2018).

La irradiación de microondas es capaz de realizar una rápida velocidad de calentamiento interno, lo que agrava la interacción directa tanto con la biomasa lignocelulósica como con el disolvente de reacción y puede romper la estructura recalcitrante de la biomasa lignocelulósica (Avelino *et al.*, 2018).

Para la síntesis del biocarbón, la pirólisis convencional o "lenta" se caracteriza por lapsos de calentamiento de la biomasa pausados, temperaturas bajas y largos tiempos de residencia de los sólidos y el gas.

Los lapsos de calentamiento son cerca de 0.1 a 2 °C por segundo y prevalecen las temperaturas alrededor de los 500 °C. Según Gheorghe *et al.* (2009) este sería el proceso con el más alto rendimiento de biocarbón.

El biocarbón preparado a partir de la activación de la biomasa y la pirólisis, ha desarrollado una estructura de microporos, gran SSA, abundantes grupos funcionales superficiales y excelente capacidad de adsorción física y química (Hübner y Mumme, 2015; Salman *et al.*, 2017), lo que facilita la DIET y posteriormente, la formación de una biopelícula.

3. POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

Los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica se utilizan para establecer la biodegradabilidad anaeróbica, para la máxima producción de CH₄ de sustratos, pero también para la determinación de la tasa de biodegradación en general. El potencial de metano puede expresarse específicamente por cantidad de residuos (l CH₄/kg-residuo), volumen de residuos (l CH₄/l-residuo), por masa de sólidos volátiles añadidos (l CH₄/kg-VS) o DQO añadida (l CH₄/kg-DQO). El volumen generalmente se expresa en condiciones estándar de presión (1 atm) y temperatura (0 °C) (Angelidaki & Sanders, 2004).

El PBM es un ensayo a escala de laboratorio que se realiza en batch. El principio del ensayo consiste en la mezcla de un sustrato orgánico con un inóculo anaerobio en condiciones experimentales y operacionales

definidas; el CH₄ generado durante la digestión anaerobia se cuantifica por un método de medición específico (Cárdenas *et al.*, 2016; Guwy, 2004).

3.1. Inóculo

La DA requiere la presencia de grupos de microorganismos con capacidad metabólica para que el proceso de degradación se lleve a cabo, es decir, un inóculo anaerobio, este debe ser "fresco" de cualquier tipo de reactor anaeróbico activo, homogéneo y que se encuentre en estacionario estable al momento del muestreo, es decir, sin cambiar las condiciones de operación (Angelidaki *et al.*, 2009; Holliger *et al.*, 2016). Esto proporciona una comunidad microbiana abundante capaz de digerir una gran variedad de moléculas orgánicas. En la medida de lo posible, el inóculo debe utilizarse tal como se muestrea, sin embargo, algunos inóculos pueden requerir preparación que puede incluir tamizado, dilución y desgasificación (Holliger *et al.*, 2016).

El inóculo debe ser "desgasificado" para agotar el material orgánico biodegradable residual presente en él. La desgasificación debe prolongarse hasta que no haya una producción significativa de metano: típicamente de 2 a 5 días (Angelidaki *et al.*, 2009).

La temperatura del ensayo PBM, mesofílica o termofílica, suele ser la misma que la temperatura de funcionamiento del digestor de inóculo (Holliger *et al.*, 2016).

Otro factor importante es la cantidad de inóculo añadido. A menudo se desea una baja cantidad de inóculo, ya que el inóculo también contribuye a la formación de biogás y, por lo tanto, puede alterar los resultados si su producción es relativamente alta en comparación con el sustrato. Por otro lado, una cantidad relativamente pequeña de inóculo puede conducir a una sobrecarga del proceso, provocando la acidificación en el proceso (Angelidaki *et al.*, 2009).

Un contenido de inóculo aclimatado entre el 10-15 % del volumen útil del reactor es suficiente para el arranque del proceso de DA, el volumen relativo del inóculo puede ser menor en caso de que se utilicen inóculos concentrados, como gránulos que contienen una cantidad concentrada de microorganismos activos (Angelidaki *et al.*, 2009).

3.1.1. Técnicas Analíticas

3.1.1.1. Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO representa la cantidad del oxígeno contenido en dicromato de potasio necesaria para oxidar la materia orgánica contenida en la muestra. Esta determinación se basa en la oxidación de los compuestos contenidos en una muestra utilizando un oxidante fuerte, como es el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), en un medio fuertemente ácido y utilizando sulfato de plata (Ag_2SO_4) como catalizador. La reacción se lleva a cabo a 148 °C durante 2 horas. La adición de sulfato mercúrico ($HgSO_4$) permite la inactivación de los iones cloruro (Cl^-) para que no consuman

oxígeno del dicromato de potasio. El dicromato de potasio que no reacciona (restante) se determina por espectrofotometría (APHA, 2005).

3.1.1.2. Nitrógeno Amoniacal

El nitrógeno amoniacal se encuentra en forma de NH_4^+ y NH_3 , existiendo en dependencia del pH, por lo tanto, para su determinación la muestra debe tamponarse a $\text{pH}=9.5$ y de esta manera poder cuantificar ambas especies. El método por destilación se basa en la transformación del nitrógeno en amoníaco contenido en una muestra, en medio alcalino. La destilación de la muestra a tratar permite la separación del amoniaco (el cual se encontrará en el destilado) de los compuestos de nitrógeno orgánico. El destilado se titula con una solución de ácido sulfúrico para cuantificar el nitrógeno amoniacal (APHA, 4500-NH₃ C y 4500-NH₃E).

3.1.1.3. Sólidos volátiles (SV)

El contenido de SV describe el contenido de materia orgánica en el residuo, y se define como la cantidad de materia perdida en una muestra seca después de 1 h a una temperatura de aproximadamente 550 °C (APHA 2540-E). El método se basa en el hecho de que la mayoría de los materiales orgánicos se encienden a esta temperatura, mientras que la mayoría de los compuestos inorgánicos requieren temperaturas más altas (Holliger *et al.*, 2016).

3.1.1.4. pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGV´s)

Cuando las condiciones ambientales en el interior del sistema de tratamiento son favorables, las bacterias metanogénicas convierten los ácidos intermediarios tan pronto como son formados a CH_4 y CO_2 , evitando su acumulación y garantizando que la alcalinidad natural del medio y el pH permanezcan en un rango favorable para las mismas. Si las condiciones son desfavorables, los AGV´s no serán consumidos a la misma tasa en que son producidos por las bacterias acidogénicas, ocasionando su acumulación en el sistema. Los ácidos libres que no logran neutralizarse ocasionan una rápida disminución de la alcalinidad disponible con el consecuente descenso del pH (Van Haandel y Lettinga, 1994; Chernicharo, 1997). Durante cierto tiempo, las sustancias que ejercen un poder tampón impiden la caída del pH. Solamente cuando toda la alcalinidad del medio no es suficiente para la neutralización de los ácidos volátiles, ocurrirá la caída del pH. Por lo tanto, este parámetro se manifiesta muy tarde para poder corregir las fallas del proceso. Por ello, es importante evaluar simultáneamente los parámetros de pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (Pérez y Torres, 2008).

La titulación del lodo digerido por ácido a pH 4.0 – 4.3 es el método por el cual se determina la alcalinidad (considerada alcalinidad total). Normalmente, la mayoría de este valor es alcalinidad bicarbonática (pH 5.75) en forma de bicarbonato de amonio. Sin embargo, los ácidos volátiles, ya que se encuentran como acetatos, propionatos, etc., también

se titularán como alcalinidad. La reducción del pH a 3.3 destruirá el ion bicarbonato y al hervir la muestra se elimina todo el ácido carbónico y el CO₂ que quedan en solución. La titulación posterior de pH 4.0 a 7.0 incluirá los ácidos orgánicos y los otros iones menores presentes (alcalinidad base). El factor de conversión para determinar los ácidos volátiles presentes en la alcalinidad ácida depende de la proporción del ácido que se valora entre pH 4.0 y 7.0 (Pérez y Torres, 2008; DiLallo y Albertson, 1961).

3.2. Condiciones experimentales

3.2.1. Controles

Además del sustrato será necesario contar con un blanco (control negativo o endógeno), el cual no tendrá fuente de carbono, solo inóculo y medio basal necesario para adicionar nutrientes. Se incluyen controles con solo inóculo añadido para tener en cuenta el biogás producido a partir de la materia orgánica contenida en el inóculo. La producción de metano determinada en este ensayo se resta de la producción de metano obtenida en los ensayos de sustrato. Además, se implementará un control positivo, el cual tendrá inóculo, medio basal y glucosa como fuente de carbono (5 g DQO/L). Este ensayo da una idea de la respuesta del inóculo hacia sustratos "estándar" (Angelidaki *et al.*, 2009).

3.2.2. Soluciones

Solución A y B: es el medio basal que consiste de muchas sales minerales y no contiene cantidad significativa de carbono orgánico (Angelidaki y Sanders, 2004). Se necesita para la función óptima de los microorganismos anaeróbicos (Angelidaki *et al.*, 2009).

Solución C: el procedimiento de control se debe a uno o más reactores con sustrato estándar de celulosa o gelatina o ambos, dependiendo de la naturaleza del sustrato probado: la celulosa se puede utilizar para cultivos, residuos agrícolas o biorresiduos municipales, mientras que la gelatina es preferible para carne, pescado y otros residuos similares (Angelidaki *et al.*, 2009).

Solución D: Hay que tomar en cuenta que la alcalinidad del inóculo disminuirá al diluirlo con el sustrato y el medio mineral. Por lo tanto, habrá que adicionar bicarbonato de sodio para llevar la alcalinidad final de la mezcla (inóculo/sustrato/medio mineral) a un valor cercano a $3 \text{ g CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (Holliger *et al.*, 2016). Este valor de alcalinidad es suficiente para mantener el pH del proceso entre 6.8 y 7.2 (McCarty, 1964).

3.3. Condiciones operacionales

3.3.1. Capacidad del reactor y réplicas

Los ensayos se realizaron por triplicado, dependiendo de la complejidad del sustrato y de la reproducibilidad de los ensayos. El ensayo se realizó en recipientes cerrados (100 mL hasta 2 L) dependiendo de la homogeneidad del sustrato (Angelidaki *et al.*, 2009).

3.3.2. Duración del ensayo

Según Angelidaki *et al.* (2009) y Holliger *et al.* (2016) se pueden utilizar los siguientes criterios para determinar el fin de la prueba:

- 1) Aplicando el criterio de tiempo de paro, el cual se obtiene cuando la curva de producción de CH₄ se vuelve asintótica (Figura 4).
- 2) La prueba puede ser detenida cuando la producción diaria de CH₄, por tres días consecutivos ha sido < 1 % del volumen acumulado de CH₄.

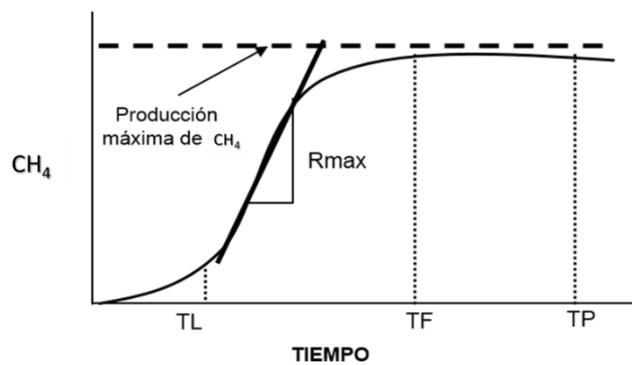


Figura 4. Tiempos para detener la prueba. TL: tiempo de latencia; TF: tiempo final; TP: tiempo de paro de la prueba. Fuente: Holliger, *et al.*, 2016.

3.3.3. Agitación

La mezcla facilita el contacto entre bacterias/enzimas y sustratos evitando la acumulación de sustratos e intermediarios (por ejemplo, ácidos grasos) en el medio y garantiza condiciones homogéneas en los recipientes de ensayo (Angelidaki *et al.*, 2009).

3.3.4. Ajuste de pH

El pH juega un papel importante en la biodegradación anaeróbica. El proceso de DA ocurre en el intervalo de pH de 6.0-8.3. La mayoría de los metanógenos tienen un pH óptimo entre 7 y 8, mientras que las bacterias formadoras de ácido a menudo tienen un pH óptimo más bajo (Angelidaki y Ahring 1994).

Para las tasas de degradación para la glucosa el pH se puede encontrar en el rango de 7.0-7.5 durante los períodos de acoplamiento (Ito *et al.*, 2012). Otros autores comentan que en las pruebas de PBM un pH de 7 es ideal para comenzar las pruebas (Siegert y Banks, 2005; Kalyuzhnyi y Davlyatshina, 1997; Speece, 2007).

3.3.5. Unidad fijadora de CO₂

Una excepción para las técnicas volumétricas es cuando el CO₂ queda atrapado en una solución alcalina, solo entonces se determina el volumen de CH₄ (Holliger *et al.*, 2016).

3.3.6. Relación Inóculo/Sustrato (I/S)

La I/S, la relación de SV del inóculo (parcialmente debido a la degradación activa de la biomasa) a SV del sustrato, es un parámetro clave en las pruebas de PBM. Se recomienda que la porción de SV del inóculo sea mayor que la del sustrato para minimizar los problemas de acidificación o inhibición. Por lo tanto, los I/S basados en SV deberían estar entre dos y cuatro para la mayoría de las aplicaciones (Holliger *et al.*, 2016).

4. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Esta prueba determina si existen o no diferencias significativas entre las medias de varios grupos de observaciones, donde cada grupo sigue una distribución normal y homocedasticidad (Zivorad, 2004).

El experimento factorial (Melo, *et al.*, 2019) hace referencia a la constitución de los tratamientos o combinaciones de tratamientos que desean comparar. El objetivo es estudiar el efecto de varios factores sobre una o varias respuestas. La necesidad de estudiar conjuntamente varios factores obedece principalmente a dos razones:

- a. Encontrar un modelo que describa el comportamiento general del fenómeno en estudio. Esto se restringe al rango de variación de los niveles de los factores.
- b. Optimizar la variable de respuesta, es decir, encontrar la combinación de niveles de los factores que la optimizan.

El método de Dunnett se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para las diferencias entre la media de cada nivel de factor y la media de un grupo de control (Melo, *et al.*, 2019). Si un intervalo contiene el cero, no hay diferencia significativa entre las dos medias que están comparándose.

5. METODOLOGÍA

La metodología experimental de este trabajo se llevó a cabo en tres etapas:

- I. Síntesis de biocarbones
- II. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM)
- III. Caracterización de biocarbones (únicamente del soporte con mejores resultados en el PBM y sus respectivos controles)

5.1. Síntesis de biocarbones

5.1.1. Obtención de materiales conductores

En este trabajo se emplearon dos MC: cáscara de coco como material lignocelulósico para la síntesis de BC y nanopartículas de Fe_3O_4 .

La cáscara de coco fue recolectada en un mercado de Xochimilco en la Ciudad de México. Mientras que la Fe_3O_4 se obtuvo de QR Minerales.

5.1.2. Reducción de tamaño

La cáscara de coco se trituró (Meng, et al., 2014; Gunam, et al., 2020) en un molino de cuchillas con una malla del número 2 (Figura 5), posteriormente se tamizó la muestra utilizando mallas del no. 8, 12, 20, 30, 40, 50, 70 y 100 (Figura 6, Tabla 3). Se escogieron las muestras con tamaño de partícula granular de mayor % de peso que pasa por malla (curva granulométrica).



Figura 5. Molino de cuchillas (malla no. 2).



Figura 6. Tamizador. Mallas no. 8, 12, 20, 30, 40, 50, 70 y 100.

Tabla 3. Serie americana de tamices.

No. de malla	Apertura (mm)
100	0.140
70	0.210
50	0.297
40	0.420
30	0.595
20	0.841
12	1.68
8	2.38

5.1.3. Lavado y tratamiento térmico

Se lavaron las muestras con agua destilada para remover las fibras de coco, posteriormente las muestras se secaron en el horno a una temperatura de 105 °C por un periodo de 20 horas (Gunam *et al.*, 2020; Meng *et al.*, 2014; Cheng, *et al.*, 2022) y finalmente se determinó la humedad en una balanza de humedad (Figura 7) a una temperatura de 100 °C por un periodo de 10 minutos.



Figura 7. Balanza de humedad MB35 Ohaus.

5.1.4. Humectación alcalina

La humectación se realizó con 20 g de las partículas de coco con NaOH al 10% en una parrilla de calentamiento (PC) (Figura 8) y en un baño ultrasónico (BU) (Figura 9) a 400 rev/min a una temperatura de 90°C por un periodo de 2 hrs (Irawan *et al.*, 2018) y a una temperatura de 22°C por un periodo de 5 min a una potencia de 400W (Meng *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2022), respectivamente. Posteriormente las muestras se lavaron con agua hasta obtener un pH de 7. Las muestras se secaron en el horno y se registró su peso. Se repitió el procedimiento hasta obtener 100 g por malla.



Figura 8. Humectación en PC.



Figura 9. Humectación en BU.

5.1.5. Impregnación con magnetita

La relación de impregnación fue de 1 g de partículas de coco humectadas con 0.1 g de Fe_3O_4 (Altamirano *et al.*, 2021) siguiendo la misma metodología que en la humectación (Irawan *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2014), como se observa en las Figuras 10 y 11. Las muestras se secaron en el horno y se registró su peso.



Figura 10.
Impregnación en PC.



Figura 11. Impregnación en BU.

5.1.6. Pirólisis

Finalmente, se realizó la pirólisis en la mufla tubular Lindberg/Blue M Thermo Scientific (Figura 12). Se colocaron aproximadamente 16 g de muestra en el tubo, incluyendo un control de partículas de coco sin Fe_3O_4 y sin Fe_3O_4 y sin humectar. En todos los experimentos, el flujo de nitrógeno fue constante (40 mL/min). Se alcanzó una temperatura óptima de producción de BC de 500°C (Escalante *et al.*, 2016) por un periodo de 1 hora con rampas de temperatura de 0.5 °C/s (Altamirano, *et al.*, 2021; Shan *et al.*, 2016). Una vez finalizada la pirólisis se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente, se registró el peso del BC y se guardó en recipientes plásticos herméticos etiquetados.

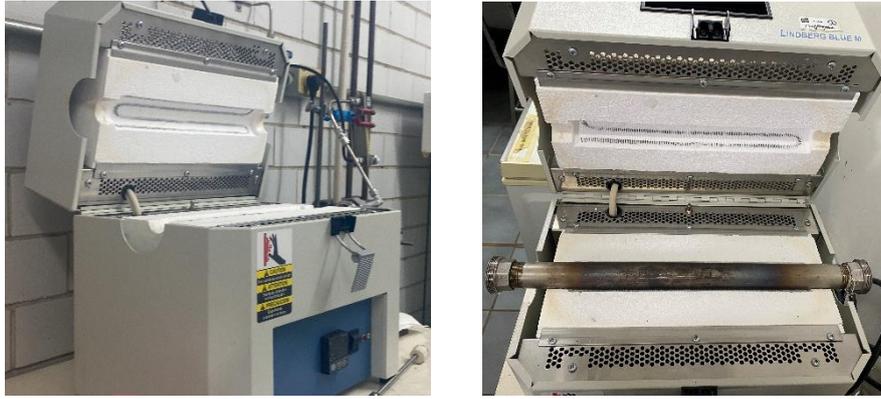


Figura 12. Mufla tubular Lindberg/Blue M Thermo Scientific.

5.2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM)

En este trabajo, la producción de CH_4 será cuantificada mediante el sistema de ensayo automático de potencial de metano (AMPTS por sus siglas en inglés).

Estos experimentos tuvieron como objetivo analizar el rendimiento de cada biocarbón en la producción de metano en la DA para evaluar la influencia de sus tratamientos.

5.2.1. Sustrato

Como sustrato modelo biodegradable se utilizó glucosa (5 g DQO de glucosa/L).

5.2.2. Obtención, preparación y caracterización del inóculo

En este trabajo se empleó lodo fresco granular proveniente de un reactor anaerobio de tratamiento de aguas residuales de una cervecera que opera de forma estable a 35°C . Una vez obtenido se mantuvo en un cuarto frío a 4°C hasta su uso.

Para incrementar los sólidos volátiles del inóculo y ocupar poco espacio en los reactores se concentraron los gránulos mediante centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos (Pérez y Torres, 2008; DiLallo y Albertson, 1961) y para agotar la materia orgánica presente en el medio y evitar alterar los resultados en la producción de CH₄, se *desgasificó* la muestra todos los días, abriendo el contenedor 2 horas al día por 5 días (Angelidaki *et al.*, 2009).

Los parámetros para la caracterización del inóculo fueron: DQO, pH, alcalinidad, ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal, humedad, sólidos totales, fijos y volátiles. Se considera un inóculo de buena calidad si los parámetros de operación del reactor son acordes a los presentados en la Tabla 4 (Holliger *et al.*, 2016).

Tabla 4. Parámetros deseables del inóculo.

Parámetro	Valor
pH	>7.0 y <8.5
AGV	<1.0 g _{CH₃COOH} L ⁻¹
NH ₄ ⁺	<2.5 g _{N-NH₄} L ⁻¹
Alcalinidad	>3 g _{CaCO₃} L ⁻¹

5.2.2.1. Técnicas Analíticas

En la Tabla 5 se presentan las técnicas que fueron utilizadas para la caracterización del inóculo.

Parámetro	Método
Sólidos totales	Gravimétrico. Sólidos presentes después de someter la muestra a 105 °C (APHA 2540-B)

Humedad	Gravimétrico. Por diferencia entre la masa inicial y los sólidos totales determinados (APHA 2540-B)
Sólidos volátiles y fijos	Gravimétrico. Sólidos presentes después de ser secados a 105 °C y posteriormente incinerados a 550 °C (APHA 2540-E)
Demanda química de oxígeno (DQO)	Espectrofotométrico, a través de longitud de onda a 600 nm. Digestión ácida a 148 °C en reflujo cerrado por 2 hrs (APHA 5220)
pH	Potenciométrico, medición directa (APHA 4500)
Alcalinidad	Titulación potenciométrica con H ₂ SO ₄ 0.1 N hasta un pH de 5.75 y 4.3 (Pérez y Torres, 2008)
AGV's	Titulación potenciométrica con NaOH 0.1 N hasta un pH de 4 y 7, posteriormente obtener los AGV's a partir de la alcalinidad ácida (DiLallo y Albertson, 1961)
Nitrógeno amoniacal	Volumétrico. Destilación y posterior titulación con H ₂ SO ₄ 0.02 N (APHA, 4500-NH3 C y 4500-NH3E)

Tabla 5. Técnicas empleadas para la caracterización del inóculo.

5.2.2.1.1. Demanda química de oxígeno (DQO)

Se determinó la DQO del inóculo de acuerdo con la metodología establecida por APHA (2005). En un vial con tapa rosca de 10 mL se colocaron 2.5 mL de muestra diluida (1:100, 2:100 o 4:100) y se añadieron 1.5 mL de la solución de K₂Cr₂O₇ y 3.5 mL del reactivo de H₂SO₄. Se agitaron los viales hasta homogenizar y se introdujeron en la estufa por un periodo de 2h a una temperatura de 148° C, posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se vació el contenido de cada vial en una celda de vidrio y se tomó lectura de la absorbancia de las muestras a 600 nm. Todo el tiempo se ajustó la absorbancia a cero con el blanco de agua destilada. La técnica se realizó por triplicado con los respectivos controles.

Se generó una curva de calibración de absorbancia en función de DQO con soluciones de biftalato ácido de potasio a diferentes concentraciones.

Se preparó una solución de biftalato ácido de potasio con una concentración de DQO de 1000 mg/L. Se hicieron nueve diluciones a partir de esta solución, cada dilución representa una concentración de DQO diferente, las concentraciones de DQO para la curva son 50 mg/L, 150 mg/L, 250 mg/L, 350 mg/L, 450 mg/L, 550 mg/L, 650 mg/L 750 mg/L y 850 mg/L.

A partir de la curva y las absorbancias se obtuvo la DQO. Se utilizó la dilución con menor desviación estándar. Para más detalle con respecto a los cálculos, consultar Anexo (a).

5.2.2.1.2. Nitrógeno Amoniacal

Se determinó nitrógeno amoniacal de acuerdo con la metodología establecida por APHA (2005). La técnica se realizó por triplicado usando 10 mL de muestra filtrada, 5 mL del buffer de boratos, 10 mL de NaOH 6 N y 25 mL de solución idicadora mixta. Una vez alcanzados 50 mL de muestra destilada se procede a titular con H_2SO_4 0.02 N normalizado. Con el volumen de muestra, la normalidad del ácido y el volumen de ácido gastado se obtiene el nitrógeno amoniacal. Para más detalle con respecto a los cálculos, consultar Anexo (b).

5.2.2.1.3. Sólidos totales, volátiles, fijos y humedad

Se determinaron los sólidos totales, fijos y volátiles del inóculo de acuerdo con la metodología establecida por APHA (2005). La técnica se realizó por triplicado por lo que se metieron 3 cápsulas de porcelana limpias en la

estufa a una temperatura de 115 °C por un periodo de 20 minutos, posteriormente se dejaron enfriar por 15 minutos en un desecador y se pesaron en una balanza analítica donde se registró su peso como PC (peso constante). Para mejores resultados, se concentraron los gránulos mediante centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos. Al momento de usar el inóculo, este estuvo a temperatura ambiente y mezclado perfectamente para asegurar su homogeneización. Se pesaron 3 g de muestra en cada cápsula a PC y se registró su peso como PI (peso del inóculo). Estas cápsulas se metieron en la estufa a una temperatura de 105 °C por un periodo de 12 horas, hasta que el peso de la cápsula fuera constante, posteriormente se dejaron enfriar por 15 minutos en un desecador y se pesaron en una balanza analítica donde se registró su peso como PE (peso después de la estufa). Las cápsulas con inóculo seco se colocaron en la mufla a una temperatura de 550 °C por un periodo de 1.5 horas para calcinar la muestra, posteriormente se pasaron a la estufa a 105 °C por 20 minutos y, por último, al desecador. Una vez enfriadas se pesaron y se registró su peso como PM (peso después de la mufla).

Con los datos registrados se obtienen los valores de %humedad, %ST, %SV, la diferencia de estos dos últimos da los valores de %SF. Para más detalle con respecto a los cálculos, consultar Anexo ©.

5.2.2.1.4. pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGV´s)

Estos parámetros se determinaron por titulación potenciométrica de acuerdo con la metodología establecida por Pérez y Torres (2008) y

DiLallo y Albertson (1961). Una medida de la alcalinidad total del medio es la cantidad de ácido fuerte que es necesario añadir a una muestra para llevar el pH a un valor predeterminado. Por otro lado, una medida de la acidez total del medio es la cantidad de base fuerte que es necesario añadir a una muestra para llevar el pH a un valor predeterminado. Por lo tanto, para llevar a cabo estos análisis se realizó una disolución de ácido sulfúrico 0.1 N normalizado y una disolución de hidróxido de sodio 0.1 N normalizado.

Para iniciar con la técnica se concentraron los lodos en la centrifugadora a 3000 R.P.M. por un periodo de 10 minutos y utilizando 50 mL del sobrenadante en un matraz Erlenmeyer (el volumen de muestra no modifica los resultados). Se realizó la titulación (Pérez y Torres, 2008; DiLallo y Albertson, 1961) anotando el pH inicial de la muestra y el volumen utilizado de ácido o hidróxido en los pH de 5.75, 4.3, 4, 3.3 y 7. Con los volúmenes consumidos para llegar a dichos pH, la normalidad de estos y el volumen de muestra utilizada se calculó alcalinidad, AGV's y el índice alfa. Para más detalle con respecto a los cálculos, consultar Anexo (d).

5.2.3. Condiciones experimentales y operacionales

Las pruebas de PBM se llevaron a cabo siguiendo la metodología establecida por Angelidaki *et al.* (2009) y Holliger *et al.* (2016).

Se realizaron las siguientes soluciones:

Solución A: se preparó una solución de sales como fuente de nutrientes: 100 g NH_4Cl , 5 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 g NaCl en 1 L de agua destilada. Este medio está basado en el reportado por Angelidaki y Sanders (2004). A todos los reactores se les adicionó 3.6 mL.

Solución B: se preparó una solución de fosfatos que forma parte del medio de cultivo basal: 200 g $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 1 L de agua destilada. Este medio está basado en el reportado por Angelidaki y Sanders (2004). A todos los reactores se les adicionó 0.72 mL.

Solución C: se secó glucosa anhidra a 105°C por 2 h y se dejó enfriar en un desecador. Se realizó una solución de 50 g DQO de glucosa/L, considerando que 1 g DQO de glucosa = 1.06 g de glucosa. A todos los reactores, con excepción de los controles endógenos, se les adicionó 36 mL (5 g DQO glucosa/L).

Solución D: para preparar una solución de bicarbonato 10 veces concentrada se diluyó 30 g de NaHCO_3 en 1L de agua destilada. A todos los reactores se les adicionó 36 mL.

Solución para unidad fijadora de CO_2 : se preparó una solución de NaOH 6 M (solución A) y una solución de 0.4% de timolftaleína (40 mg de timolftaleína en 9 mL de etanol al 99.5% seguido de un 1 mL de agua) (solución B), la solución final contiene 5 mL de la solución B por 1 mL de la solución A. Se adicionaron 80 mL de esta solución en cada frasco del módulo de fijación de CO_2 .

En la Figura 13 se muestran las condiciones experimentales y operacionales de las pruebas.

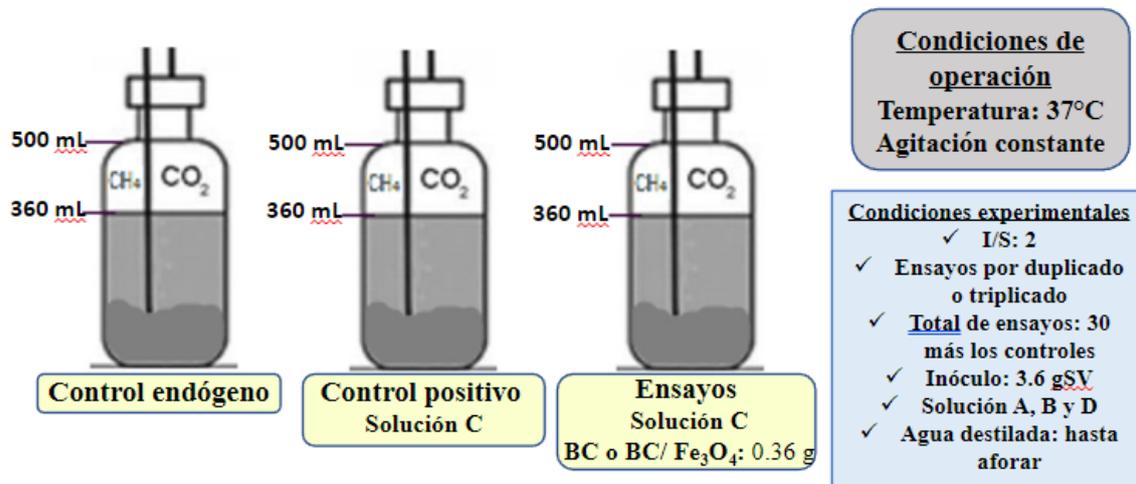


Figura 13. Configuración de las pruebas de PBM (elaboración propia).

Los ensayos y controles se realizaron en reactores de 500 mL (360 mL de volumen de trabajo), usando dos o tres réplicas, escogidas aleatoriamente, por condición evaluada.

Considerando el volumen de trabajo, se adicionó 1 g de SV de inóculo por cada 100 mL de medio (3.6 g SV por cada réplica) lo cual permitió alcanzar una relación I/S igual a 2 g SV/g DQO.

Los controles endógenos incluyen 3.6 gSV de inóculo, medio basal (solución A y B), solución de bicarbonato (solución D) y agua destilada. De igual forma, los controles positivos de glucosa y los ensayos con BC y BC/Fe₃O₄ (0.36 g) incluyen 3.6 gSV de inóculo, solución A, B, C (glucosa), D y agua destilada.

Todos los reactores se ajustaron a un pH inicial de entre 7 y 7.5 (Ito *et al.*, 2012; Kalyuzhnyi y Davlyatshina, 1997), posteriormente se cerraron y se colocaron en el baño de agua previamente ajustado a una

temperatura de 37 °C. Los reactores se mantuvieron con agitación mecánica constante y el biogás producido pasó a través de una unidad de captura de CO₂ y su volumen se convirtió automáticamente a temperatura y presión estándar (0° C y 1bar) en una unidad medidora de flujo de metano. Los datos fueron registrados hasta que la producción diaria de CH₄ fuera inferior al 1% del volumen acumulado. Las pruebas se monitorearon los ensayos todos los días. El sistema utilizado para las pruebas de PBM se muestra en la Figura 14.



Figura 14. Sistema Automático de Pruebas de Potencial de Metano de Bioprocess Control.

Todos los ensayos fueron caracterizados con los mismos parámetros del inóculo (Tabla 5) al inicio y al final de las pruebas. Sin embargo, para la DQO se utilizó una dilución de 1/10.

5.2.4. Análisis de varianza (ANOVA)

Los resultados experimentales de las pruebas de PBM de los soportes tratados se sometieron a un análisis de varianza ANOVA: un diseño factorial 2³ con el fin de determinar el factor o la combinación de factores

en la que la producción de metano (mLNCH₄/gDQO) sea mayor, utilizando un nivel de confianza del 95%, seguido de una prueba de comparación múltiple post hoc (prueba de Dunnett) con el fin de analizar si alguno de los tratamientos es significativamente diferente de sus respectivos controles. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Minitab 21.4. En la Tabla 6 se presenta el planteamiento del diseño experimental y en la Tabla 7 la matriz experimental donde se pueden apreciar los factores con sus respectivos niveles:

Tabla 6. Planteamiento del diseño experimental para ANOVA factorial 2³.

Parámetro	Condición
Aleatorización	Sí
Variable de respuesta	Producción de metano (mLN CH ₄ /gDQO)
Variables independientes o factores	<i>Codificados:</i> A, B y C <i>Decodificados:</i> A: Humectación B: Impregnación C: Tamaño de partícula
Niveles o tratamientos	<i>Codificados:</i> a, b y c = 2 <i>Decodificados:</i> a: BU y PC b: BU y PC c: 0.60 y 0.85 (mm)
Réplicas	2

Tabla 7. Matriz experimental del diseño factorial 2³ para la producción de metano con respecto a la humectación, impregnación y tamaño de partícula.

	Tamaño de Partícula (A)			
	0.60 mm (malla 30)		0.85 mm (malla 20)	
	Humectación (B)		Humectación (B)	
Impregnación (C)	PC	BU	PC	BU
PC	123.1	143.7	118.3	117.5
	124.6	146.6	116.7	148.9
BU	134.7	140.7	138.2	122.1

	137.6	143.8	127.6	129.8
--	-------	-------	-------	-------

5.3. Caracterización de biocarbones

Para caracterizar el biocarbón tratado con mayor producción de metano y sus controles se utilizó la técnica de microscopía electrónica de barrido (MEB). Para esta técnica se necesitaron de 7-10 mg de muestra en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5900-LI, el cual se muestra en la Figura 15, el cual utilizó un haz de electrones (electrones secundarios, electrones retrodispersados y rayos X) cuyas interacciones generaron una imagen de alta resolución (aumentos de x100, x750 y x3,000) que permitió analizar la topografía y morfología superficial del material.

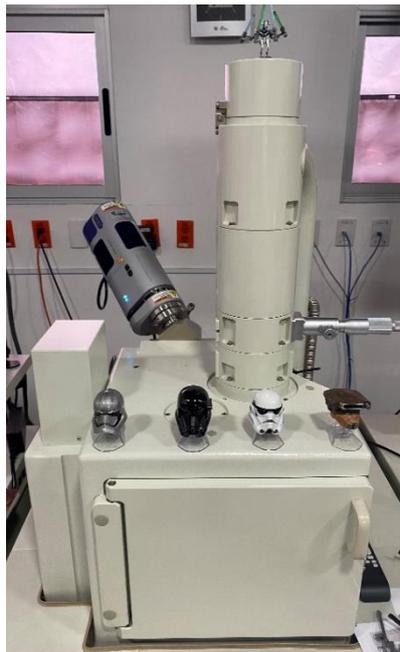


Figura 15. Microscopio electrónico de barrido de emisión termoiónica JEOL JSM 5900LV.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Síntesis de biocarbones

6.1.1. Obtención de materiales conductores

La cáscara de coco (Figura 16) fue recolectada en un mercado de Xochimilco, en la Ciudad de México, este material se obtuvo en pedazos trozados con un tamaño aproximado de 10 cm x 5 cm. Este material lignocelulósico es necesario para la posterior síntesis del BC.

La Fe_3O_4 (Figura 17) se obtuvo de QR Minerales, siendo un polvo fino (< Malla 40) de color negro, insoluble en agua que contiene 64% de hierro, 6% de óxido de silicio, 0.5% de carbono y 0.045% de azufre.



Figura 16. Cáscara de coco.



Figura 17. Magnetita.

6.1.2. Reducción de tamaño

El tamaño de las partículas de coco que componen el medio filtrante es medido con tamices de tamaños definidos, pesando la cantidad de una muestra que pasa por cada uno. Los resultados de este análisis se encuentran en la Figura 18.

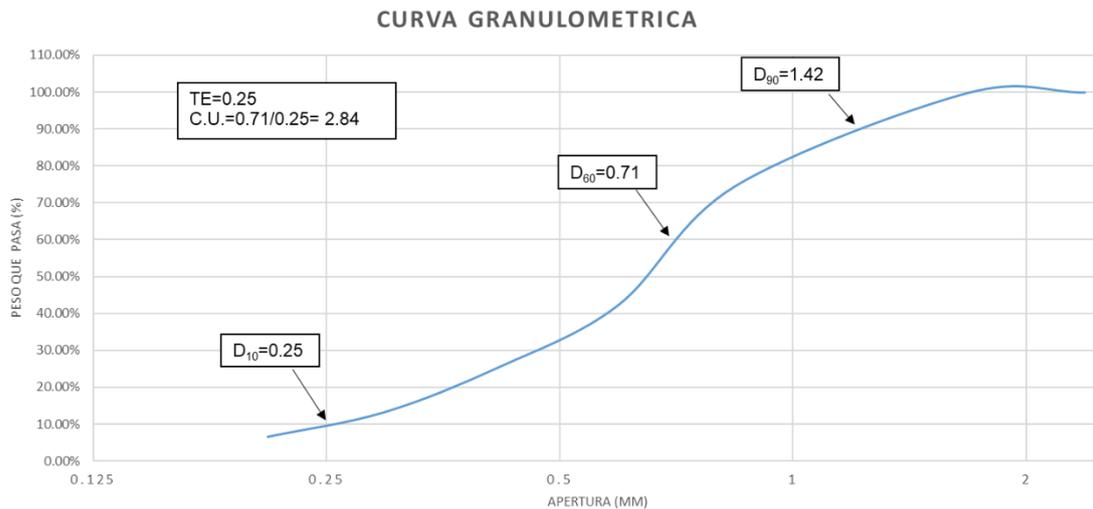


Figura 18. Curva granulométrica. TE: Tamaño efectivo, CU: coeficiente de uniformidad.

Se entiende por tamaño efectivo (TE) el tamaño promedio del grano (medido como el valor, en mm, de tamiz que deja pasar 10 % en peso de las partículas (D₁₀) (y retiene el 90 por ciento restante).

El coeficiente de uniformidad (CU) es una medida de la desviación del tamaño de los granos. Es la relación entre el tamaño del tamiz que deja pasar 60 % y el tamaño que deja pasar 10 % más fino que él (D₆₀/D₁₀).

De la figura anterior se puede analizar que se tiene un mayor % de peso que pasa por malla en la apertura 2.38, 1.68, 0.84 y 0.60 mm (tamaños granulares), por lo que se decide trabajar con las últimas 2 (por consideraciones de la digestión anaerobia) que tienen un no. de malla de 20 y 30, respectivamente, que se pueden observar en las Figura 19 y 20.



Figura 19. Malla 20 (0.85 mm).



Figura 20. Malla 30 (0.60 mm).

6.1.3. Lavado y tratamiento térmico

El lavado de las partículas de coco fue exitoso para la remoción de las fibras y para la deshidratación de las muestras (Figura 21).



Figura 21. Partículas de coco antes y después del tratamiento térmico (105 °C, 20hrs).

Las muestras fueron analizadas en una balanza de humedad obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 8:

Tabla 8. Humedad (%) antes y después del tratamiento térmico.

	Antes del tratamiento térmico	Después del tratamiento térmico
Mall a	Humedad (%)	Humedad (%)
20	10.85 ± 0.43	1.87 ± 0.09
30	10.90 ± 0.12	2.02 ± 0.22

De la anterior se observa que el tratamiento térmico fue efectivo, removiendo aproximadamente el 9% de humedad.

6.1.4. Humectación alcalina

En las Figuras 22 y 23 se pueden observar un cambio físico cuando la humectación alcalina es llevada a cabo, ya sea en PC o en BU, esto se puede deber a la exitosa extracción de la lignina (Fan *et al.*, 2018; Silverstein *et al.*, 2007; Davila *et al.*, 2019).



Figura 22. Humectación en PC antes y después.



Figura 23. Humectación en BU antes y después.

6.1.5. Impregnación con magnetita

Para la impregnación con Fe_3O_4 ya sea en PC o BU no se puede observar un cambio físico antes y después del proceso (Figuras 24-25). Es por esto

que más adelante (apartado 6.3) se realizó un análisis MEB para analizar la topografía y morfología superficial de los biocarbones para corroborar la eficacia del proceso de impregnación.



Figura 24. Impregnación en PC antes y después.



Figura 25. Impregnación BU antes y después.

6.1.6. Pirólisis

Mediante el proceso de la pirólisis se logró sintetizar el BC a partir de las partículas de coco. En las Figuras 26-28 se puede notar un cambio físico debido a la degradación térmica de la biomasa residual en donde se obtiene un sólido carbonoso de color negro con estructura porosa (apartado 6.3).



Figura 26. Partículas de coco con Fe_3O_4 (antes de la pirólisis).



Figura 27. BC malla 20 (después de la pirólisis).



Figura 28. BC malla 30 (después de la pirólisis).

En total se realizaron 14 soportes con diferentes combinaciones de humectación e impregnación, incluyendo los controles de BC sin Fe_3O_4 y sin Fe_3O_4 y humectación que se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Soportes/Aditivos. H: Humectación, I: Impregnación, BU: Baño ultrasónico, PC: Parrilla de calentamiento, BC: biocarbón

Malla 20	Malla 30	Control es
H-BU, I-BU	H-BU, I-BU	BC 20 BC 30
H-PC, I-PC	H-PC, I-PC	
H-PC, I-BU	H-PC, I-BU	
H-BU, I-PC	H-BU, I-PC	
H-BU	H-BU	
H-PC	H-PC	

El biocarbón fue etiquetado como BC y los biocarbones tratados con diferentes condiciones fueron etiquetados con el siguiente formato: "Tipo de Humectación (PC o BU), Tipo de Impregnación (PC o BU), no. malla (20 o 30)", por ejemplo, para el biocarbón Humectado con BU,

Impregnado con PC de malla 20 se etiquetó como “H-BU, I-PC 20”, en cambio el mismo BC sin magnetita se etiquetó como “H-BU 20”.

6.2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM)

Los resultados del PBM obtenidos corresponden a los experimentos que se integran gráficamente en la Figura 29, donde se probaron diferentes tratamientos de humectación e impregnación a los biocarbones, junto con sus controles.



Figura 29. Configuración de las pruebas de potencial bioquímico de metano (elaboración propia).

A continuación, se discuten los hallazgos del experimento.

6.2.1. Caracterización fisicoquímica del inóculo

En la Tabla 10 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica realizada a los lodos granulares utilizados como inóculo.

Tabla 10. Caracterización del inóculo.

Parámetro	Unidades	Lodos granulares
Humedad	%	86,78 ± 0.14
Sólidos totales	g ST/L	13,22 ± 0.14
Sólidos volátiles	g SV/L	10,11 ± 0.06
Sólidos fijos	g SF/L	3,12 ± 0.09
SV/ST	-	0,76 ± 0.00
Demanda química de oxígeno (DQO)	g O ₂ /L	0,01 ± 0.00
pH	-	8,33 ± 0.06
Alcalinidad	gCaCO ₃ /L	0,53 ± 0,02
Índice alfa	-	0,83 ± 0,01
AGV's	g CH ₃ COOH/L	0,89 ± 0,15
Nitrógeno amoniacal	g N-NH ₄ ⁺ /L	0,17 ± 0,01

Según Holliger *et al.* (2016) un buen inóculo tiene un pH > 7.0 y < 8.5, AGV's < 1.0 g CH₃COOH L⁻¹, NH₄⁺ < 2.5 g N-NH₄L⁻¹ y alcalinidad > 3 gCaCO₃ L⁻¹. Por lo que el inóculo utilizado era de buena calidad ya que tenía un pH de 8.33, 0.89 g CH₃COOH/L y 0.17 g N-NH₄⁺/L, sin embargo, su alcalinidad de 0.53 g CaCO₃/L es relativamente baja pero más adelante se probará que este valor no afectó en la acidificación del proceso.

Por otro lado, el inóculo usado en este trabajo tenía una relación SV/ST de 0.76, el cual es un valor más alto que la de Raposo *et al.* (2011) de

0.47 que también utilizó lodos anaerobios de una cervecería, este valor indica que el inóculo utilizado tenía una alta actividad metanogénica.

6.2.2. Producción de metano

En la Figura 30 se presenta la producción de metano del control endógeno y del control positivo en función del volumen acumulado de metano.

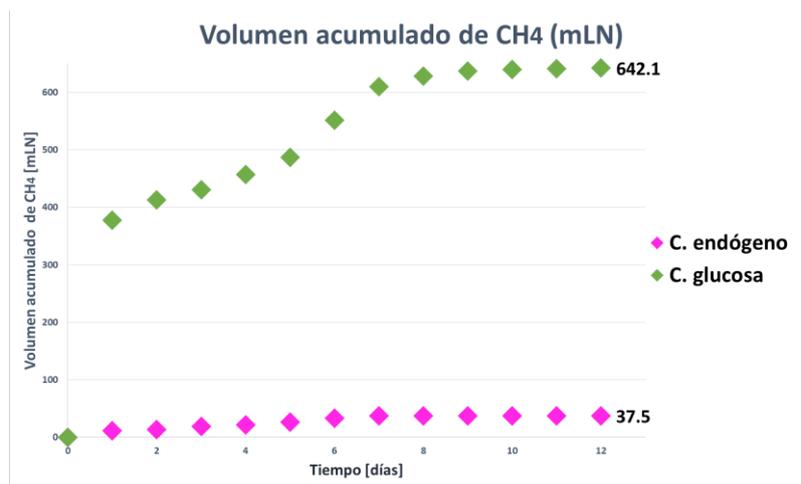


Figura 30. Gráfica del volumen acumulado de CH₄ del control endógeno y el control positivo.

En la figura anterior el control endógeno tiene muy baja producción endógena, por debajo del 20% de la producción total de metano, como lo recomienda el protocolo de Holliger *et al.* (2016).

En la Figura 31 se presenta la gráfica de la producción de metano en términos de mLN/gDQO adicionada de los controles de BC (malla 20 y 30) y el control de glucosa.

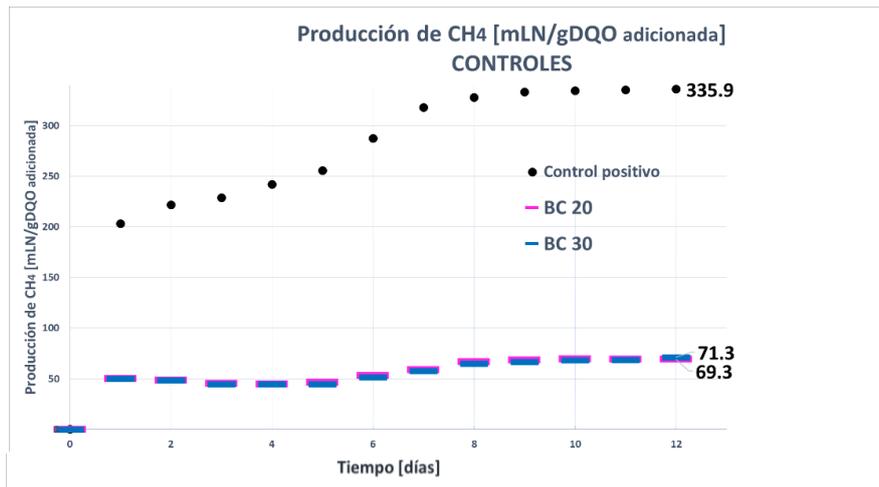


Figura 31. Gráfica de producción de CH₄ de los controles.

La glucosa como sustrato modelo tiene una producción teórica de metano de 350 mL/gDQO (Júnior, et al., 2016) y en este experimento se obtuvo un valor de 335 mL/gDQO, el cual se aproxima al valor teórico.

Por otro lado, se tienen los valores de producción de metano de los biocarbones tratados en términos de mL/gDQO adicionada (Figura 32 y 33).

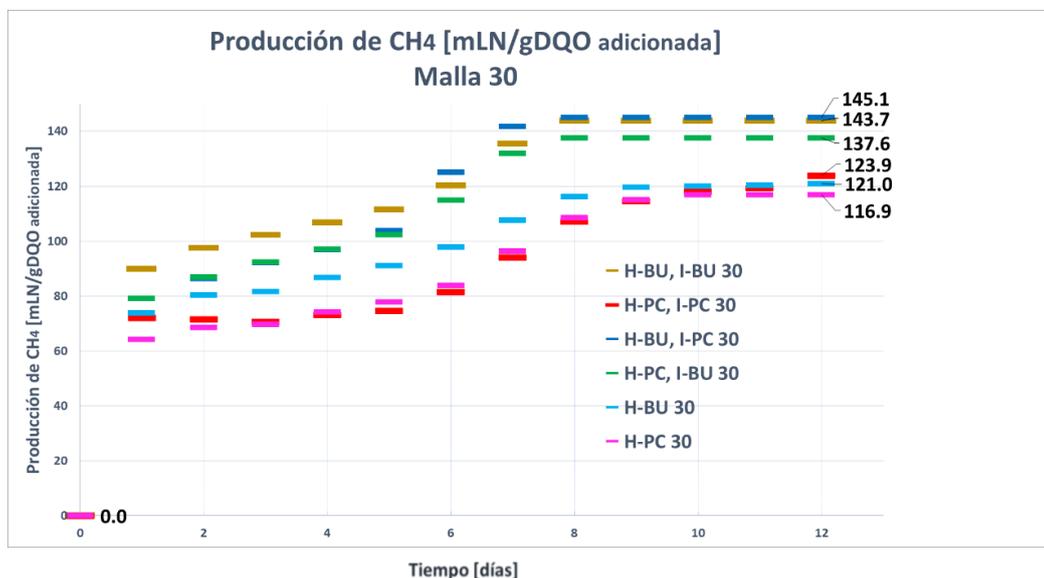


Figura 32. Producción de CH₄ de los BC humectados y/o impregnados malla 30.

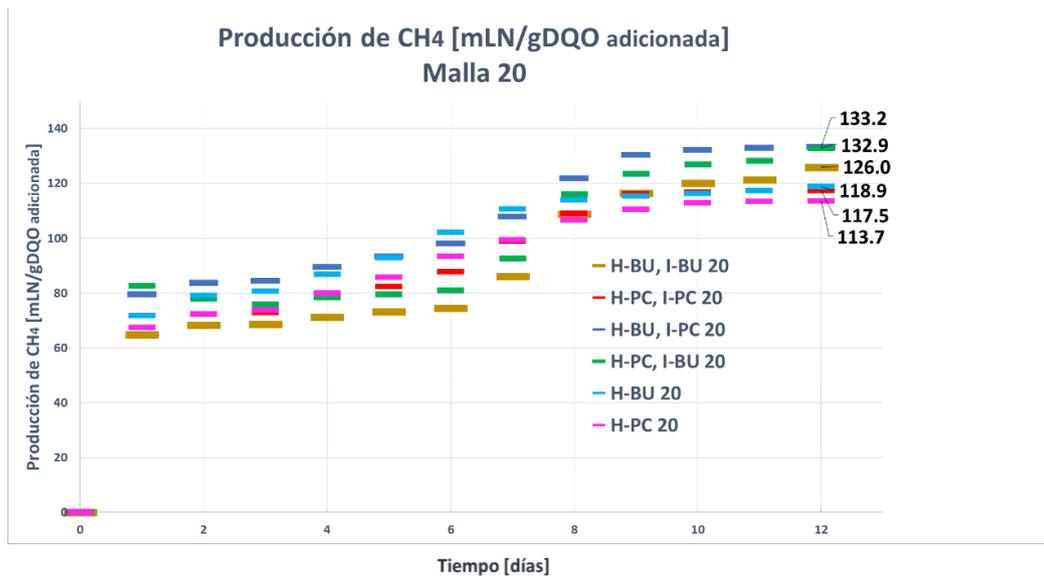


Figura 33. Producción de CH₄ de los BC humectados y/o impregnados malla 20.

De las figuras anteriores se observa que la mejor respuesta en el rendimiento de metano se logró con la malla 30 humectada en Baño Ultrasónico e impregnada en Parrilla de Calentamiento, produciendo 145.1 mLN/gDQO. La literatura ha reportado mejores resultados con tamaño de partícula pequeña (Luo *et al.*, 2015), donde, como en el presente trabajo se evidencia un mejor resultado, esto se debe a que un área superficial grande propicia la unión de microorganismos y un mejor intercambio de electrones (Qin *et al.*, 2020).

Con respecto a los controles de biocarbón (Figura 31) y los biocarbones tratados (Figura 32-33) se puede notar un incremento en la tasa de producción de metano en todos los soportes tratados, en particular, los soportes de malla 30 con mayor producción de metano tuvieron un incremento del doble con respecto a su control y los soportes de malla 20

con mayor producción de metano tuvieron un incremento de casi el doble con respecto a su control. Específicamente para la malla 30 se tuvo un incremento del 104% con el soporte H-BU, I-PC; del 102% con el soporte H-BU, I-BU; del 93% con el soporte H-PC, I-BU; del 74% con el soporte H-PC, I-PC; del 70% con el biocarbón H-BU y del 64% con el biocarbón H-PC; mientras que para la malla 20 se tuvo un incremento del 92% con el soporte H-BU, I-PC; del 92% con el soporte H-PC, I-BU; del 82% con el soporte H-BU, I-BU; del 72% con el biocarbón H-BU; del 70% con el soporte H-PC, I-PC y del 64% con el biocarbón H-PC, siendo resultado de un tiempo de residencia de 12 días.

El mejor soporte para las dos mallas fue el H-BU, I-PC, mientras que el biocarbón tratado con menor producción de metano para las dos mallas fue el H-PC. En este sentido, se demuestra que mayormente la humectación con PC es menos efectiva, esto se puede deber a que la H-BU disminuye en mayor cantidad la lignina y también aumenta más el volumen de poros (Avelino *et al.*, 2018).

Por último, todos los biocarbones tuvieron una producción de metano menor a la glucosa, esto puede deberse a que algunos biocarbones tienen efectos negativos en el rendimiento de la DA (Qin *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2019) que puede deberse a sus propiedades físicas y químicas específicas (Fagbohunbe *et al.*, 2017), así como a la dosis adecuada (Li

et al., 2019). El material lignocelulósico utilizado también afecta en la producción de metano, como se puede ver en la Tabla 11.

Tabla 11. Incremento de CH₄ según diferentes BC granulares. Fuente: Elaboración propia a partir de las referencias mostradas.

Fuente	Dosis glucosa	MC	Tamaño	Dosis MC	Incremento en la producción CH₄ [%]
(Qin et al., 2020)	3.8 g DQO/L	Paja de arroz (500°C)	< 1mm (malla 20 en adelante)	5 g/L	-1.6
		Tallo de maíz (550°C)			-2.6
		Bambú (550°C)			-5.0
		Madera de pino (550°C)			5.0
		Madera de roble (550°C)			7.9
		Madera de manzano (550°C)			10.6
(Luo et al., 2015)	6.4 g DQO/L	Maderas frutales (800 °C)	2-5 mm (malla 4-10)	10 g/L	22.2

Los autores Zhao et al. (2023) han reportado un incremento en la producción de CH₄ de 3.6% y 2.9% con biocarbón impregnado con Fe₃O₄ (respecto a los BC's sin Fe₃O₄) fabricado a partir de residuo de biogás y FORSU, respectivamente, con un tiempo de residencia de 40 días. Por otro lado, estas muestras presentan un aumento del 63% y 54% respecto del control (propionato). En este trabajo, las materias primas también fueron trituradas, secadas y tamizadas. Se seleccionaron únicamente

muestras de malla 70–100 (tamaño de partícula de 1100-1250 nm). Esta biomasa fue diluida en agua y pretratada con ultrasonido durante 2 h en un vaso de precipitados, que posteriormente se calentó a 180 °C durante 6 h en un autoclave. Después del lavado con agua, las muestras fueron liofilizadas. Las muestras resultantes se impregnaron con partículas de Fe₃O₄ en una solución de etanol con ultrasonido durante 1 h. La suspensión resultante fue liofilizada y finalmente calcinada en una mufla a 800 °C por 2 h. En este trabajo, también se utilizó la relación de masa Fe₃O₄/BC de 0.1: 1.

6.2.3. Técnicas Analíticas

6.2.3.1. pH, alcalinidad y AGV´s

Según Angelidaki y Ahring (1993), la DA falla por debajo de pH 6 y por arriba de pH 8. El pH es principalmente determinado por la alcalinidad del sistema de carbonatos, el dióxido de carbono y el amonio. Cuando los AGV´s comienzan a acumularse en el reactor estos son neutralizados por la alcalinidad y mantienen el pH estable.

En la Figura 34 podemos notar que el pH se mantuvo estable, es decir, la acumulación de AGV´s que consumió la alcalinidad del medio no provocó una caída en el pH (Speece, 1996), por lo que el sistema contaba con buena capacidad amortiguadora.

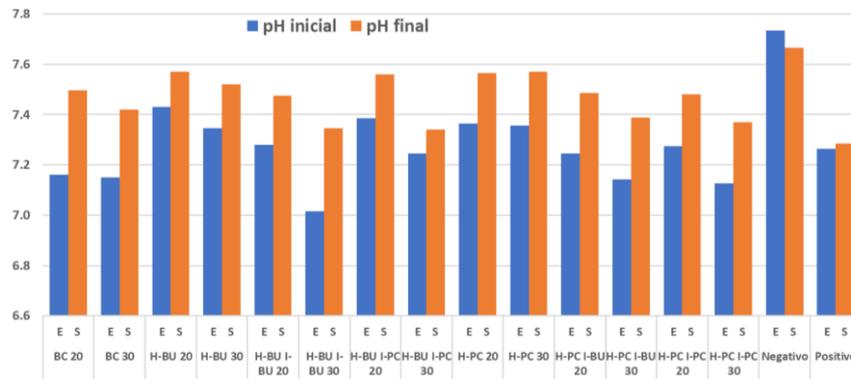


Figura 34. pH de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.

En la Figura 35 se puede notar que en todos los ensayos los AGV's aumentaron, pero su concentración no supera los 3 g/L, el cual Kryvoruchko *et al.* (2009) lo citan como nivel de inhibición. Mientras tanto, la alcalinidad se mantuvo estable.

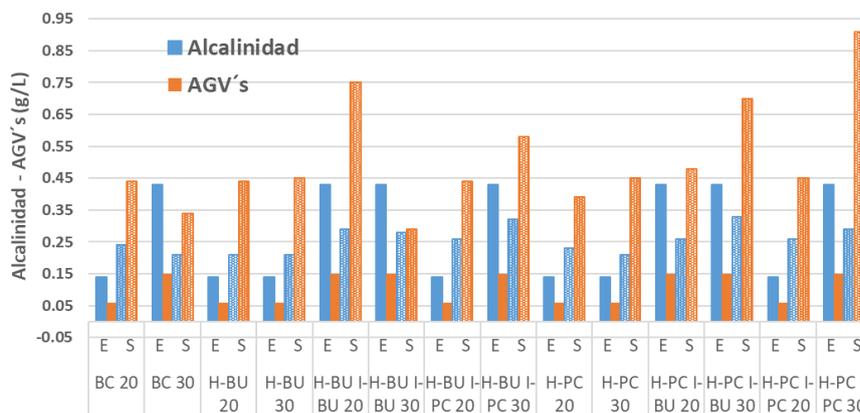


Figura 35. Alcalinidad y AGV's de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.

6.2.3.2. Nitrógeno amoniacal

El ion amonio (NH_4^+) y el amoníaco no ionizado (NH_3) son las dos formas principales del nitrógeno amoniacal total en el proceso anaerobio (Rajagopal *et al.*, 2013).

El control óptimo del amoníaco y el amonio puede garantizar un crecimiento bacteriano estable y contribuir significativamente a la capacidad amortiguadora del sistema de DA (Chiappero *et al.*, 2020; Angelidaki y Ahring, 1993).

En la Figura 36 se observa que la concentración de nitrógeno amoniacal se mantuvo estable debido a que no hubo una tasa de conversión rápida de NH_4^+ en NH_3 . El aumento de la cantidad de NH_3 inhibe la microflora metanogénica y da como resultado la acumulación de AGV's (Rajagopal *et al.*, 2013). McCarty (1964) indicó que cuando la concentración de nitrógeno amoniacal excede los 3 gN- NH_4/L , los procesos de digestión anaerobia se inhiben a cualquier pH y cómo podemos observar en la Figura 30, los valores no superaron los 0.3 gN- NH_4/L .

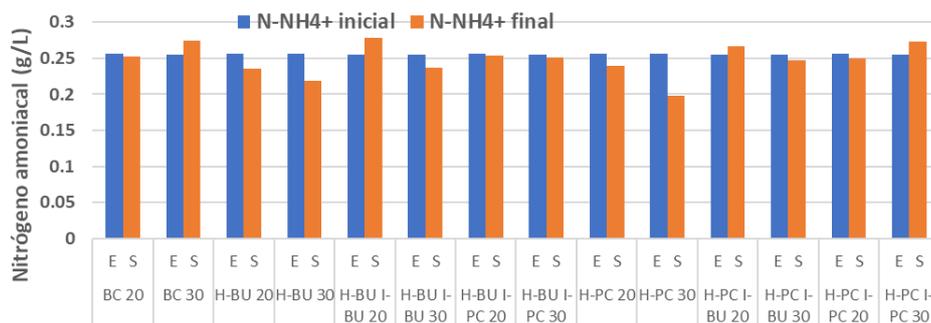


Figura 36. Nitrógeno amoniacal de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.

6.2.3.3. Sólidos totales y humedad

Los procesos de digestión anaerobia pueden clasificarse según la concentración de sólidos totales (ST) de la materia prima: los sistemas de

digestión secos tienen un contenido de ST superiores al 20 %, los semi secos varían del 10 al 20 % de ST y húmedos cuando los ST son inferiores al 10 % (Forster *et al.*, 2008). En este caso, el sistema contaba con una digestión húmeda (Figura 37) y un % de humedad alto (Figura 38).

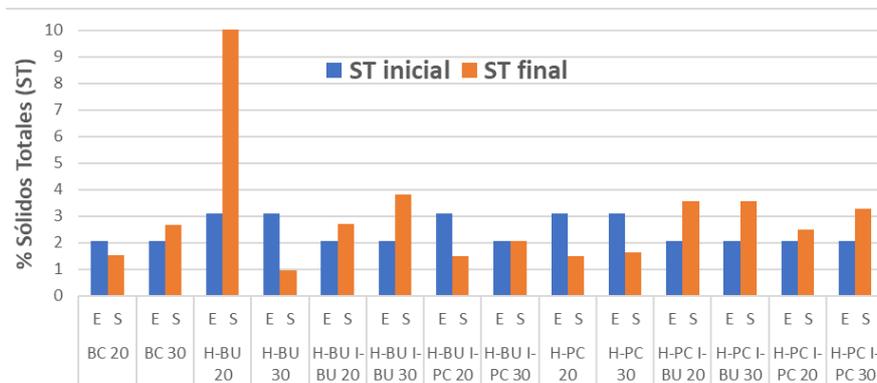


Figura 37. Sólidos totales de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.

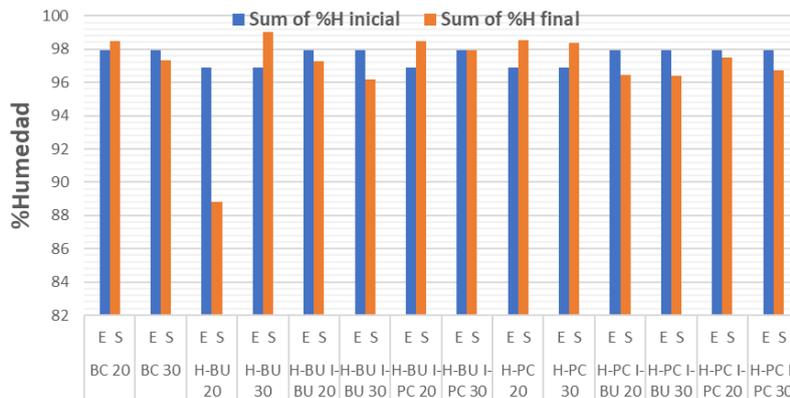


Figura 38. %Humedad de los ensayos al inicio y final de las pruebas de PBM.

6.2.4. Variables de respuesta

Como variables de respuesta del sistema se tiene el %DQO consumido, el %SV removidos y el %N-NH₄⁺ consumido (Tabla 12). El parámetro de ST (así como SV y DQO) es proporcional a la cantidad de materia orgánica degradable en una muestra (Zhang *et al.* 2018).

Tabla 12. Eficiencia de remoción de los ensayos del PBM. Variables de respuesta. H: Humectación, I: Impregnación, BU: Baño ultrasónico, PC: Parrilla de calentamiento.

Soporte	Malla	%DQO_{cons}	%SV_{re} m	%N- NH₄⁺ cons
H-BU, I-BU	30	76.61	-24.78	7.14
H-PC, I-PC		86.25	-6.19	-6.98
H-BU, I-PC		69.52	36.73	1.79
H-PC, I-BU		61.90	-20.80	3.21
H-BU		91.73	73.45	14.29
H-PC		84.51	50.88	22.58
BC		88.25	13.72	-7.74
H-BU, I-BU	20	93.07	14.16	-8.93
H-PC, I-PC		68.99	19.91	1.97
H-BU, I-PC		79.83	57.96	0.46
H-PC, I-BU		83.97	-18.14	-4.76
H-BU		85.04	58.41	7.65
H-PC		43.49	57.08	5.99
BC		89.86	57.52	1.19

En general, la remoción de DQO varía entre 40-90%, esto quiere decir que la materia orgánica fue degradada en mayor o menor medida para ser convertida en biogás.

La remoción de SV en algunos casos fue baja o incluso llegó a aumentar, esto fue porque los microorganismos no llegaron a degradar la materia orgánica en la duración del ensayo. Este puede deberse a que el tiempo de residencia hidráulica (TRH) con el que se opera es muy corto como para permitir un tiempo apropiado de contacto entre la materia orgánica y los microorganismos que la consumen (Castro *et al.*, 2019) o debido a una carga orgánica baja por lo que los microorganismos utilizaron la materia orgánica básicamente para el metabolismo basal y, en consecuencia, no se reprodujeron (Forster, 2005).

Por último, los compuestos que contienen N orgánico se mineralizan a N-NH₄⁺ en el digestor. Una parte del N-NH₄⁺ es utilizada por los microorganismos para su crecimiento, y otra parte puede generar bicarbonato de amonio (Teglia *et al.*, 2011). Es por esto que el N-NH₄⁺ se consumió en menor medida y en algunos casos aumentó un poco, pero esto no inhibió la actividad metanogénica.

6.2.5. Análisis de varianza (ANOVA)

En un inicio se determinó si los datos siguen una distribución normal y homocedasticidad (los valores residuales vs los valores ajustados) mediante la gráfica de probabilidad normal (Figura 39) y las gráficas de residuos (Figura 40).

La prueba de probabilidad normal tiene las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula (H₀): Los datos siguen una distribución normal

Hipótesis alterna (H_a): Los datos no siguen una distribución normal

Teniendo un nivel de significancia (α) de 0.05.

En la Figura 39 tenemos un valor de p de 0.339 que es mayor a α , por lo que se acepta la hipótesis nula y se concluye que los datos siguen una distribución normal.

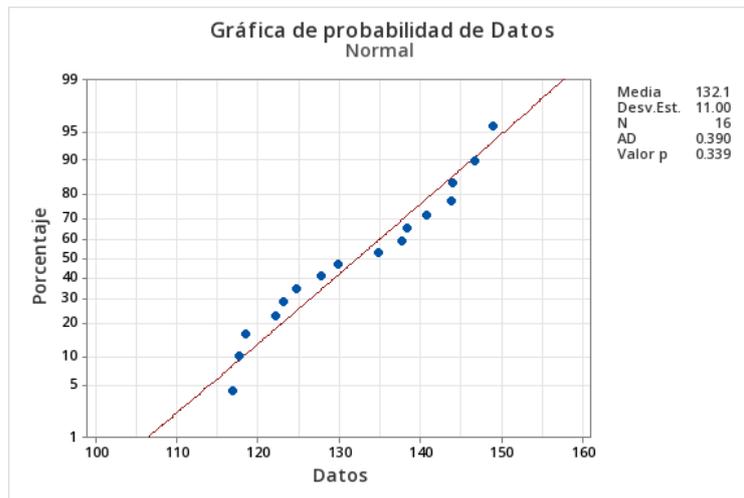


Figura 39. Gráfica de probabilidad normal para producción de metano.

La Figura 40 muestra a través de la gráfica de probabilidad normal que los residuos parecen ajustarse a la línea recta, en el histograma se sigue una distribución normal, la homocedasticidad (los valores ajustados vs los residuos) presenta una varianza constante y en el gráfico de residuales ordenados no se observa algún patrón en la autocorrelación.

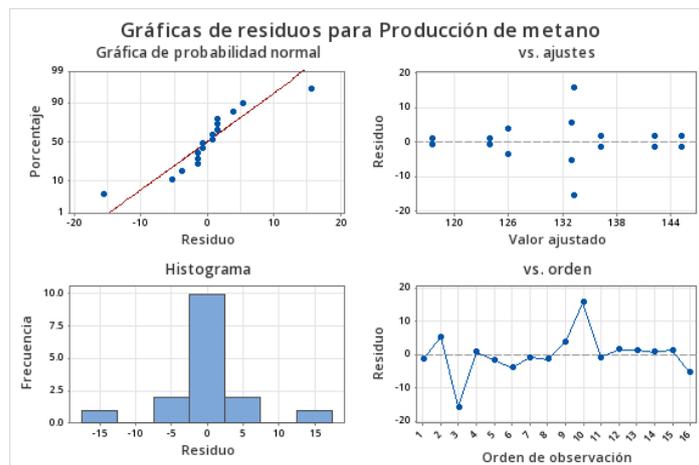


Figura 40. Gráficas de residuos para producción de metano.

Una vez asegurado que los datos siguen una distribución normal se realizó el análisis ANOVA.

Las hipótesis de interés para los 3 factores y sus interacciones son:

H_0 : efecto A/B/C/AxB/AxC/BxC/AxBxC no afecta significativamente la producción de metano

H_a : efecto A/B/C/AxB/AxC/BxC/AxBxC sí afecta significativamente la producción de metano

Siendo

A: Tamaño de partícula

B: Humectación

C: Impregnación

En la Tabla 13, con un nivel de significancia (α) de 0.05, observamos que el valor P (en todos los factores e interacciones) es mayor que α , por lo tanto, se aceptan las hipótesis nulas, es decir, los factores e interacciones no tienen un efecto significativo en la producción de metano.

Tabla 13. Análisis de Varianza ANOVA: Modelo factorial con tres factores.

Fuente	G L	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	1221.24	174.463	2.35	0.127
Lineal	3	761.86	253.954	3.42	0.073
Tamaño de partícula	1	358.16	358.156	4.82	0.059
Humectación	1	326.71	326.706	4.40	0.069
Impregnación	1	77.00	77.001	1.04	0.338
Interacciones de 2 términos	3	445.50	148.501	2.00	0.193
Tamaño de partícula*Humectación	1	86.96	86.956	1.17	0.311

Tamaño de partícula*Impregnación	1	0.39	0.391	0.01	0.944
Humectación*Impregnación	1	358.16	358.156	4.82	0.059
Interacciones de 3 términos	1	13.88	13.876	0.19	0.677
Tamaño de partícula*Humectación*Impregnación	1	13.88	13.876	0.19	0.677
Error	8	594.43	74.303		
Total	15	1815.66			

S=8.6199 R²=67.26% R²(ajustado)=38.61%

A partir de la Figura 41 podemos corroborar que ningún factor mejora la producción de metano significativamente. Sin embargo, se observa que el tamaño de partícula y la interacción humectación-impregnación son los factores que más llegaron a afectar en el rendimiento del proceso.

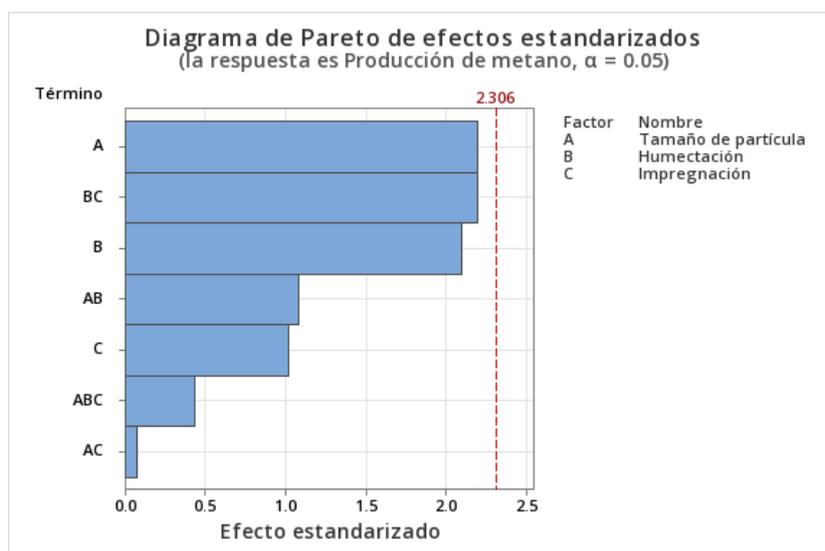


Figura 41. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.

Debido a que el ANOVA no determina los niveles o tratamientos que tienen mayor influencia sobre la variable de respuesta, la Figura 42 presenta el gráfico de efectos principales, en el cual se observa que se obtuvo una mayor producción de metano con el tamaño de partícula de 0.60 mm

(malla 30). Mientras que para la humectación e impregnación el BU fue más eficiente que la PC.

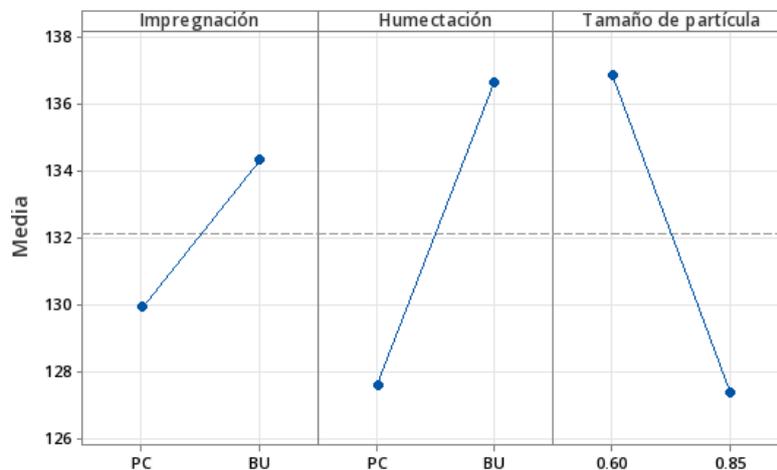


Figura 42. Efectos principales para la producción de metano (medias de datos).

Por otro lado, se analiza mediante el método de “comparaciones múltiples de Dunnett con un control” si alguno de los niveles o tratamientos es significativamente diferente de sus respectivos controles.

Tabla 14. Análisis de varianza para producción de metano, malla 30.

Fuent	GL	SC	MC	Valor	Valor
e		Ajust.	Ajust.	F	p
Factor	6	7483.2	1247.20	99.18	0.000
		2			
Error	7	88.03	12.58		
Total	13	7571.25			

S=3.54623 R²=98.84% R²(ajustado)=97.84% Desv.Est. agrupada

= 3.54623

Tabla 15. Análisis de varianza para producción de metano, malla 20.

Fuente	GL	SC	MC	Valor	Valor
e		Ajust.	Ajust.	F	p
Factor	6	5681.8	946.97	10.30	0.004
Error	7	643.8	91.97		
Total	13	6325.6			

S=9.58995 R²=89.82% R²(ajustado)=81.10% Desv.Est. agrupada

= 9.58995

Los intervalos de confianza simultáneos de Dunnett se muestran de forma gráfica en las Figuras 43 (malla 30) y 44 (malla 30), en donde se tiene un nivel de confianza del 95%. El tipo de intervalo de confianza es bilateral y la desviación estándar agrupada se usó para calcular los intervalos.

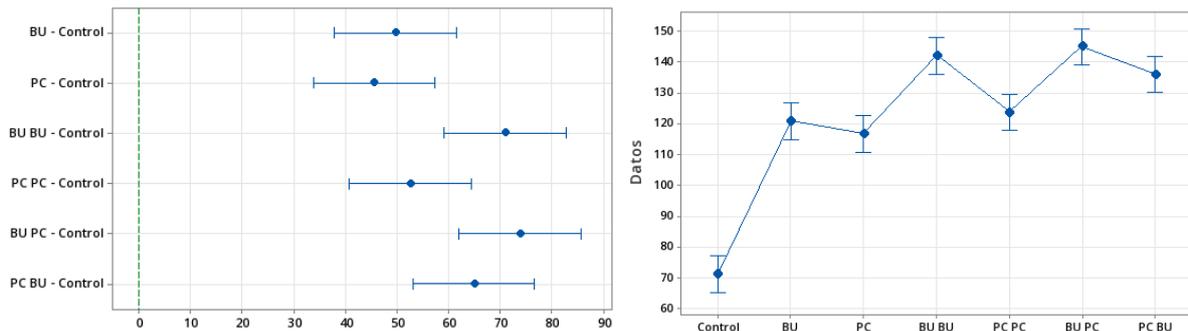


Figura 43. Intervalos de confianza simultáneos de 95% de Dunnett para malla 30.

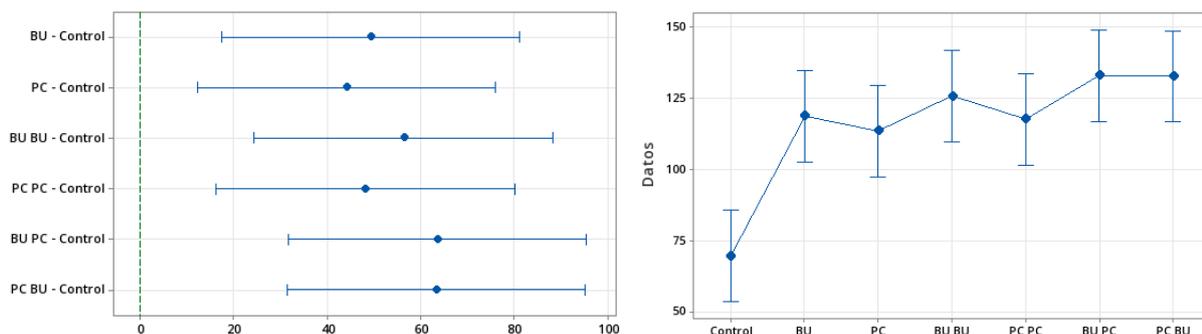


Figura 44. Intervalos de confianza simultáneos de 95% de Dunnett para malla 20.

Si un intervalo no contiene cero, la media correspondiente es significativamente diferente de la media de control. En las figuras anteriores se puede observar que ningún tratamiento contienen al cero, esto quiere decir que los tratamientos tienen una producción de metano significativamente diferente con respecto al control. Por otra parte, no existen intervalos que contengan números negativos, esto significa que ningún tratamiento tiene una producción menor que el control. Con respecto al tamaño de partícula, se tienen intervalos de confianza con una mayor desviación estándar en la malla 20.

6.3. Caracterización de biocarbones

Se realizó la técnica de MEB al biocarbón H-BU, I-PC 30; al H-BU 30 y al BC 30. A partir de la MEB se obtuvieron las Figuras 45 y 47, donde en el aumento A se puede observar el BC de forma granular. Por otro lado, en este experimento no fue posible determinar los tamaños de poro.

En la Figura 45 se tiene al control de BC 30, el cual se puede observar que presenta una estructura porosa debido al proceso de pirólisis, lo que concuerda con los autores Gong *et al.* (2011), Feng *et al.* (2023) y Mumme *et al.* (2014).

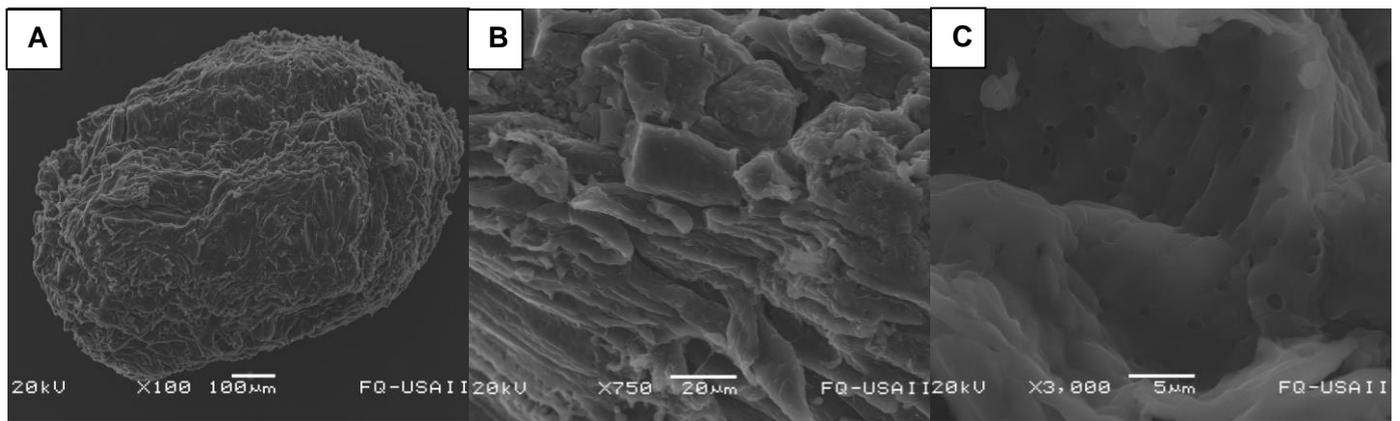


Figura 45. MEB de la superficie del control de biocarbón malla 30 a aumentos x100 (A), x750 (B) y x3000 (C).

En la Figura 46 se tiene al BC humectado con BU, este biocarbón fue preparado a partir de la activación de la biomasa con el BU y la pirólisis y como se puede observar ha desarrollado una estructura de poros más amplios y profundos, lo que concuerda con los autores González *et al.* (2011), Hübner y Mumme (2015) y Salman *et al.* (2017).

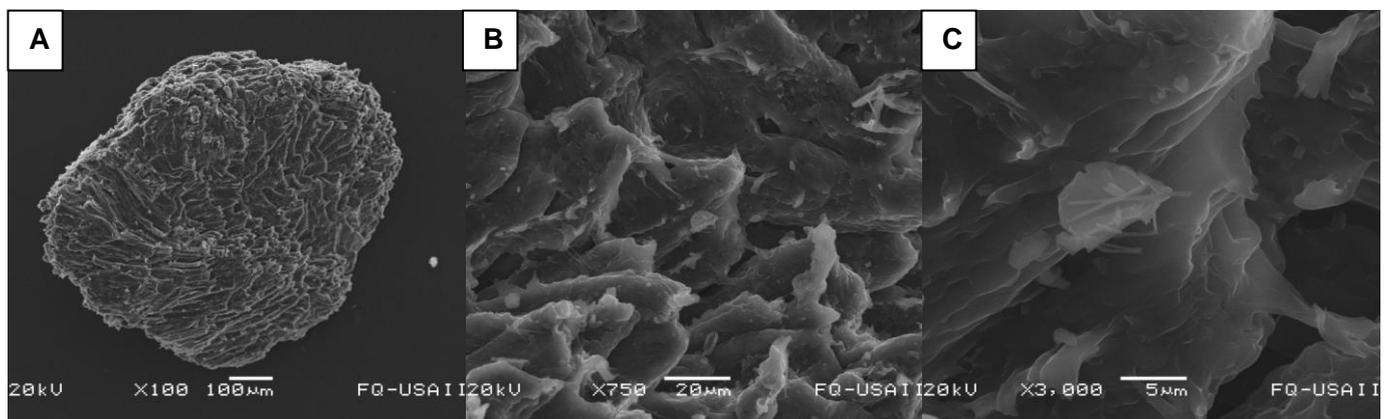


Figura 46. MEB de la superficie del control de biocarbón malla 30 humectado con BU a aumentos x100 (A), x750(B) y x3000 (C).

En la Figura 47 se tiene al BC humectado con BU e impregnado con PC. A este BC poroso se le impregnó con partículas finas de Fe_3O_4 , las cuales se pueden observar en todos los aumentos, de esta forma nos aseguramos de que el BC efectivamente funciona como soporte de la Fe_3O_4 y, posteriormente, de la biopelícula formada.

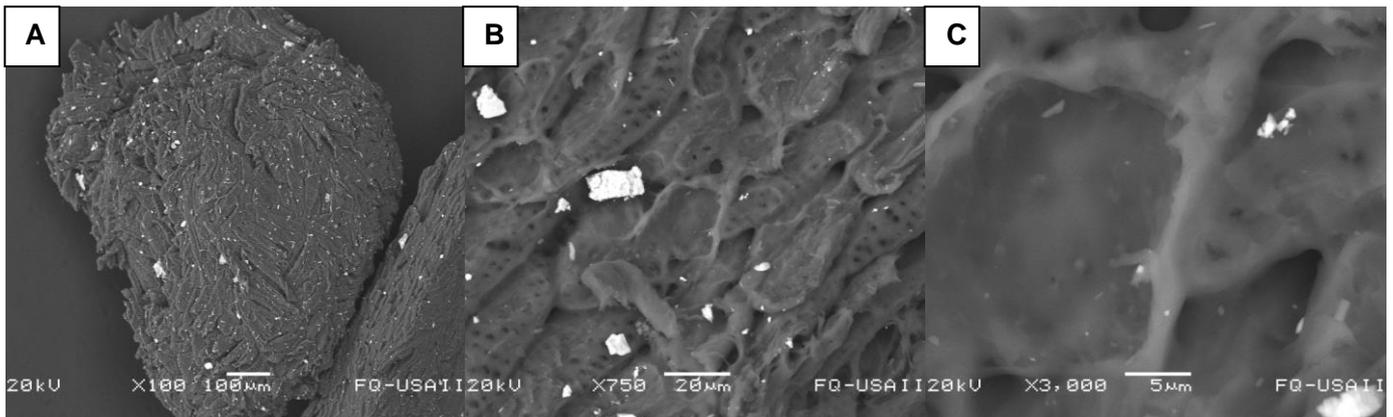


Figura 47. MEB de la superficie del control de biocarbón malla 30 humectado con BU e impregnado con PC a aumentos x100 (A), x750(B) y x3000 (C).

7. CONCLUSIONES

Este trabajo tuvo como objetivo la elaboración de soportes granulares a partir de cáscara de coco con pretratamiento alcalino e impregnados con magnetita para evaluar su desempeño en el proceso de digestión anaerobia. Con base en la investigación realizada es posible llegar a las siguientes conclusiones:

Se aprovechó la cáscara de coco como residuo orgánico lignocelulósico mediante la elaboración de biocarbón como soporte granular para

promover la DIET en el proceso de DA y evaluar su rendimiento en el proceso de la DA.

Algunos biocarbones tienen efectos negativos en el rendimiento de la DA que puede deberse a sus propiedades físicas y químicas específicas, así como a la dosis correcta, tamaño de partícula y materia prima. Sin embargo, este trabajo se enfocó en evaluar la influencia del tamaño de partícula y los diferentes métodos de humectación e impregnación de los MC, biocarbón y magnetita, para promover un mejor rendimiento en la producción de metano.

En este sentido, mediante las pruebas de PBM se llegó a la conclusión de que la humectación y la impregnación tuvieron un efecto positivo en la producción de metano, con un incremento desde 64% hasta 104%, respecto a los controles de biocarbón. Esto también se comprobó con el análisis de varianza, en donde se concluye que los biocarbones tratados con respecto a los controles de biocarbón tienen una producción de metano significativamente mayor.

Los soportes con mejores resultados fueron el H-BU, I-PC 30 y H-BU, I-BU 30 con una producción de metano de 145.1 mL NCH_4 /gDQO y 143.7 mL NCH_4 /gDQO, respectivamente. Estos valores no tienen una diferencia significativa entre ellos ya que estos dos soportes comparten que, a menor tamaño de partícula, mayor es la producción de metano y que la H-BU es más efectiva debido a que este método homogeneiza el calentamiento de la mezcla de reacción y acelera la deslignificación, lo que ahorra tiempo y energía. Por otro lado, la impregnación mejoró aún más a las partículas

de coco humectadas, por lo tanto, se comprueba que un pretratamiento alcalino con la adición de dos MC aumenta aún más la producción de metano.

Por último, mediante la EDS se logró observar la topografía y morfología superficial de los biocarbones, en los cuales se pueden identificar la efectividad de la humectación e impregnación, los cuales son procesos atribuibles a la mejora en el rendimiento de la DA. También se comprueba que el BC granular es usado como soporte de las partículas de Fe_3O_4 .

8. REFERENCIAS

- Abdallah, M., Hassaneen, F., Faisal, Y., Mansour, M., Ibrahim, A., Abo-Elfadl, S., . . . Allam, N. (2019). Effect of Ni-Ferrite and Ni-Co-Ferrite nanostructures on biogas production from anaerobic digestion. *Fuel*, 254.
- Aboudi, K., Fernández-Güelfo, L., Álvarez-Gallego, C., & Romero-García, L. (2021). 11 - Biogas, biohydrogen, and polyhydroxyalkanoates production from organic waste in the circular economy context. *Sustainable Biofuels*, 305-343.
- Altamirano, M., Anaya, O., & Durán, A. (2021). Biostimulation of food waste anaerobic digestion supplemented with granular activated carbon, biochar and magnetite: A comparative analysis. *Biomass and Bioenergy*, 149, 1-11.

- Angelidaki, I., & Ahring, B. (1993). Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 38, 560–564.
- Angelidaki, I., & Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3, 117–129.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A., . . . van Lier, J. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*, 59(5), 927-934.
- Antal, M., & Grønli, M. (2003). The Art, Science, and Technology of Charcoal Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 42(8), 1619–1640.
- APHA: American Public Health Association. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (21th ed.). Washington D.C., EEUU: American Water Works Association and Water Pollution Control Federation.
- Avelino, F., Silva, K., de Souza Filho, M., Mazzetto, S., & Lomonaco, D. (2018). Microwave-assisted organosolv extraction of coconut shell lignin by Brønsted and Lewis acids catalysts. *Journal of Cleaner Production*, 189, 785-796.
- Azizi, A., Hosseini Koupaie, E., Hafez, H., & Elbeshbishy, E. (2019). Improving single- and two-stage anaerobic digestion of source

- separated organics by hydrothermal pretreatment. *Biochemical Engineering Journal*, 148, 77-86.
- Badía, J., & Ibáñez, J. (1996). *Electrones retrodispersados y Absorbidos*. (Rueda, Ed.) España: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Bare, S., & Somorjai, G. (2003). Surface Chemistry. *Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition)*, 373-421.
- Baroud, G., Falk, R., Crookshank, M., Sponagel, S., & Sponagel, T. (2004). Experimental and theoretical investigation of directional permeability of human vertebral cancellous bone for cement infiltration. *Journal of Biomechanics*, 37(2), 189-196.
- Bolado, S., Toquer, C., Martín, J., Travaini, R., & García, P. (2016). Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 201, 182-190.
- Broom, D. (2007). The accuracy of hydrogen sorption measurements on potential storage materials. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(18), 4871-4888.
- Cai, Y., Shen, S., Meng, X., Zheng, Z., Usman, M., Hu, K., & Zhao, X. (2023). Syntrophic consortium with the aid of coconut shell-derived biochar enhances methane recovery from ammonia-inhibited anaerobic digestion. *Science of the Total Environment*, 872.

Cambridge Dictionary. (2023). *homoscedasticity*. Cambridge University Press & Assessment.

Cárdenas-Cleves, L., Parra-Orobio, B., Torres-Lozada, P., & Vásquez-Franco, C. (2016). Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. *Investigacion, Optimizacion y Nuevos procesos en ingenieria*, 19(1).

Castro, J., Cecilio, Y., Gonzales, T., & Sumarriva, L. (2019). Remoción De Materia Orgánica En Reactor Anaerobio De Manto De Lodos De Flujo Ascendente En El Tratamiento De Aguas Residuales Del Camal De Huancavelica. *Rev Soc Quím Perú*, 85(3).

Cha, J., Park, S., Jung, S., Ryu, C., Jeon, J., Shin, M., & Park, Y. (2016). Production and utilization of biochar: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 40, 1-15.

Chen, S., Rotaru, A., Liu, F., Philips, J., Woodard, T., Nevin, K., & Lovley, D. (2014). Carbon cloth stimulates direct interspecies electron transfer in syntrophic co-cultures. *Bioresource Technology*, 173, 82-86.

Chen, Y., Cheng, J., & Creamer, K. (2008). Inhibition Of Anaerobic Digestion Process: A Review. *BioresourceTechnology*, 99(10), 4044-4064.

Cheng, J., Hu, S., Geng, Z., & Zhu, M. (2022). Effect of structural changes of lignin during the microwave-assisted alkaline/ethanol pretreatment on cotton stalk for an effective enzymatic hydrolysis. *Energy*, 254.

- Chernicharo, C. (1997). Principios do tratamento biológico de águas residuárias. *Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 5.
- Chiappero, M., Norouzi, O., Hu, M., Demichelis, F., Berruti, F., Di Maria, F., . . . Fiore, S. (2020). Review of biochar role as additive in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 131.
- Chisti, Y., & Moo-Young, M. (2003). Bioreactors. *Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition)*, 247-271.
- Chung, D. (2017). 1 - Carbon Fibers, Nanofibers, and Nanotubes. *Carbon Composites (Second Edition)*, 1-87.
- Collison, M., Collison, L., Sakrabani, R., Tofield, B., & Wallage, Z. (2009). Biochar and carbon sequestration: a regional perspective a report prepared for east of England development agency (EEDA). *Project funded under the single programme – DA1 Carbon Reduction*.
- Costa, K., & Leigh, J. (2014). Metabolic versatility in methanogens. *Current Opinion in Biotechnology*, 29(1), 70-75.
- Covarrubias, I., Quijano, G., Aizpuru, A., Sánchez, J., Rodríguez, J., & Arriaga, S. (2020). Reduced graphene oxide decorated with magnetite nanoparticles enhance biomethane enrichment. *Journal of Hazardous Materials*, 397.
- Dang, Y., Sun, D., Woodard, T., Wang, L., Nevin, K., & Holmes, D. (2017). Stimulation of the anaerobic digestion of the dry organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) with carbon-based conductive materials. *Bioresource Technology*, 238, 30-38.

- Davila, I., Remon, J., Gullon, P., Labidi, J., & Budarin, V. (2019). Production and characterization of lignin and cellulose fractions obtained from pretreated vine shoots by microwave assisted alkali treatment. *Bioresource Technology*, 289.
- de Bok, F., Plugge, C., & Stams, A. (2004). Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia. *Water Research*, 38(6), 1368-1375.
- Devlin, D., Esteves, S., Dinsdale, R., & Guwy, A. (2011). The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. *Bioresource Technology*, 102(5), 4076-4082.
- DiLallo, R., & Albertson, O. (1961). Volatile Acids by Direct Titration. *Water Pollution Control Federation*, 33(4), 356-365.
- Doble, M., & Kumar, A. (2005). CHAPTER 10 - Degradation of Dyes. *Biotreatment of Industrial Effluents*, 111-122.
- Dong, X., & Stams, A. (1995). Evidence for H₂ and formate formation during syntrophic butyrate and propionate degradation. *Anaerobe*(1), 35-39.
- Escalante , A., Pérez , G., Hidalgo, C., López, J., Campo, J., Valtierra, E., & Etchevers, J. (2016). Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *Terra Latinoamericana*, 34(3).
- Fagbohunge, M., Herbert, B., Hurst, L., Ibeto, C., Li, H., Usmani, S., & Semple, K. (2017). The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion. *Waste Management*, 61, 236-249.

- Fan, J., Santomauro, F., Budarin, V., Whiffin, F., Abeln, F., Chantasuban, T., . . . Chuck, C. (2018). The additive free microwave hydrolysis of lignocellulosic biomass for fermentation to high value products. *Journal of Cleaner Production*, 198, 776-784.
- Feng, L., Gao, Z., Hu, T., He, S., Liu, Y., Jiang, J., . . . Wei, L. (2023). A review of application of combined biochar and iron-based materials in anaerobic digestion for enhancing biogas productivity: Mechanisms, approaches and performance. *Environmental Research*, 234.
- Forster-Carneiro, T. (2005). *Digestión anaerobia termofílica seca de residuos sólidos urbanos: estudio de las variables del proceso en el arranque y estabilización del bio-reactor*. España: Universidad de Cádiz.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., & Romero, L. (2008). Anaerobic digestion of municipal solid wastes: Dry thermophilic performance. *Bioresource Technology*, 99(17), 8180–8184.
- Foston, M., & Ragauskas, A. (2012). Biomass characterization: Recent progress in understanding biomass recalcitrance. *Industrial Biotechnology*, 8(4), 191 - 208.
- Gheorghe, C., Marculescu, C., Badea, A., Dinca, C., & Apostol, T. (2009). Effect of pyrolysis conditions on bio-char production from biomass. *Renewable Energy Sources*, 239-241.

- Gong, W., Liang, H., Li, W., & Wang, Z. (2011). Selection and evaluation of biofilm carrier in anaerobic digestion treatment of cattle manure. *Energy*, 36(5), 3572-3578.
- González, J., Sánchez, M., & Gómez, X. (2018). Enhancing anaerobic digestion: the effect of carbon conductive materials. *Journal of Carbon Research*, 4(59).
- González, M., Cea, M., Sangaletti, N., González, A., Toro, C., Diez, M., . . . Navia, R. (2013). Biochar Derived from Agricultural and Forestry Residual Biomass: Characterization and Potential Application for Enzymes Immobilization. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 7, 724-732.
- González, S. M., Soto, N. O., Rutiaga, O. M., Medrano, H., Rutiaga, J. G., & López, J. (2011). Optimización del proceso de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol cuatro variedades (Pinto villa, Pinto saltillo, Pinto mestizo y Flor de mayo). *Revista mexicana de ingeniería química*, 10(1), 17-28. From https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000100003
- Gunam, I., Setiyo, Y., Antara, N., Wijaya, I., Arnata, I., & Putra, I. (2020). Enhanced Delignification of Corn Straw with Alkaline Pretreatment at Mild Temperature. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13, 1022–1029.
- Guwy, A. (2004). Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 3(2), 131-139.

- He, P., Zhang, H., Duan, H., Shao, L., & Lü, F. (2020). Continuity of biochar-associated biofilm in anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*, 390.
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., . . . Carballa, M. (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science & Technology*, 2515-2522.
- Hsu, T., Ladisch, M., & Tsao, G. (1980). Alcohol from Cellulose. *Chemical Technology*, 10, 315-319.
- Hübner, T., & Mumme, J. (2015). Integration of pyrolysis and anaerobic digestion - use of aqueous liquor from digestate pyrolysis for biogas production. *Bioresource Technology*, 183, 86-92.
- Ilmer, P., Schwarzenauer, T., Malin, C., Wagner, A., Miller, L., & Gstraunthaler, G. (2009). Process parameters within a 750,000 litre anaerobic digester during a year of disturbed fermenter performance. *Waste Management*, 29(6), 1838-1843.
- Irawan, D., Muslimah, N., & Arifin, Z. (2018). Lignin Isolation From Coconut Coir With Variation Of Time And Concentration Of Naoh In The Process Of Alkaline Delignification. *Rasayan Journal of Chemistry*, 11(4), 1458-1460.
- Ito, T., Yoshiguchi, K., Ariesyady, H., & Okabe, S. (2012). Identification and quantification of key microbial trophic groups of methanogenic glucose degradation in an anaerobic digester sludge. *Bioresource Technology*, 123.

- Jingura, R., & Kamusoko, R. (2017). Methods for determination of biomethane potential of feedstocks: a review. *Biofuel Research Journal*, 14, 573-586.
- Johnravindar, D., Patria, R., Lee, J., Zhang, L., Tong, Y., Wang, C., . . . Kaur, G. (2021). Syntrophic interactions in anaerobic digestion: how biochar properties affect them? *ENVIRONMENTAL CHEMISTRY, POLLUTION & WASTE MANAGEMENT*, 7(1).
- Junelles, A., Janati-Idrissi, R., Petitdemange, H., & Gay, R. (1998). Iron effect on acetone-butanol fermentation. *Current Microbiology*, 17, 299-303.
- Júnior, A., Koyama, M., de Araújo Júnior, M., & Zaiat, M. (2016). Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. *Renewable Energy*, 89, 245-252.
- Kalyuzhnyi, S., & Davlyatshina, M. (1997). Batch anaerobic digestion of glucose and its mathematical modeling. I. Kinetic investigations. *Bioresource Technology*, 59(1).
- Kamusoko, R., Jingura, R., Chikwambi, Z., & Parawira, W. (2022). Chapter 25 - Biogas: microbiological research to enhance efficiency and regulation. *Handbook of Biofuels*, 485-497.
- Kato, S., Hashimoto, K., & Watanabe, K. (2012). Methanogenesis facilitated by electric syntrophy via (semi)conductive iron-oxide minerals. *Environmental microbiology*, 14(7), 1646-1654.

- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management*, *31*(8), 1737-1744.
- Koch, C., & Harnisch, F. (2016). What Is the Essence of Microbial Electroactivity? *ChemElectroChem*, *3*(9), 1282-1295.
- Kryvoruchko, V., Machmuller, A., Bodiroza, V., Amon, B., & Amon, T. (2009). Anaerobic digestion of by-products of sugar beet and starch potato processing. *Biomass and Bioenergy*, *33*(4), 620-627.
- Lee, J., Lee, S., & Park, H. (2016). Enrichment of specific electro-active microorganisms and enhancement of methane production by adding granular activated carbon in anaerobic reactors. *Bioresource Technology*, *205*, 205-212.
- Lee, M., Nagendranatha Reddy, C., & Min, B. (2019). In situ integration of microbial electrochemical systems into anaerobic digestion to improve methane fermentation at different substrate concentrations. *International Journal of Hydrogen Energy*, *44*(4), 2380-2389.
- Lehmann, J. (2007). Bio-energy in the black. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *5*, 381-387.
- Lehmann, J., & Joseph, S. (2015). *Biochar for environmental management: science, technology and implementation*. New York: Routledge.
- Li, D., Song, L., Fang, H., Li, P., Teng, Y., Li, Y.-Y., . . . Niu, Q. (2019). Accelerated bio-methane production rate in thermophilic digestion of cardboard with appropriate biochar: Dose-response kinetic assays,

- hybrid synergistic mechanism, and microbial networks analysis. *Bioresource Technology*, 290.
- Li, H., Ai, Z., Yang, L., Zhang, W., Yang, Z., Peng, H., & Leng, L. (2023). Machine learning assisted predicting and engineering specific surface area and total pore volume of biochar. *Bioresource Technology*, 369.
- Li, L., Tong, Z., Fang, C., Chu, J., & Yu, H. (2015). Response of anaerobic granular sludge to single-wall carbon nanotube exposure. *Water Research*, 70, 1-8.
- Li, P., Wang, Q., He, X., Yu, R., He, C., Shen, D., & Jiao, Y. (2022). Investigation on the effect of different additives on anaerobic co-digestion of corn straw and sewage sludge: Comparison of biochar, Fe₃O₄, and magnetic biochar. *Bioresource Technology*, 345.
- Li, S., Harris, S., Anandhi, A., & Chen, G. (2019). Predicting biochar properties and functions based on feed-stock and pyrolysis temperature: A review and data syntheses. *Journal of Cleaner Production*, 215, 890–902.
- Lin, Y., Liu, H. Y., Yang, C. P., Wu, X., Du, C., Jiang, L., & Zhong, Y. (2020). Gama-graphyne as photogenerated electrons transfer layer enhances photocatalytic performance of silver phosphate. *Applied Catalysis B: Environmental*, 264.
- Liu, F., Rotaru, A., Shrestha, P., Malvankar, N., Nevin, K., & Lovley, D. (2012). Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon. *Energy & Environmental Science*, 5(10), 8982-8989.

- Liu, Y., Li, X., Wu, S., Tan, Z., & Yang, C. (2021). Enhancing anaerobic digestion process with addition of conductive materials. *Chemosphere*, 278.
- Liu, Z., & Kleiner, Y. (2013). State of the art review of inspection technologies for condition assessment of water pipes. *Measurement*, 46(1), 1-15.
- Lovley, D. (2017). Electrically conductive pili: Biological function and potential applications in electronics. *Current Opinion in Electrochemistry*, 4(1), 190-198.
- Lovley, D. (2017). Syntrophy Goes Electric: Direct Interspecies Electron Transfer. *Annual Review of Microbiology*, 71, 643-664.
- Lü, F., Hua, Z., Shao, L., & He, P. (2018). Loop bioenergy production and carbon sequestration of polymeric waste by integrating biochemical and thermochemical conversion processes: A conceptual framework and recent advances. *Renewable Energy*, 124, 202-211.
- Luo, C., Lu, F., Shao, L., & He, P. (2015). Application of eco-compatible biochar in anaerobic digestion to relieve acid stress and promote the selective colonization of functional microbes. *Water Research*, 68, 710-718.
- Lv, W., Schanbacher, F., & Yu, Z. (2010). Putting microbes to work in sequence: recent advances in temperature-phased anaerobic digestion processes. *Bioresource technology*, 101(24).
- Mata, J., Dosta, J., Romero, M., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between

- 2010 and 2013. *Renewable and sustainable energy reviews*, 36, 412-427.
- McCarty, P. (1964). Anaerobic Waste Treatment Fundamentals—Part Two. *Environmental Requirements and Control. Public Works*, 95, 123-126.
- McGregor, D., & Shultis, J. (2023). Physical Sensors: Radiation Sensors. *Encyclopedia of Sensors and Biosensors*, 1, 141-160.
- MEB. Electrones secundario. CDMX, México, Azcapotzalco. De https://mebcbi.azc.uam.mx/?page_id=211
- Melo, O., López, L., & Melo, S. (2019). *Diseño de Experimentos: Métodos y Aplicaciones*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias.
- Meng, L., Yan-Ling, C., Nan, F., Dong, L., Benu, A., & Xiao Dong, C. (2014). Isolation and Characterization of Corncob Cellulose Fibers using Microwave-Assisted Chemical Treatments. *International Journal of Food Engineering*, 10(3), 427–436.
- Mertz, W. (1981). The essential trace elements. *Science*, 213, 1332-1338.
- Michael, J., Brewer, L., & Kotula, P. (2011). Chapter 25 - Electron Beam-Based Methods for Bioforensic Investigations. *Microbial Forensics (Second Edition)*, 421-447, 727-729.
- Mobley, R. (2001). 43 - Vibration Fundamentals. *Plant Engineer's Handbook*, 721, 723-755.

- Monteil, F., & Paquet, L. (2015). Solvent-free catalyst-free microwave-assisted acylation of lignin. *Industrial Crops and Products*, 65, 446-453.
- Montiel, V., & Razo, E. (2018). Continuous hydrogen and methane production from Agave tequilana bagasse hydrolysate by sequential process to maximize energy recovery efficiency. *Bioresource Technology*, 249, 334-341.
- Müller, N., Worm, P., Schink, B., Stams, A., & Plugge, C. (2010). Syntrophic butyrate and propionate oxidation processes: from genomes to reaction mechanisms. *Environmental microbiology*, 2(4), 489-499.
- Mumme, J., Srocke, F., Heeg, K., & Werner, M. (2014). Use of biochars in anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 164, 189-197.
- Nanda, S., Dalai, K., Berruti, F., & Kozinski, J. (2016). Biochar as an exceptional bioresource for energy, agronomy, carbon sequestration, activated carbon and specialty materials. *Waste and Biomass Valorization*, 7, 201-235.
- Nandi, S., Ahmed, S., & Khurpade, P. (2023). Chapter 5 - Anaerobic digestion of fruit and vegetable waste for biogas and other biofuels. *Fruit and Vegetable Waste Utilization and Sustainability*, 101-119.
- NMX-AA-036-SCFI-2001. (2001). *Norma Mexicana: ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE ACIDEZ Y ALCALINIDAD EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS*. México: Secretaría de Economía. Obtenido de

<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166776/NMX-AA-036-SCFI-2001.pdf>

Ouyang, S., Xu, S., Song, N., & Jiao, S. (2013). Coconut shell-based carbon adsorbents for ventilation air methane enrichment. *Fuel*, 420-425.

Peralta, M. (2015). Chapter 12 - Nanotechnology in Microbial Food Safety. *Nanotechnology Applications in Food*, 245-265.

Pérez, A., & Torres, P. (2008). Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería y Competitividad*, 10(2), 41-52.

Qin, Y., Wang, H., Li, X., Cheng, J., & Wu, W. (2017). Improving methane yield from organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) with magnetic rice-straw biochar. *Bioresource Technology*, 245, 1058-1066.

Qin, Y., Yin, X., Xu, X., Yan, X., Bi, F., & Wu, W. (2020). Specific surface area and electron donating capacity determine biochar's role in methane production during anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 303.

Rajagopal, R., Massé, D., & Singh, G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, 143, 632-641.

Ranadheera, C., Prasanna, P., Vidanarachchi, J., McConchie, R., Naumovski, N., & Mellor, D. (2017). Chapter 12 - Nanotechnology in Microbial Food Safety. *Nanotechnology Applications in Food*, 245-265.

- Raposo, F., Fernández, V., De La Rubia, M., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., & De Wilde, V. (2011). Biochemical methane Potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Chemical Technology and Biotechnology*, 86(8), 1088–1098.
- Rolando, M., & Roque, M. (2018). *Adsorption and Diffusion in Nanoporous Materials* (2da ed ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Rotaru, A., Shrestha, P., Liu, F., Shrestha, M., Shrestha, D., Embree, M., . . . Loveley, D. (2014). A new model for electron flow during anaerobic digestion: Direct interspecies electron transfer to Methanosaeta for the reduction of carbon dioxide to methane. *Energy and Environmental Science*, 7(1), 408-415.
- Salman, C., Schwede, S., Thorin, E., & Yan, J. (2017). Enhancing biomethane production by integrating pyrolysis and anaerobic digestion processes. *Applied Energy*, 204, 1074-1083.
- Saravanan, R., Sushil, A., Hyungseok, N., & Sourov, K. (2018). Effect of bio-char on methane generation from glucose and aqueous phase of algae liquefaction using mixed anaerobic cultures. *Biomass and Bioenergy*, 108, 479-486.
- Sasaki, K., Morita, M., Hirano, S., Sasaki, D., Ohmura, N., & Igarashi, Y. (2010). Efficient degradation of rice straw in the reactors packed by carbon fiber textiles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 1579–1586.

- Satya, A., Arrahmah, F., & Setiadi, T. (2022). Chapter 15 - Anaerobic biofilm reactor: fundamentals and applications. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 407-450.
- Shan, D., Deng, S., Zhao, T., Wang, B., Huang, J., Yu, G., . . . Wiesner, M. (2016). Preparation of ultrafine magnetic biochar and activated carbon for pharmaceutical adsorption and subsequent degradation by ball milling. *Journal of Hazardous Materials*, 305, 156–163.
- Shao, L., Zhang, Q., You, T., Zhang, X., & Xu, F. (2018). Microwave-assisted efficient depolymerization of alkaline lignin in methanol/formic acid media. *Bioresource Technology*, 264, 238-243.
- Sieber, J., McInerney, M., & Gunsalus, R. (2012). Genomic Insights into Syntrophy: The Paradigm for Anaerobic Metabolic Cooperation. *Annual Review of Microbiology*, 66, 429-452.
- Siegert, I., & Banks, C. (2005). The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, 40(11), 3412-3418.
- Silverstein, R., Ye, C., Ratna, R., Sharma–Shivappa, D., & Osborne, J. (2007). A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource Technology*, 98, 3000–3011.
- Skomurski, F., Kerisit, S., & Rosso, K. (2010). Structure, charge distribution, and electron hopping dynamics in magnetite (Fe₃O₄) (1 0 0) surfaces from first principles. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(15), 4234-4248.

- Speece, R. (1996). Anaerobic biotechnology for industrial wastewater. *Environmental Science and Technology*, 17(9), 416-427.
- Speece, R. (2007). *Anaerobic biotechnology and odor/corrosion control for municipalities and industries*. Nashville Ten: Archae press.
- Stams, A., & Plugge, C. (2009). Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 7, 568–577.
- Stewart, P. (2003). Diffusion in Biofilms. *Journal of Bacteriology*, 185(5).
- Szacilowski, K., Chmura, A., & Chmura, Z. (2005). Interplay between iron complexes, nitric oxide and sulfur ligands: Structure, (photo)reactivity and biological importance. *Coordination Chemistry Reviews*, 249(21-22), 2408-2436.
- Taherdanak, M., & Zilouei, H. (2014). Improving biogas production from wheat plant using alkaline pretreatment. *Fuel*, 115, 714-719.
- Taherzadeh, M., & Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9), 1621-1651.
- Tan, X., Liu, S., Liu, Y., Gu, Y., Zeng, G., Hu, X., . . . Jiang, L. (2017). Biochar as potential sustainable precursors for activated carbon production: Multiple applications in environmental protection and energy storage. *Bioresource Technology*, 227, 359-372.
- Teglia, C., Tremier, A., & Martel, J. (2011). Characterization of solid digestates: Part 1, review of existing indicators to assess solid

- digestates agricultural use. *Waste and Biomass Valorization*, 2(2), 43–58.
- Tsita, K., Kiartzis, S., Ntavos, N., & Pilavachi, P. (2020). Next generation biofuels derived from thermal and chemical conversion of the Greek transport sector. *Thermal Science and Engineering Progress*, 17.
- Van Haandel, A., & Lettinga, C. (1994). Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. *John Wiley & Sons*.
- Venkatesh, P., Volker, S., Heller, W., McGaughey, J., Miller, S., & Hester, R. (2010). Concentrated Acid Conversion of Pine Softwood to Sugars. Part I: Use of a Twin-Screw Reactor for Hydrolysis Pretreatment. *Chemical Engineering Communications*, 194, 85–102.
- Wang, W., Ma, W., Han, H., Li, H., & Yuan, M. (2011). Thermophilic anaerobic digestion of Lurgi coal gasification wastewater in a UASB reactor. *Bioresource Technology*, 102(3), 2441-2447.
- Wu, L., Zhang, S., Jing, W., & Ding, X. (2020). Phosphorus retention using iron (II/III) modified biochar in saline-alkaline soils: Adsorption, column and field tests. *Environmental Pollution*, 261.
- Xing, L., Yang, S., Yin, Q., Xie, S., Strong, P., & Wu, G. (2017). Effects of carbon source on methanogenic activities and pathways incorporating metagenomic analysis of microbial community. *Bioresource Technology*, 244, 982-988.
- Xu, J., Zhuang, L., Yang, G., Yuan, Y., & Zhou, S. (2013). Extracellular Quinones Affecting Methane Production and Methanogenic Community in Paddy Soil. *Microbial Ecology*, 66, 950–960.

- Xu, S., He, C., Luo, L., Lü, F., He, P., & Cui, L. (2015). Comparing activated carbon of different particle sizes on enhancing methane generation in upflow anaerobic digester. *Bioresource Technology*, *196*, 606-612.
- Yin, Q., He, K., Liu, A., & Wu, G. (2017). Enhanced system performance by dosing ferroferric oxide during the anaerobic treatment of tryptone-based high-strength wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *101*, 3929–3939.
- Zhang, J., Zhao, W., Zhang, H., Wang, Z., Fan, C., & Zang, L. (2018). Recent achievements in enhancing anaerobic digestion with carbon-based functional materials. *Bioresource Technology*, *266*, 555-567.
- Zhang, L., Yuan, Y., Zhang, Y., & Liu, Y. (2022). Exploring key factors in anaerobic syntrophic interactions: Biomass activity, microbial community, and morphology. *Bioresource Technology*, *363*.
- Zhang, M., & Wang, Y. (2021). Impact of biochar supported nano zero-valent iron on anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste: Methane production, performance stability and microbial community structure. *Bioresource Technology*, *340*.
- Zhang, M., Jianhua, L., & Yuncai, W. (2019). Impact of biochar-supported zerovalent iron nanocomposite on the anaerobic digestion of sewage sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*, 10292–10305.
- Zhao, Z., Li, Y., Yu, Q., & Zhang, Y. (2018). Ferroferric oxide triggered possible direct interspecies electron transfer between

- Syntrophomonas and Methanosaeta to enhance waste activated sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 250, 79–85.
- Zhao-Kai, W., Qing-Hua, L., & Zhi-Man, Y. (2023). Nano magnetite-loaded biochar boosted methanogenesis through shifting microbial community composition and modulating electron transfer. *Science of The Total Environment*, 861.
- Zhu, J., Wan, C., & Li, Y. (2010). Enhanced solid-state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment. *Bioresource Technology*, 101(19), 7523-7528.
- Zhuang, H., Zhu, H., Shan, S., Zhang, L., Fang, C., & Shi, Y. (2018). Potential enhancement of direct interspecies electron transfer for anaerobic degradation of coal gasification wastewater using up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) with nitrogen doped sewage sludge carbon assisted. *Bioresource Technology*, 270, 230-235.
- Zivorad, L. (2004). *Design of Experiments in Chemical Engineering*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Zupancic, G., & Grilic, V. (2012). *Anaerobic treatment and biogas production from organic waste, Management of organic waste*. Croacia: Sunil Khanal. InTech.

9. ANEXO

9.1. Técnicas analíticas

A continuación, se detallan las fórmulas utilizadas en las técnicas analíticas.

a. Demanda química de oxígeno (DQO)

Determinación espectrofotométrica, a través de longitud de onda.

A partir de la curva de calibración:

$$DQO \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{Absorbancia - b}{m}$$

Donde:

b = ordenada al origen

m = pendiente

Los resultados se multiplican por el factor de dilución. Se usó la dilución con menor desviación estándar.

b. Nitrógeno amoniacal

Determinación volumétrica, a través del indicador de color.

$$N - NH_4^+ \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A * N * 14}{Vol.de muestra (L)}$$

Donde:

N= Normalidad de la solución de H₂SO₄

A = Vol. de solución de H₂SO₄ gastado en titular la muestra (L)

c. Sólidos totales, volátiles y fijos y humedad

Determinación gravimétrica, basado en la medición de la muestra.

Para determinar el porcentaje de sólidos totales (ST):

$$\% \text{ Sólidos totales } \left(\frac{g ST}{L} \right) = \frac{PE - PC}{PI} * 100$$

Para determinar el porcentaje de sólidos volátiles (SV):

$$\% \text{ Sólidos volátiles } \left(\frac{g \text{ SV}}{L} \right) = \frac{PE - PM}{PI} * 100$$

Para determinar el porcentaje de sólidos fijos (SF):

$$\% \text{ Sólidos fijos } \left(\frac{g \text{ SF}}{L} \right) = \frac{PM - PC}{PI} * 100$$

Para determinar el porcentaje de humedad:

$$\% \text{ Humedad } \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{PC + PI - PE}{PI} * 100$$

Donde:

PC = peso constante de las cápsulas

PI = peso del inóculo

PE = peso de las cápsulas y el inóculo después de colocarlas en la estufa a 105°C

PM = peso de la cápsula y el inóculo después de colocarlas en la mufla a 550°C

d. pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGV's)

Determinación volumétrica, a través del potenciómetro.

Se midió el PH inicial de la muestra con agitación constante

Para determinar la alcalinidad total:

$$\text{Alcalinidad total (mg/L)} = \frac{A \times N}{\text{volumen muestra}} (50)(1000)$$

Donde:

A = volumen de ácido titulado hasta un pH de 4.3 en mL

N = normalidad de la disolución del ácido

50 es el factor para convertir eq/L a mg CaCO₃/L, y

1 000 es el factor para convertir mL a L.

Para determinar los AGV's, primero se calculó los ácidos volátiles alcalinos:

$$\text{Ácido volátil alcalino} = \frac{A * 2,500}{\text{volumen muestra}}$$

Donde:

A = volumen de hidróxido titulado entre pH 4 y 7 en mL

Por lo tanto,

Caso 1. > 180 mg/L de ácido volátil alcalino:

$$AGV's = \text{ácido volátil alcalino} * 1.50$$

Caso 2. < 180 mg/L de ácido volátil alcalino:

$$AGV's = \text{ácido volátil alcalino} * 1.00$$

9.2. Variables de Respuesta

En la Tabla 16 se detallan las ecuaciones utilizadas para calcular el porcentaje de remoción de DQO, SV y N-NH₄⁺.

Tabla 16. Variables de respuesta.

Variable de Respuesta	Unidades	Ecuación
Eficiencia de remoción de DQO	% DQO _{cons}	$E_{DQO} = \frac{g_{DQO\ alim} - g_{DQO\ cons}}{g_{DQO\ alim}} * 100$
Eficiencia de remoción de SV	% SV _{rem}	$E_{SV} = \frac{g_{SV\ alim} - g_{SV\ rem}}{g_{SV\ alim}} * 100$
Eficiencia de remoción de N-NH ₄ ⁺	% N-NH ₄ ⁺ _{cons}	$E_{N-NH4+} = \frac{g_{N-NH4+\ alim} - g_{N-NH4+\ cons}}{g_{N-NH4+\ alim}} * 100$