DOI: 10.24275/uama.6734.13351

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Azcapotzalco
División Ciencias Básicas e Ingeniería
Maestría en Ciencias e Ingeniería Ambientales

Tesis

"Mejoramiento de la producción de metano a partir de aguas residuales de rastro usando un pretratamiento térmico y nanopartículas de óxido de hierro"

Presenta:

I. en N. Gerdany Zúñiga Verdugo

Asesoras:

Asesora
Dra. Mónica Liliana Salazar Peláez

Co-Asesora
Dra. Mirella Gutiérrez Arzaluz

Ciudad de México, 10 de octubre 2025

A mi abuelita Irma,

por todo el amor que me ha dado,

cuya ternura y fortaleza

me acompañan más allá de la vida

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología (CONAHCYT), por el apoyo otorgado a través de la beca que hizo posible la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), mi *casa abierta al tiempo*, por ser un espacio de formación, reflexión y debate, donde cada día me permitió crecer y forjar ideales que llevaré siempre en mi vida profesional y personal.

A mis asesoras Dra. Mónica Salazar y Dra. Mirella Gutiérrez, por su amistad, por guiarme con paciencia y dedicación en esta travesía académica y por compartirme sus enseñanzas.

A mi comité tutorial, Dr. Miguel Torres y Dr. Guillermo Benitez cuyo valioso aporte interdisciplinar enriqueció profundamente esta investigación y me permitió ampliar la visión de mi trabajo.

A los Dr. Ulises Rojas y Dra. Violeta Mugica, por sus comentarios y observaciones que fortalecieron el desarrollo de este proyecto.

A mi familia, por su apoyo incondicional, por su cariño en cada etapa de mi vida y por ser siempre mi mayor motor para seguir adelante.

A Héctor, por alentarme constantemente, por motivarme a nunca rendirme y por su amor, que me sostiene y me inspira.

A mis amigos, tanto aquellos con quienes compartí este camino en la maestría como los que me acompañan desde Ensenada, por sus palabras de ánimo, su compañía y sus buenos deseos, que siempre me impulsan a dar lo mejor de mí.

Resumen

En la actualidad, los problemas ambientales representan un tema prioritario, siendo el manejo del agua uno de los más relevantes. Otro aspecto fundamental es la mejora en la producción de energía, lo cual puede lograrse a través del tratamiento de aguas residuales mediante digestión anaerobia (DA), ya que el metano generado en este proceso puede ser aprovechado como fuente de energía, al mismo tiempo que se realiza el tratamiento del agua.

Por ello, el objetivo de esta tesis fue mejorar la producción de metano mediante el uso de pretratamientos, en especial del pretratamiento térmico (PT) y la adición de nanopartículas (NP) metálicas, evaluando tanto su efecto individual como su posible sinergia. El desarrollo experimental se estructuró en tres etapas:

En la primera etapa, se sintetizaron y caracterizaron las NP de óxido de hierro con y sin soporte, utilizando alúmina comercial como material de soporte. Se emplearon dos metodologías tipo sol-gel con el propósito de identificar la que ofreciera una mejor eficiencia energética. Los nanomateriales obtenidos se caracterizaron mediante técnicas como microscopía electrónica de barrido y de transmisión, espectroscopia de infrarrojo, difracción de rayos X y análisis de reducción de temperatura programada. En la segunda etapa, se llevó a cabo la recolección y caracterización del agua residual proveniente de un rastro, determinando sus parámetros fisicoquímicos. Por último, en la tercera etapa, se llevaron a cabo dos ensayos de pruebas de biopotencial de metano y se realizó un modelado matemático de las cinéticas de producción de metano junto con un balance energético.

En el *primer ensayo* se evaluó la influencia del pretratamiento térmico (100°C, 1 atm, 30 min), la adición de NP de óxido de hierro con y sin soporte (120 mg/L), así como la combinación de ambos pretratamientos. Los resultados indicaron que el PT no favoreció la producción de metano, debido a la formación de compuestos recalcitrantes durante el proceso. Sin embargo, las NP soportadas incrementaron la producción de metano en un 27.78%.

En el *segundo ensayo* se analizó la influencia de las NP con y sin soporte, modificando sus concentraciones (30, 60 y 120 mg/L). Las diferentes concentraciones mostraron rendimientos semejantes en la producción de metano. Por razones de sostenibilidad y eficiencia en el uso de materiales, se consideró como condición óptima el uso de NP soportadas a una concentración de 30 mg/L, que mostró un mejoramiento del 32.95%.

Los resultados experimentales obtenidos evidenciaron que la adición de NP mejoró el proceso de DA, no solo al aumentar la producción de metano, sino también al favorecer parámetros clave como la actividad metanogénica específica, la remoción de materia

orgánica y la generación de condiciones reductoras que son ideales para este tipo de sistemas.

Se consideró como condición ideal el uso de NP soportadas en alúmina a una concentración de 30 mg/L, ya que permite alcanzar resultados comparables utilizando una menor cantidad de material metálico.

Los resultados experimentales se ajustaron satisfactoriamente a los modelos de primer orden modificado y de Gompertz, obteniéndose curvas sigmoidales correspondientes a cinéticas de primer orden.

Finalmente, el balance energético mostró que la ganancia obtenida por la producción mejorada de metano representó apenas el 10% de la energía necesaria para cubrir la demanda requerida en la síntesis de las nanopartículas.

ABSTRACT

Currently, environmental issues are a top priority, with water management being one of the most critical concerns. Another key aspect is improving energy production, which can be achieved through wastewater treatment using anaerobic digestion (AD), as the methane generated in this process can be utilized as an energy source while simultaneously treating the wastewater.

Therefore, the objective of this thesis was to enhance methane production by employing pretreatment methods, specifically thermal pretreatment (TP) and the addition of metal nanoparticles (NPs), and to evaluate both their individual effects and their potential synergistic effect. The experimental work was structured in three stages:

In the first stage, iron oxide NPs, with and without a support, were synthesized and characterized, using commercial alumina as the support material. Two sol-gel methods were employed to determine which one offered better energy efficiency. The resulting nanomaterials were characterized using various techniques, including scanning and transmission electron microscopy, infrared spectroscopy, X-ray diffraction, and temperature-programmed reduction analysis.

In the second stage, wastewater was collected and characterized from a slaughterhouse, allowing for the determination of the parameters necessary for its application in methane potential tests.

Finally, in the third stage, biomethane potential tests were performed, and the modified first and Gompartz models were applied to the cumulative methane production curves, along with an energy balance analysis.

In the *first experiment*, the influence of thermal pretreatment (100°C, 1 atm, 30 min), the addition of supported and unsupported iron oxide NPs (120 mg/L), and the combination of both pretreatments were evaluated. The results indicated that TP did not enhance methane production due to the formation of recalcitrant compounds during the process. However, the supported NPs increased methane production by 27.78%.

In the *second experiment*, the influence of supported and unsupported NPs was analyzed, varying their concentrations (30, 60, and 120 mg/L). The different concentrations showed similar methane production yields. For reasons of sustainability and efficient material use, the optimal condition was considered to be the use of supported nanoparticles at a concentration of 30 mg/L, which showed a 32.95% improvement.

The experimental results demonstrated that the addition of nanoparticles improved the anaerobic digestion (AD) process, not only by increasing methane production, but also

by enhancing key parameters such as specific methanogenic activity, organic matter removal, and the creation of reducing conditions, which are ideal for this type of system. The use of alumina-supported nanoparticles at a concentration of 30 mg/L was considered the ideal condition, as it allows achieving comparable results while using a smaller amount of metal material.

The experimental results were satisfactorily fitted to the modified first-order and Gompertz models, yielding sigmoid curves characteristic of first-order kinetics.

Finally, the energy balance revealed that the energy gain from enhanced methane production accounted for only 10% of the energy required for synthesizing the nanoparticles.

Índice General

Capítulo 1: Introducción 1

Capítulo 2: Marco teórico 3

2.1 Agua residual de rastro 3
2.2 Digestión anaerobia 4
2.2.1 Etapas de la digestión anaerobia 5
2.2.2 Inhibición en la digestión anaerobia 6
2.2.3 Parámetros operacionales que afectan la digestión anaerobia 8
2.3 Pruebas de Biopotencial de Metano 10
2.3.1 Cinética de la producción de metano 11
2.4 Pretratamientos para mejorar producción de metano 12
2.4.1 Pretratamientos químicos 13
2.4.2 Pretratamientos físicos 13
2.4.3 Pretratamientos biológicos 14
2.4.4 Incorporación de nanopartículas para mejorar la producción de metano 14
2.5 Métodos de síntesis de nanopartículas óxido de hierro 18
2.5.1 Método sol-gel 18
2.5.2 Impregnación húmeda incipiente 19

Capítulo 3: Estado del Arte 20

Capítulo 4: Justificación 24

Capítulo 5: Pregunta de investigación, hipótesis y objetivos 25

5.1. Pregunta de investigación 25
5.2. Hipótesis 25
5.3. Objetivo general 25
5.4. Objetivos particulares 25

Capítulo 6: Metodología 27

6.1 Etapa 1. Síntesis y caracterización de NP con y sin soporte 28
6.1.1 Síntesis de NP con y sin soporte 28
6.1.2 Técnicas de caracterización 29
6.2 Etapa 2. Recolección y caracterización de agua residual de rastro 32
6.3 Etapa 3. Pruebas biopotencial de metano 33
6.3.1 Primer ensayo 33
6.3.2 Segundo ensayo 34

Capítulo 7: Resultados y discusión 37

7.1 Caracterización de NP óxido de hierro 37
7.1.1 Análisis estructural 37
7.1.2 Análisis fisicoquímico 42
7.1.3 Análisis morfológico y composición química 43
7.2 Caracterización del agua residual de rastro 45
7.3 Primer ensayo de las pruebas de biopotencial de metano 47
7.3.1 Caracterización inicial 47
7.3.2 Evaluación de la digestión anaerobia 48
7.3.3 Cinéticas de producción de metano acumulado 50
7.3.4 Modelado matemático 53
7.3.5 Actividad metanogénica específica y producción acumulada de metano 55
7.4 Segundo ensayo de las pruebas de biopotencial de metano 58
7.4.1 Caracterización inicial 58
7.4.2 Evaluación de la digestión anaerobia 59
7.4.3 Cinéticas de producción de metano acumulado 61
7.4.4 Modelado matemático 62
7.4.5 Actividad metanogénica específica y producción acumulada de metano 64
7.5 Análisis de eficiencia energética 66

Capítulo 8: Conclusiones y Recomendaciones 68

Referencias 70

Anexos 86

Índice de Tablas

Tabla 1. Valores típicos de aguas residuales de rastro. 3
Tabla 2. Contenido aproximado de metano en biogás según el tipo de sustrato. 6
Tabla 3. Eficiencia teórica máxima de metano. 9
Tabla 4. Estudios de pretratamiento térmico (PT) y nanopartículas (NP) de óxido de hierro. 21
Tabla 5. Estudios combinados de pretratamiento térmico (PT) y nanopartículas (NP) de óxido de hierro. 22
Tabla 6. Estudios con diferentes metodologías de nanopartículas (NP) de óxido de hierro y soportadas. 23
Tabla 7. Diseño de experimentos del primer ensayo de pruebas BPM con variación en el pretratamiento térmico y las nanopartículas de óxido de hierro. 33
Tabla 8. Diseño de experimentos en el segundo ensayo de pruebas BMP con variación en la concentración de nanopartículas de óxido de hierro. 35
Tabla 9. Fases identificadas en las NP de óxido de hierro sintetizadas por la metodología de Jang et al. (2022). 40
Tabla 10. Caracterización del agua residual de rastro cruda (ARC) y pretratada térmicamente (ARP). 45
Tabla 11. Caracterización de las botellas al inicio del experimento 47
Tabla 12. Caracterización de las botellas al final del experimento. 48
Tabla 13. Parámetros obtenidos en el ajuste de los modelos matemáticos a partir de los datos experimentales del primer ensayo. 54
Tabla 14. Porcentajes de conversión de metano con respecto a la producción teórica. 56
Tabla 15. Caracterización de las botellas al inicio del experimento. 58
Tabla 16. Caracterización de las botellas al final del experimento. 59
Tabla 17. Parámetros obtenidos en el ajuste de los modelos matemáticos a partir de los datos experimentales del segundo ensayo. 63
Tabla 18. Porcentajes de conversión de metano con respecto a la producción teórica. 64
Tabla 19. Balance energético de los dos ensayos realizados. 66

Índice de Figuras

Figura 1. *Etapas de la digestión anaerobia* 4
Figura 2. Esquema general las pruebas BPM 10
Figura 3. Comparación del tamaño de nanomateriales con diferentes objetos cotidianos. 14
Figura 4. Nanomateriales usados en la DA. 15
Figura 5. Esquema de la DIET en la relación sintrófica de las bacterias de la etapa acetogénesis y metanogénesis 16
Figura 6. Esquema general del método de sol-gel 19
Figura 7. Diagrama de flujo de experimentos con/sin pretratamiento térmico (PT) y nanopartículas (NP) de óxido de hierro (soportadas o no soportadas). 27
Figura 8. Esquema de la ley de Bragg. 30
Figura 9. Interacción del haz de electrones con la muestra. 31
Figura 10. Autoclave utilizada para el pretratamiento térmico del ARR. 34
Figura 11. Montaje empleado para el desplazamiento del biogás producido en las pruebas BPM mediante una solución salina. 35
Figura 12. Espectro de NP de óxido de hierro con diferentes temperaturas de calcinación obtenido mediante FTIR (metodología Jang et al. (2022)). 37
Figura 13. Espectro de NP de óxido de hierro con soporte obtenido mediante FTIR (metodología Jang et al. (2022)). 38
Figura 14. Espectro de NP de óxido de hierro con y sin soporte obtenido mediante FTIR (metodología Brahmbhatt et al. (2023)). 39
Figura 15. Difractogramas de NP de óxido de hierro con y sin soporte (metodología Jang et al. (2022)). 40
Figura 16. Difractogramas de NP de óxido de hierro con y sin soporte (metodología Brahmbhatt et al. (2023)). 41
Figura 17. Perfil de TPR de NP de óxido de hierro (metodología Brahmbhatt et al. (2023)). 42
Figura 18. Micrografías de SEM de las NP de óxido de hierro: a) sin soporte, b) con soporte. 43
Figura 19. *Análisis EDS: a) Espectro y c) composición elemental de las NP sin soporte, b) Espectro y d) composición elemental de las NP con soporte.* 43
Figura 20. Mapeo elemental mediante EDS de las NP de óxido de hierro: a) sin soporte, b) con soporte. 44
Figura 21. Micrografías de TEM de las NP de óxido de hierro: a)escala de 50 nm, b) escala de 20 nm. 44
Figura 22. ARR a) antes del pretratamiento térmico, b) después del pretratamiento térmico. 47
Figura 23. Cinéticas de producción acumulada de metano vs tiempo (día) para los 6 experimentos (puntos), a) modelo cinético de primer orden modificado (línea continua) y b) modelo de Gompertz (línea continua). 51
Figura 24. Cinéticas de producción acumulada de metano vs tiempo (día) para los 7 experimentos (puntos), a) modelo cinético de primer orden modificado (línea continua) y b) modelo de Gompertz 61

Glosario de abreviaturas

AGV: Ácidos grasos volátiles

AGCL: Ácidos grasos de cadena larga

AME: Actividad metanogénica específica

ARC: Agua residual cruda

ARR: Aguas residuales de rastro

ARP: Agua residual pretratada térmicamente

BPM: Pruebas de biopotencial de metano

DA: Digestión anaerobia

DIET: Transferencia directa de electrones

DQO: Demanda química del oxígeno

DQO_s: Demanda química del oxígeno soluble

FTIR: Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier

NP: Nanopartículas

NPS: Nanopartículas soportadas

PT: Pretratamiento térmico

SEM: Microscopía electrónica de barrido

SF: Sólidos fijos

ST: Sólidos totales

SV: Sólidos volátiles

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

TPR: Reducción programada de temperatura

XRD: Difracción de rayos X

Parámetros de modelos matemáticos

A: Rendimiento específico máximo de metano (mL CH_4/g SV)

k_1: Tasa de velocidad de la proporción del materia potencialmente biodegradable (d^{-1})

k_2: Tasa de velocidad de la proporción del materia potencialmente menos biodegradable (d^{-1})

P: Fracción de la materia potencialmente biodegradable

k_G: Coeficiente de tasa de crecimiento en torno al punto de inflexión (d^{-1})

T_i: Tiempo de inflexión (d)

Capítulo 1

Introducción

De acuerdo con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, México ocupa el sexto lugar a nivel mundial en producción y comercialización de carne de res y ternera (USDA, 2023). La producción anual supera los 2 millones de toneladas, lo que convierte a esta actividad en una de las más relevantes del sector agropecuario en el país.

Aunque no hay información actualizada en el país, en 2006, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) y la Dirección General de Promoción de la Salud desarrollaron un cuestionario que se aplicó en todos los rastros ubicados en localidades con más de 50,000 habitantes. Los resultados de este cuestionario revelaron que los establecimientos estudiados consumieron aproximadamente 23 millones de litros de agua diariamente. Además, se observó que el 62.8% de las aguas residuales generadas por los rastros en México no recibían tratamiento alguno antes de ser vertidas, lo que representaba anualmente 5.8 miles de toneladas de DBO_5 (demanda bioquímica de oxígeno a 5 días), equivalentes al 6.8% de lo producido por toda la industria alimenticia nacional (Signorini, 2007)*.

Las aguas residuales de rastro (ARR) están compuestas por grasas, sangre, restos de tejidos y estiércol, provocando un aumento en el contenido de materia orgánica y nutrientes. Adicionalmente, las ARR conllevan a problemas de salud pública debido a que contienen organismos patógenos, así como medicamentos de uso veterinario y desinfectantes usados para la limpieza (Musa & Idrus, 2021).

Por lo mencionado anteriormente, el tratamiento de las ARR es prioritario para evitar los efectos adversos de sus descargas en la salud pública, el ambiente y la disponibilidad de los recursos hídricos (Hernández-Fydrych et al., 2022). Además, una gestión adecuada de estas aguas residuales resulta esencial para garantizar la sostenibilidad de los sistemas hídricos en el largo plazo.

Una de las alternativas que tradicionalmente se ha empleado para el manejo de las ARR es la digestión anaerobia (DA) debido a que puede soportar las altas cargas orgánicas que estas presentan, al mismo tiempo que recupera energía en forma de biogás, cuyo principal componente es el metano (Laiq *et al.,* 2019). En vista de que el metano se puede emplear como fuente de energía eléctrica, es una alternativa al uso de las fuentes fósiles

*Esta carga contaminante equivale a la producida diariamente por una población del tamaño de Xalapa, Veracruz.

(Loganath & Senophiyah-Mary, 2020) y, por tanto, se tiene interés en potenciar su producción.

Algunos ejemplos de tecnologías usadas para este fin son los pretratamientos como, por ejemplo, el térmico (PT); además, del uso de nanopartículas de óxido de hierro (Heikal *et al.,* 2022; Zhang *et al.,* 2020). Se ha reportado que el pretratamiento térmico aumenta la producción de metano hasta 3.6 veces (Rodríguez-Abalde *et al.,* 2011). A su vez, la adición de nanopartículas de óxido de hierro en la DA puede facilitar la transferencia de electrones, promoviendo la actividad de las bacterias metanogénicas (Li *et al.,* 2019). Cabe mencionar que las nanopartículas pueden aglomerarse afectado su actividad, por ello, para evitar este inconveniente se puede hacer uso de soportes con materiales relativamente inertes, por ejemplo, la alúmina o dióxido de titanio (Baruah *et al.,* 2022).

Inicialmente, en este trabajo se planteó evaluar la implementación conjunta del pretratamiento térmico (PT) y la adición de nanopartículas de óxido de hierro (NP), tanto soportadas como no soportadas, en la digestión anaerobia (DA) de aguas residuales de rastro (ARR). El objetivo fue promover la producción de metano y determinar si la combinación de estas tecnologías resultaba favorable o, por el contrario, podría generar efectos adversos sobre el proceso.

A partir del primer ensayo se observó que el PT no incrementó la producción de metano, a diferencia de la adición de NP. En particular, las NP soportadas mostraron un efecto positivo en la generación de biogás, lo que motivó la realización de un segundo ensayo en el que se evaluaron diferentes concentraciones de NP (0, 30, 60 y 120 mg/L) para analizar con mayor detalle su influencia en la DA de ARR.

Con el fin de profundizar en la interpretación de los resultados experimentales, los datos de ambos ensayos se ajustaron a los modelos cinéticos de primer orden modificado y de Gompertz. La aplicación de estos modelos permitió obtener parámetros clave como la velocidad de degradación, el tiempo de retardo y el potencial máximo de producción de metano. Dichos parámetros no solo complementan la evaluación experimental, sino que también aportan una base cuantitativa para comparar la eficiencia de los tratamientos, predecir el desempeño del sistema bajo diferentes condiciones y facilitar la escalabilidad del proceso a nivel industrial. Dado que el metano es un gas de efecto invernadero, también resultó relevante llevar a cabo un balance energético de la DA del ARR con la incorporación de NP, resultando que la ganancia por la producción mejorada de metano fue aproximadamente solo un 10% de la requerida para cubrir la demanda energética en la síntesis de las NP, por lo que es importante continuar investigando las condiciones de producción de las NP para lograr obtener un balance positivo.

Capítulo 2

Marco teórico

2.1 Agua residual de rastro

El agua es un recurso indispensable en un rastro debido a que se utiliza en diferentes pasos del proceso, tanto para el procesamiento sanitario (comenzando con el ingreso del animal vivo a la instalación hasta el último paso donde se procesan los productos cárnicos) como para limpieza del área de trabajo (Aleksic *et al.,* 2020). Este hecho resulta en la producción de una gran cantidad de aguas residuales. Los principales problemas ambientales relacionados con estas aguas son la alta cantidad de sólidos suspendidos, los desechos líquidos y la generación de malos olores (Ahmad *et al.,* 2023).

La cantidad de aguas residuales producidas en rastros y plantas procesadoras de carne ha ido aumentando a lo largo del tiempo y depende del tipo de animal y del proceso de sacrificio (Oliveira *et al.,* 2019). De acuerdo con COFEPRIS (2006), el agua promedio que se llega a utilizar por animal sacrificado es de 1,000 L para animales mayores (bovinos, caballos, etc.), 450 L para porcinos, 100 L para ovinos y caprinos y 20 L para aves. Comúnmente estas ARR se vierten a cuerpos de agua sin un previo tratamiento, lo que genera alteraciones ambientales y de salud pública (Ng *et al.,* 2022).

La composición de las ARR depende de la especie que se procesa. En general, las ARR contienen altas cargas orgánicas que incluyen orina, heces, sangre, grasa y restos de tejidos, alimento sin digerir, patógenos, productos farmacéuticos, desinfectantes y detergentes. Por ello, suelen tener altos niveles de demanda bioquímica del oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos, nitrógeno y fósforo (Ng *et al.,* 2022; Shende & Pophali, 2021; Castillo *et al.,* 2012). Los valores típicos de las ARR se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. *Valores típicos de aguas residuales de rastro (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2017).*

Parámetro	***Concentraciones***
DBO (mg/L)	150-8,500
DQO (mg/L)	500-16,000
COT (mg/L)	50-1,750
NT (mg/L)	50-850
SST (mg/L)	0.1-10,000
pH	4.9-8.1

COT: carbono orgánico total; NT: nitrógeno total; SST: sólidos suspendidos totales.

Las ARR son perjudiciales para el ambiente porque alteran la concentración del oxígeno de los ríos y pueden contaminar las aguas subterráneas. Además, aumentan notablemente la turbidez del agua y favorecen la eutrofización (Romero-Ortiz *et al.,* 2011). Por ello resulta indispensable realizar un tratamiento de las ARR para una descarga segura al alcantarillado municipal o cuerpos de agua receptores (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2017; Loganath & Senophiyah-Mary, 2020). Además, los residuos de este tipo de aguas suelen contener proteínas y lípidos con estructuras químicas complejas, haciendo que sean de difícil degradación (Li *et al.,* 2019).

Las metodologías empleadas para el tratamiento de ARR han sido los procesos biológicos, los fisicoquímicos de coagulación y floculación química y los de clarificación, aunque el más comúnmente usado es la digestión anaerobia (Ng *et al.,* 2022). Este último tiene como ventajas que puede tratar aguas con alta carga orgánica, bajos costos operativos y recuperación de energía en forma de metano (Shende & Pophali, 2021).

2.2 Digestión anaerobia

La DA consiste en un proceso biológico que tiene lugar en ausencia de oxígeno, dando como resultado la conversión de la materia orgánica en metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) y otros compuestos traza (Tsegaye *et al.,* 2023). Este proceso se divide en distintas etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 1).

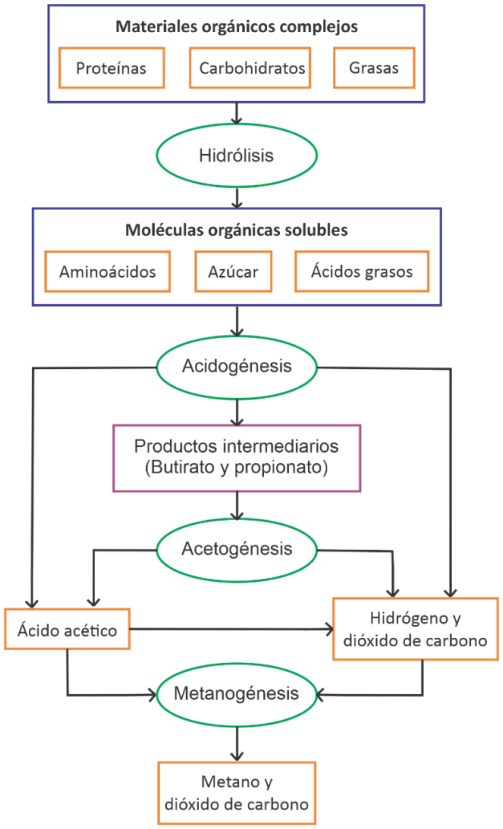


Figura 1. *Etapas de la digestión anaerobia. Adaptado de Ajay et al. (2020).*

2.2.1 Etapas de la digestión anaerobia

- **Hidrólisis**

Es la primera etapa del proceso de DA. Los microorganismos hidrolíticos presentes producen exoenzimas que descomponen las macromoléculas complejas, como proteínas, carbohidratos, lípidos, convirtiéndolas en unidades más simples (monómeros u oligómeros), tales como aminoácidos, sacáridos y ácidos grasos de cadena larga (AGCL), respectivamente (Náthia-Neves *et al.,* 2018; Meegoda *et al.,* 2018). Las exoenzimas hidrolíticas que se encuentran generalmente son la amilasa, celulasa, lipasa, proteasa y pectinasa (Uddin & Wright, 2023).

La hidrólisis también puede limitar la velocidad de la DA si el sustrato utilizado está en forma particulada. Por lo que se pueden emplear pretratamientos térmicos, químicos y/o mecánicos para acelerar esta etapa, ya que ayudan a desintegrar el sustrato y permiten una mayor accesibilidad para los microorganismos anaerobios (Caballero *et al.,* 2020; Náthia-Neves *et al.,* 2018).

- **Acidogénesis**

Los productos de la hidrólisis se siguen descomponiendo en la etapa de acidogénesis por bacterias acidogénicas, los cuales se transforman en ácidos grasos volátiles (AGV) (principalmente acético, propiónico y butírico), alcoholes (etanol), cetonas (acetona), dióxido de carbono e hidrógeno. La acidogénesis es generalmente un proceso muy rápido con lo cual existe el riesgo de acumulación de AGV, provocando inhibición de los microrganismos debido a la acidificación si el pH no se controla adecuadamente (Uddin & Wright, 2023).

- **Acetogénesis**

Las bacterias acetogénicas modifican los productos de la acidogénesis y algunos de los AGCL en acetato, dióxido de carbono e hidrógeno. Las reacciones de esta etapa no son termodinámicamente espontáneas si la presión parcial de H_2 es superior a 10^{-4} atm. Sin embargo, las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas reducen esta presión parcial al consumir el H_2 producido, manteniendo las presiones parciales de H_2 a un nivel conveniente para la acetogénesis. Debido a la relación sintrófica de los microorganismos que producen y consumen H_2, esta etapa se hace factible termodinámicamente (Meegoda *et al.,* 2018; Uddin & Wright, 2023).

- **Metanogénesis**

Esta es la etapa final de la DA, donde se produce metano partiendo de todos los productos intermedios de la acetogénesis. Esta etapa es estrictamente anaeróbica puesto que las bacterias metanogénicas no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno. El acetato y el H_2 son convertidos en CO_2 y CH_4 por dos grupos diferentes de bacterias metanogénicas: las acetoclásticas y las hidrogenotróficas (Uddin & Wright, 2023).

Las metanogénicas acetoclásticas degradan el ácido acético para producir metano, mientras que las metanogénicas hidrogenotróficas utilizan el H_2 y el CO_2 (Náthia-Neves *et al.,* 2018). La metanogénesis acetoclástica representa aproximadamente 2/3 de la producción de metano, mientras que la metanogénsis hidrogenotrófica contribuye con aproximadamente 1/3 restante (Meegoda *et al.,* 2018).

El contenido de metano en el biogás varía según el tipo de sustrato utilizado. Como se observa en la Tabla 2, la producción de metano a partir de estiércol de bovinos se encuentra entre 50 y 70%, mientras que con estiércol de oveja y cabra el biogás contiene aproximadamente 45% de metano. Por otro lado, el tratamiento ARR genera biogás con un 65% de metano, 30% de dióxido de carbono y menores proporciones de otros gases como sulfuro de hidrógeno, nitrógeno e hidrógeno (Loganath & Senophiyah-Mary, 2020).

Tabla 2. *Contenido aproximado de metano en biogás según el tipo de sustrato (Loganath & Senophiyah-Mary, 2020).*

Sustrato	***% metano en biogás***
Estiércol bovino	50-70
Estiércol de oveja	45
Estiercol de cabra	45
ARR	65

Ante la complejidad estructural del proceso de arranque de la digestión anaerobia con ARR (Ng et al., 2022), pueden presentarse diversas inhibiciones metabólicas que limitan la estabilidad del sistema. Entre las más comunes se encuentran las ocasionadas por la acumulación de ácidos grasos de cadena larga (AGCL), los ácidos grasos volátiles (AGV) o el amonio libre, los cuales alteran el equilibrio entre las comunidades microbianas y reducen la eficiencia global del proceso. Estas condiciones, al afectar directamente la actividad metanogénica, se traducen en una disminución en el rendimiento de metano (Wang et al., 2023; Zhan et al., 2018).

2.2.2 Inhibición en la digestión anaerobia

La DA puede convertirse en un proceso biológico limitante cuando la degradación de los sustratos conduce a la acumulación de compuestos intermedios como acetato, propionato y butirato. Este fenómeno ocasiona una inhibición metabólica que, por lo general, se manifiesta en una disminución de la producción de metano y, en consecuencia, en una reducción de la eficiencia global del sistema (Wang et al., 2023; Hou et al., 2018). Asimismo, debido a que el arranque del reactor con ARR involucra sustratos ricos en proteínas (Li et al., 2019), su degradación genera amonio, cuya acumulación puede ser tóxica para las comunidades microbianas y provocar inhibición (Kozlowski et al., 2023). Este efecto se intensifica cuando se alcanzan altas concentraciones de amoníaco libre, que promueven la acumulación de AGV y derivan en un bajo rendimiento metanogénico (Shi et al., 2017).

- **Ácidos grasos de cadena larga y ácidos grasos volátiles**

Los ácidos grasos de cadena larga (AGCL), que incluyen grasas saturadas e insaturadas, son una fracción importante en las aguas residuales oleosas y grasosas. La DA se ha utilizado para tratar residuos grasos, como los productos lácteos, pescados, rastros y desechos vegetales. Sin embargo, estos lípidos son difíciles de degradar mediante métodos convencionales (Chen *et al.,* 2014).

Pese que las aguas residuales ricas en lípidos tienen un alto potencial de producción de metano, los AGCL pueden provocar inhibición (Palatsi *et al.,* 2009). De hecho, la aparición de AGCL ocasiona un período de retraso en la producción de metano a partir de acetato durante la DA, lo que resalta la complejidad de tratar estos residuos de manera efectiva (Chen *et al.,* 2014). Una forma de reducir significativamente la inhibición es incorporar calcio al sistema, ya que se forman sales insolubles como el $CaCO_3$, aunque no previene que la biomasa flote (Palatsi *et al.,* 2009).

El acetato juega un papel crucial al ser un sustrato para que otros AGV sean utilizados por los microorganismos metanogénicos mediante oxidación sintrófica (Lv *et al.,* 2020). En contraste, el propianato es difícil de degradar y puede resultar tóxico para las bacterias. Por tanto, concentraciones elevadas de acetato y propianato pueden interferir con la metanogénesis (Wang *et al.,* 2023).

Además, la acidificación excesiva de los digestores puede llevar a una reducción del pH, lo que provoca fallas en la digestión y un bajo rendimiento en la producción de metano. Por lo tanto, es fundamental mitigar la acumulación de estos compuestos intermedios para optimizar el rendimiento del metano en los reactores anaerobios (Wang *et al.,* 2023).

- **Amonio**

El amonio se presenta en dos formas: como amonio ionizado (NH_4^+) y como amoníaco no iónico o libre (NH_3). La combinación de estas dos formas se denomina nitrógeno amoniaco total (TAN, por sus siglas en inglés). La inhibición por amonio puede ocurrir tanto con concentraciones bajas como altas. En el primer caso (<500 mg/L), se reduce la producción de metano, la biomasa y la actividad metanogénica acetoclástica. Para el segundo caso (>4000 mg/L), se inhiben la actividad microbiana y causan la acumulación de AGV, lo que puede disminuir la estabilidad e incluso provocar el colapso del sistema (Zhan *et al.,* 2018).

Cuando el amonio se encuentra en altas concentraciones, puede inhibir directamente la producción de biogás en la DA. Sin embargo, se ha observado que el amoniaco libre (FA, por sus siglas en inglés) es el principal inhibidor del proceso de DA a pH y temperatura elevados. Esto se debe a que el FA puede atravesar la membrana celular de las bacterias, causando un desequilibrio de protones, aumentado los requerimientos de energía, alterando el pH intracelular e inhibiendo reacciones enzimáticas específicas (Akindele & Sartaj, 2018).

Aunque la DA puede sufrir inhibición debido a la presencia de compuestos tóxicos o a la acumulación de productos intermedios, también es importante considerar que las condiciones operacionales del sistema influyen directamente en el desempeño del sistema. Parámetros como el pH, la temperatura y la relación sustrato e inóculo pueden favorecer o dificultar la actividad microbiana y la eficiencia de la producción de metano (Khadka *et al.,* 2022). Por ello, resulta importante comprender cómo estos factores afectan la DA para diseñar y optimizar sistemas más estables y eficientes. A continuación, se describen los principales parámetros operacionales que influyen en el proceso.

2.2.3 Parámetros operacionales que afectan la digestión anaerobia

La eficiencia de la DA depende de varios factores tales como la temperatura, el pH, el sustrato, el inóculo, así como la relación sustrato-inóculo dentro del reactor anaerobio. Estos parámetros juegan un papel importante en la producción de metano debido a que influyen en gran medida en las condiciones metabólicas para el crecimiento de los microorganismos (Uddin & Wright, 2023; Khadka *et al.,* 2022).

- **Temperatura**

Esta afecta el metabolismo de los microorganismos, influenciando la eficiencia y estabilidad de la DA. Hay tres niveles de temperaturas bajo las cuales se puede operar un reactor anaerobio: psicrófilas (<20°C), mesófilas (20-43°C) y termófilas (50-60°C). Aunque se puede utilizar temperaturas psicrófilas, si se está por debajo de 10°C, la degradación es tres veces más lenta que en temperaturas mesófilas. Bajo condiciones mesófilas y termófilas se tiene un ambiente idóneo para la degradación biológica, resultando en tasas altas de hidrólisis y, como efecto, mejor rendimiento de biogás (Sarker *et al.,* 2019).

De esta manera, las temperaturas que comúnmente se utilizan son mesófilas y termófilas debido a que favorecen una mayor tasa de producción de metano 0.03-0.65 y 0.04-0.31 L/g SV-d, respectivamente (Nie *et al.,* 2021). No obstante, bajo condiciones termófilas, los reactores anaerobios suelen ser más sensibles a la inhibición, por tanto, son más inestables y consumen más energía para alcanzar dichas temperaturas, por lo que se prefiere trabajar a temperaturas mesófilas (Sarker *et al.,* 2019).

- **pH**

Los microorganismos metanogénicos son muy sensibles al pH, siendo un pH de alrededor de 7 el indicado para su metabolismo. Las bacterias hidrolíticas y acidogénicas se desempeñan mejor entre valores de pH de 5.5-6.5, mientras que las bacterias acidogénicas son más tolerantes a un rango de pH más amplio (Uddin & Wright, 2023).

Un pH inferior a 6.3 o superior a 7.8 puede afectar de manera negativa a la etapa de metanogénesis, influenciando a la cinética de la reacción y el rendimiento de producción de biogás (Sarker *et al.,* 2019).

- **Relación sustrato e inóculo**

Para una óptima biodegradabilidad de los residuos y una mayor producción de biogás, la relación sustrato-inóculo (S:I) es un parámetro esencial. Dado que tanto las características del sustrato como las del inóculo influyen en la eficiencia del proceso, es crucial optimizar la relación S:I, la cual se expresa como la relación de sólidos volátiles entre el sustrato y el inóculo (Demichelis *et al.,* 2022).

Young-Man *et al.* (2014) emplearon relaciones S:I de 0.1, 0.5, 1.0 y 1.5 para residuos de mataderos de cerdos, obteniendo la mayor producción de metano con la relación S:I de 1.5, mientras que la producción de metano más baja ocurrió con la relación de 0.1. Por su parte, Hernández-Fydrych *et al.* (2019) usaron relaciones S:I de 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 y 5:1 para ARR bovino, donde encontraron que la relación óptima para la producción de metano fue de 4:1, mientras que con la relación 5:1 disminuyó la producción de metano debido a problemas de formación de AGV que acidificaron el digestor. Además de la relación S:I, el tipo de sustrato empleado puede influir en el proceso de la DA debido a la diferencia de concentración de carbohidratos, lípidos y proteínas, lo que genera variaciones en la composición de biogás (Agrawal *et al.,* 2024).

Al seleccionar el sustrato, se debe considerar su potencial para la producción de metano; en la Tabla 3 se muestra algunos ejemplos. Aunque al utilizar sustratos con altos niveles de grasas, se tiende a formar rápidamente AGCL, lo que resulta en una acidificación del medio, afectando a los microorganismos. Además, al degradarse las proteínas se forma amonio, cuya acumulación, como ya se mencionó, puede provocar inhibición en la DA (Wang *et al.,* 2023).

Tabla 3. *Eficiencia teórica máxima de metano (Czekala et al., 2023).*

Compuesto	***Eficiencia de metano*** $\left(\frac{m^3}{kg}\ SV\right)$
Carbohidratos	0.42
Proteínas	0.50
Grasas	1.01

El inóculo, compuesto por la comunidad de bacterias que cataliza cada etapa de la DA (Agrawal *et al.,* 2024), es esencial para garantizar la estabilidad del proceso. Su adecuada selección puede aumentar la tasa de degradación, acortar la fase de adaptación y mejorar la producción de metano (Khadka *et al.,* 2022).

Tomando en cuenta todos los parámetros involucrados en la DA, es esencial evaluar el rendimiento del proceso. En este contexto, las pruebas de biopotencial de metano se presentan como una herramienta para medir la capacidad de un sustrato en específico para producir metano en condiciones controladas. Estas pruebas permiten determinar la cantidad máxima de metano a partir de un sustrato, en el cual se puede estimar la eficiencia del proceso y el potencial energético del sustrato tratado (Filer *et al.,* 2019; Da Silva *et al.,* 2018).

2.3 Pruebas de Biopotencial de Metano

Las pruebas de biopotencial de metano (BPM) son un método ampliamente usado para determinar la de producción de metano y la biodegradabilidad de un sustrato (Figura 2) (Filer *et al.,* 2019), además son reproducibles y de bajo costo (Anuar *et al.,* 2018).

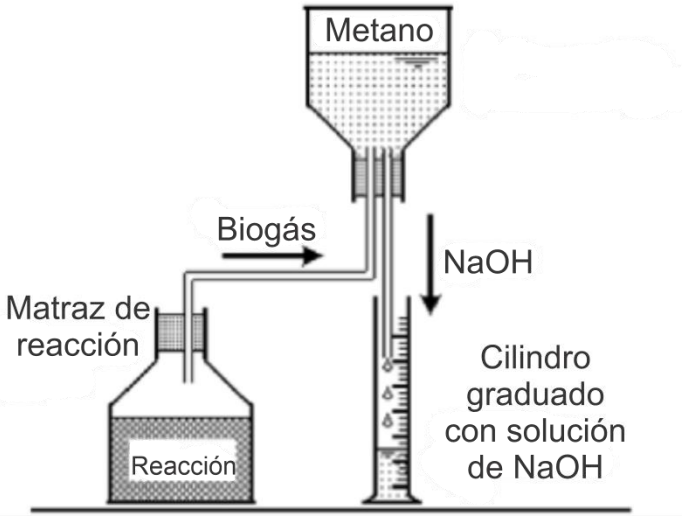


Figura 2. *Esquema general las pruebas BPM. Modificado de Chernicharo (2022).*

Estas pruebas consisten en mezclar un sustrato con un cultivo de bacterias anaerobias, en relaciones S:I previamente establecidas. Luego, las botellas se almacenan a temperatura controlada (generalmente entre 35-55°C) y agitación constante durante el tiempo que dure la producción de biogás, llegando, en algunos casos, a ser de más de 100 días (Rodriguez *et al.,* 2019).

Cabe mencionar que las pruebas BMP se pueden ver comprometidas por factores relacionados con el inóculo, el sustrato, el método utilizado para cuantificar el biogás, así como las condiciones de operación (temperatura, pH, relación S:I, tiempo de ensayo, etc.) (Rodriguez *et al.,* 2019; Rapaso *et al.,* 2011). Además, las pruebas BMP se pueden utilizar para estimar constantes cinéticas del sustrato empleado, así como para determinar la etapa limitante (Da Silva *et al.,* 2018). No obstante, puede llegar a ser difícil la comparación entre ensayos puesto que no se tiene un protocolo estándar para dichas pruebas (Angelidaki *et al.,* 2009; Holliger *et al.,* 2021).

- **Actividad metanogénica específica**

La actividad metanogénica específica (AME) determina la capacidad del inóculo para producir metano en un sustrato específico. Este análisis de actividad metanogénica permite definir las condiciones de operación de los procesos anaerobios y son un parámetro para evaluar el rendimiento del sistema (Hussain & Dubey, 2014).

Al iniciar un proceso de DA, tanto la actividad como la cantidad de inóculo son factores clave para establecer una tasa de carga orgánica inicial adecuada. Evaluar periódicamente la actividad del inóculo permite monitorear su evolución a lo largo del proceso. Variaciones en esta actividad pueden ser indicativas de procesos de inhibición o de la acumulación de compuestos orgánicos de degradación lenta. Además, esta prueba resulta útil para analizar el desempeño del inóculo frente a posibles compuestos inhibidores presentes en las aguas residuales (Hussain & Dubey, 2017).

La información adquirida en estas pruebas puede ser ajustada con modelos matemáticos, para hacer predicciones del comportamiento del metano y obtener otros parámetros que ayuden a predecir la cinética de producción de metano, la eficiencia del sistema y el rendimiento potencial bajo distintas condiciones operacionales (Ahlamine *et al.*, 2024).

2.3.1 Cinética de la producción de metano

Existen diversos modelos matemáticos que se llegan a implementar en las pruebas BPM, entre los más conocidos se encuentran el modelo de primer orden y el modelo de Gompertz. Estos permiten describir la cinética de producción de metano, estimar parámetros como la velocidad máxima de producción y el rendimiento específico máximo de metano (Velázquez-Martí *et al.*, 2019), lo que facilita la interpretación de los datos experimentales y la comparación entre distintos pretratamientos.

- **Modelo de primer orden**

Las curvas de producción de metano pueden ser modeladas usando la ecuación de primer orden:(todas las letras “e” van en molde ya que es el número de Euler)

$$Y_1(t) = Y_{max}(1 - \mathrm{e}^{-kt}) \quad (1)$$

Donde Y_1 es el rendimiento de metano dependiente del tiempo t (mL CH_4/g SV), Y_{max} es el rendimiento máximo de metano (mL CH_4/g SV) y k es la constante de velocidad de primer orden en d^{-1} y *e* es el número de Euler (≈2.71) elevado a una potencia. No obstante, en muchos casos los resultados obtenidos son solo moderadamente satisfactorios, debido en parte a la naturaleza heterogénea de los sustratos, los cuales contienen fracciones que se degradan a diferentes velocidades.

Un ajuste más preciso puede lograrse si se asume que la curva de producción de biogás representa estas distintas tasas y características. Por ello, la producción de metano se describe mediante (Banks & Heaven, 2013):

$$Y_2(t) = Y_{max}[1 - Pe^{k_1 t} - (1 - P)e^{-k_2 t}] \quad (2)$$

Donde k_1 es la constante de velocidad de primer orden de la proporción de la material potencialmente degradable en d^{-1}, k_2 es la constante de velocidad de primer orden de la

proporción de la material potencialmente menos degradable en d^{-1} y P es la fracción de la materia potencialmente degradable (Banks & Heaven, 2013).

- **Modelo de Gompertz**

En la literatura se encuentran distintos modelos sigmoides, como los de Gompertz, Richards y logístico (Ware & Power, 2017). Para identificar la cinética de las curvas de producción de metano, uno de los modelos más utilizados en procesos de DA es el modelo de Gompertz modificado (ecuación 3) (Omondi *et al.*, 2023). Este modelo incluye tres parámetros: A, que representa el potencial específico máximo de producción de metano (mL CH_4/g SV); μ_m, que corresponde a la tasa máxima específica de producción de metano (mL CH_4/g SV d); yT_i, que indica la duración de la fase lag (d) (Ware y Power, 2017). Además, *e* es el número de Euler (≈2.71), base de los logaritmos naturales. Estos parámetros son cruciales para entender el rendimiento de los sustratos en condiciones anaeróbicas y el comportamiento de las cinéticas de producción de metano (Omondi *et al.*, 2023).

$$P(t) = A\, e\left\{-e\left[\frac{\mu_m e}{A}(T_i - t) + 1\right]\right\} \qquad (3)$$

El modelo de Gompertz se utiliza para modelar cinéticas de producción de metano, especialmente para sustratos complejos. Este modelo es eficaz para describir las tendencias de degradación de sustrato con alto contenido de grasa, como las ARR (Ware y Power, 2017). Se ha demostrado este modelo se ajusta bien a las curvas de producción de metano de distintos sustratos, incluidas las ARR porcinas y bovinas (Córdoba *et al.,* 2018; Hernández-Fydrych *et al.,* 2019; Santos *et al.,* 2024).

Los modelos son herramientas que en este caso se usan para interpretar los datos experimentales y comprender las etapas limitantes del proceso, así como evaluar la de producción de metano (Ahlamine *et al.*, 2024). Aunado a ello, la aplicación de pretratamientos al sustrato mejora su biodegradabilidad y la producción de metano (Li *et al.*, 2019). A continuación, se presentan los algunos pretratamientos utilizados al ARR.

2.4 Pretratamientos para mejorar producción de metano

Como ya se mencionó, en el ARR hay materia orgánica que presenta una composición compleja, lo que dificulta su hidrólisis en la DA. Esto conlleva a tener tiempos de retención más largos, y a su vez, afecta el rendimiento de producción de biogás (Nguyen *et al.,* 2021). Para mejorar la hidrólisis y, consecuentemente, la producción de metano, diversos autores han sugerido el uso de pretratamientos (Nguyen *et al.,* 2021; Neumann *et al.,* 2016; Li *et al.,* 2018).

La finalidad de los pretratamientos es preparar los sustratos para los microorganismos presentes en la DA, al disminuir su tamaño molecular, volviéndolos más accesibles para los microorganismos. De esta manera, se aumenta el área superficial del sustrato pretratado y

se mejora la actividad enzimática, potenciando la degradación de SV y la producción de metano (Atelge *et al.,* 2020; Harris & McCabe, 2015).

Dentro de los pretratamientos se encuentran los mecánicos, químicos, térmicos y biológicos (Rodríguez *et al.,* 2017), cada uno con enfoques específicos para descomponer las estructuras complejas de los sustratos y facilitar su digestión (Nguyen *et al.,* 2021; Atelge *et al.,* 2020). Entre todos estos, destaca el pretratamiento térmico por que mejora la solubilidad del sustrato, favoreciendo su biodisponibilidad y la producción de biogás (Dumlu *et al.,* 2021; Shrestha *et al.,* 2020).

Además de los pretratamientos tradicionales, la incorporación de nanopartículas ha emergido como una estrategia innovadora (Amo-Duodu *et al.,* 2023). Estas nanopartículas actúan como catalizadores, mejorando las reacciones rédox en la DA y favoreciendo la actividad de las bacterias metanogénicas, lo que mejora la producción de metano (Baek *et al.,* 2019).

2.4.1 Pretratamientos químicos

En este pretratamiento se utilizan químicos como ácidos, álcalis y oxidantes para hidrolizar la materia orgánica y mejorar su biodegradabilidad, mejorando la producción de biogás (Nguyen *et al.,* 2021; Yang & Wang, 2019). Este pretratamiento depende de las características del compuesto orgánico, el tipo de método y el químico empleado. Sin embargo, el pretratamiento químico no es adecuado para sustancias que se biodegradan fácilmente (Amin *et al.,* 2017).

La función principal del pretratamiento alcalino y ácido es descomponer las paredes celulares mediante radicales hidroxilo. La reacción inicial implica solubilización y saponificación. Estas reacciones aumentan el área superficial del sustrato, haciéndolo más accesible para los microorganismos (Carlsson *et al.,* 2012).

2.4.2 Pretratamientos físicos

El pretratamiento físico se clasifica en pretratamiento mecánico y térmico. El pretratamiento mecánico incrementa el área superficial, la densidad aparente y la porosidad del sustrato, con lo que mejora el vínculo entre el sustrato y los microorganismos (Atelge *et al.,* 2020). Este tipo de pretratamiento logra incrementar la producción de biogás entre un 10 y 80%, debido a que incrementa el área superficial (Ariunbaatar *et al.,* 2014; Wordofa, 2014).

Aunque el pretratamiento mecánico incrementa la producción de metano, es costoso debido a su alta demanda energética durante el proceso (Atelge *et al.,* 2020). Entre los pretratamientos mecánicos se incluye ultrasonido, homogeneización a alta presión, irradiación de microondas y molino de bolas.

Por su parte, los pretratamientos térmicos se utilizan para romper las macromoléculas al estar sometidas a altas temperaturas, con rangos que oscilan entre 100 – 220°C (Carlsson *et al.,* 2012). El pretratamiento térmico ayuda a la desintegración del material insoluble, potenciando su biodegradabilidad mediante una mayor exposición del material orgánico a los microorganismos (Li *et al.,* 2019).

Este enfoque no sólo ayuda a mejorar las propiedades de las aguas residuales con elevadas cargas orgánicas, sino que también facilita la solubilización de grandes biomoléculas a exponerlas a temperaturas elevadas (100–220°C) (Scherzinger & Kaltschmitt, 2021). Además, cuando el pretratamiento térmico se combina con la DA, la energía requerida para llevar a cabo el pretratamiento puede equilibrarse con la producción de biogás resultante (Hernández *et al.,* 2022).

2.4.3 Pretratamientos biológicos

Los pretratamientos biológicos son métodos sostenibles que emplean enzimas para predigerir y optimizar la etapa de hidrólisis en la DA (Ariunbaatar *et al.,* 2014). En este tipo de pretratamiento es fundamental considerar las condiciones necesarias para la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos beneficiosos (nutrientes, inhibidores, temperatura, concentración de oxígeno, pH). Cualquier alteración de estos parámetros puede implicar cambios significativos en la composición del consorcio microbiano, afectando la descomposición del sustrato (Ferdes *et al.,* 2020).

2.4.4 Incorporación de nanopartículas para mejorar la producción de metano

Las nanopartículas (NP) se caracterizan por su tamaño, que varía de 1 a 100 nm (Figura 3). Debido a las propiedades físicas y químicas únicas, las NP se han empleado en diversas ramas de investigación, tales como los campos de la medicina, farmacéutico, industrial, alimenticio y ambiental (Ahmed *et al.,* 2021).

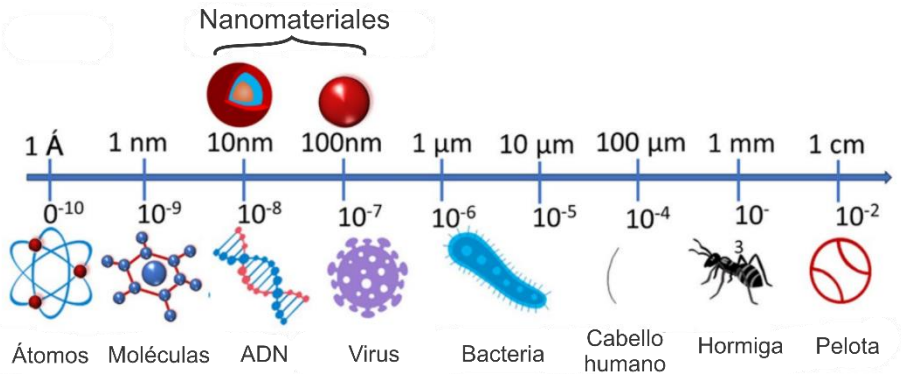


Figura 3. *Comparación del tamaño de nanomateriales con diferentes objetos cotidianos. Tomado de Asghar et al. (2024).*

Durante los últimos años, las NP han despertado gran interés en aplicaciones ambientales como adsorbentes o catalizadores para la remediación del agua. Esto se debe

a sus propiedades rédox, su disolución/solubilidad y su área, carga y composición química superficial, las cuales resultan útiles para la remoción de contaminantes sensibles a reacciones rédox (Asghar *et al.,* 2024).

El efecto de las NP en la DA y en la generación de metano sigue siendo objeto de investigación activa (Ragasri *et al.,* 2022). Dentro de los nanomateriales más utilizados para este fin están los óxidos metálicos, tales como: CuO, ZnO, TiO_2, Fe_2O_3, SiO_2 y CeO_2. Sin embargo, se ha observado que el ZnO y CuO reducen la producción de metano, mientras que el TiO_2 y CeO_2 pueden mejorarla, dependiendo de la concentración empleada (Ganzoury & Allam, 2015; Li *et al.,* 2019).

Entre los materiales que se llegan a emplear en la DA se pueden dividir en 4 grupos (Figura 4), en los que se encuentra NP metálicas de valencia cero, NP óxido metálico, nanomateriales carbonosos y NP de compuestos múltiples (Baniamerian *et al.,* 2019).

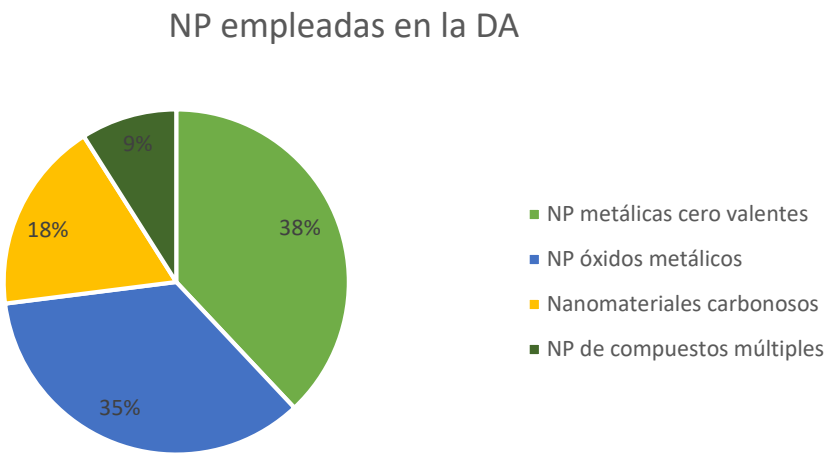


Figura 4. *Nanomateriales usados en la DA.* Recuperado de Baniamerian *et al.* (2019).

Con el surgimiento de la nanotecnología como una opción prometedora en la ingeniería y la ciencia ambiental, se han explorado los efectos de oligoelementos esenciales en tamaño nanométrico sobre el rendimiento de la DA de diversos sustratos (Baniamerian *et al.,* 2019).

Los efectos beneficiosos de las NP se deben a su gran área superficial, alta reactividad, especificidad y capacidad de dispersión (Ünşar y Perendeci, 2018). Hsieh *et al.* (2016) mostraron que las NP pueden favorecer la hidrólisis al ofrecer una amplia área superficial.

- **NP metálicas de valencia cero**

Los metales de valencia cero a escala nanométrica (NZVM, por sus siglas en inglés), como Fe, Ni, Cu, Co, Ag, Au, entre otros, poseen una fuerte reducibilidad química, alta eficiencia y una gran superficie específica, lo que les otorga aplicaciones prometedoras en procesos ambientales (Li *et al.,* 2016a, Li *et al.,* 2016b). De hecho, a medida que disminuye

el tamaño de la partícula, el porcentaje de átomos en la superficie de la partícula aumenta en relación con su masa, lo que potencia su tendencia a adsorberse y reaccionar con otras moléculas (Crane y Scott, 2012).

La transferencia directa de electrones entre especies (DIET, por sus siglas en inglés) mediante materiales conductores de electricidad (como hierro con valencia cero) y carbonosos, tienen mayor ventaja energética que la transferencia de electrones mediadas por microorganismos (MIET, por sus siglas en inglés), ya que la primera no requiere múltiples pasos enzimáticos para generar hidrógeno como transportador de electrones (Zhao *et al.,* 2015).

La DIET puede ocurrir a través de la pilis de los microorganismos, citocromos localizados en la superficie celular o mediante el uso de materiales conductores. Por ejemplo, como se muestra en la Figura 5, las NP conductoras pueden mejorar la transferencia de electrones entre las bacterias sintróficas y arqueas metanogénicas mediante contacto eléctrico (Rocha-Meneses *et al.*, 2022). Además, diversos autores (Liu *et al.*, 2022; Rocha-Meneses *et al.*, 2022; Zhong *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2019) señalan que la adición de materiales conductores que promueven la DIET y favorecen la metanogénesis está relacionada con el enriquecimiento de comunidades microbianas compuestas por especies ya reconocidas por su capacidad de participar en este tipo de transferencia electrónica.

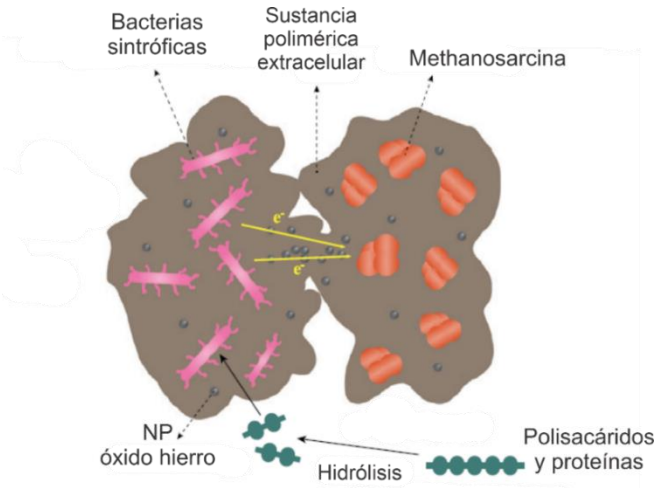


Figura 5. *Esquema de la DIET en la relación sintrófica de las bacterias de la etapa acetogénesis y metanogénesis. Adaptado de Zhong et al. (2022).*

- **NP óxidos metálicos**

Las NP de óxidos metálicos pueden presentar propiedades físicas y químicas singulares debido a su reducido tamaño y a la alta densidad de sitios activos (Fernández-García y Rodríguez, 2011). Existen diversos tipos de compuestos, como ZnO, CuO, TiO_2, MgO, NiO y Fe_2O_3. En el campo en desarrollo de la nanotecnología, se busca aprovechar estas NP en el rendimiento de producción de biogás (Baniamerian *et al.,* 2019).

Se ha observado que la adición de materiales como la magnetita mejoran la producción de metano, ya que estas NP actúan como conductores de electrones entre los acetógenos y los metanógenos reductores de CO_2 (Cruz Viggi *et al.,* 2014; Gong *et al.,* 2021).

- **NP de óxido de hierro**

Las NP de óxido de hierro generan gran interés en la DA porque son fáciles de obtener, aunado a que el hierro es económico y, probablemente, no tóxico. Varios autores han informado que el crecimiento de las bacterias metanogénicas está influenciado por la presencia de hierro (Fe), cobalto (Co) y níquel (Ni) en el medio, puesto que son constituyentes esenciales de cofactores y favorecen a la síntesis enzimática (Aguilar-Moreno *et al.,* 2020; Hassanein *et al.,* 2019; Li *et al.,* 2019).

Los óxidos de hierro son particularmente interesantes, debido a sus diversas fases, como la hematita, maghemita y magnetita. Esta última, en particular, es de gran interés ya que permite obtener dos especies de hierro a la vez, Fe^{2+} y Fe^{3+}, las cuales contribuyen a mejorar la DIET (Amo-Duodu *et al.,* 2023; Hassanein *et al.,* 2019).

Adicionalmente, se ha reportado que la DIET desempeña un papel importante en la DA. Un ejemplo es el hierro que, al actuar como aceptor de electrones, puede disminuir el potencial oxido-reductor del medio (ORP, por sus siglas en inglés), lo cual es benéfico para los microorganismos anaerobios. Por lo que con una dosis adecuada de magnetita es posible favorecer un ambiente reductor, aumentando la actividad metabólica de los microorganismos metanogénicos, lo que mejora la producción de metano (Li *et al.,* 2019).

La conductividad está directamente relacionada con la capacidad de proporcionar conexiones eléctricas entre diferentes microorganismos como se ilustra en la Figura 5 y, por lo tanto, promover la DIET, lo que podría conducir a una mayor metanogénesis (Baek *et al.,* 2019). Cabe resaltar que, en presencia de Fe, las velocidades de reacción de la hidrólisis y acidogénesis se pueden acelerar para estimular la degradación de AGV, lo que implica una mayor fermentación de sustratos y mayor cantidad de productos para la metanogénesis y, por ende, mayor producción de metano (Li *et al.,* 2019).

- **NP carbonosas**

Las NP basadas en carbono se presentan en diversas formas, como grafeno, diamante, nanotubos y nanofibras. Estas poseen una amplia área superficial que permite la deposición de polímeros conductores y NP de metales u óxidos metálicos, lo que favorece una difusión eficiente de iones. Además, se caracterizan por su alta estabilidad química, excelente conductividad térmica y baja resistividad (Altammar*,* 2023).

Tian *et al.* (2017) investigaron los efectos a corto y largo plazo del grafeno en los procesos de AD (utilizando como sustrato glucosa) a 35°C. Los resultados revelaron que la exposición a corto plazo del grafeno (30 y 120 mg/L) tuvo un impacto significativamente

positivo en la producción de metano, que aumentó en un 17% y un 51.4%, respectivamente. Sin embargo, la exposición prolongada de grafeno a 120 mg/L mostró una ligera inhibición de los metanógenos a temperatura ambiente (10-20°C).

- **NP de compuestos múltiples**

Una estrategia innovadora consiste en encapsular o combinar múltiples compuestos en una NP compuesta, aprovechando sus características únicas (Da Silva *et al.,* 2017). Recubrir las NP con aditivos portadores puede ayudar a: 1) mitigar los efectos inhibidores de la aglomeración y 2) mejorar los contactos entre los microorganismos y las NP, lo que podría ser una estrategia eficaz para aumentar la reactividad y el rendimiento de las nanopartículas (Elreedy *et al.,* 2017). La distribución de nanopartículas de metal u óxido metálico sobre materiales de soporte (como TiO_2, Al_2O_3, SiO_2, zeolitas y materiales a base de carbono) incrementa la fracción de átomos expuestos en la superficie de las NP, lo que a su vez aumenta la reactividad debido a su adecuada dispersión en la superficie del soporte (Baniamerian *et al.,* 2019).

Como se ha mencionado, la incorporación de NP resultan ser una estrategia novedosa para mejorar la producción de metano, especialmente aquellas basadas en óxidos metálicos. En particular, las NP de óxido de hierro destacan por su alta área superficial, estabilidad química, propiedades magnéticas y capacidad para facilitar reacciones rédox que pueden favorecer el metabolismo microbiano durante la DA (Baek *et al.,* 2019; Li *et al.,* 2019). Además, de proporcionar transferencias eléctricas entre diferentes microorganismos las convierten en una opción atractiva (Amo-Duodu *et al.,* 2023; Kim *et al.*, 2023). Contemplando lo anterior a continuación se describe uno de los métodos más utilizados para la síntesis de NP de óxido de hierro.

2.5 Métodos de síntesis de nanopartículas óxido de hierro

Para la síntesis de nanopartículas de óxido de hierro se han empleado diversas metodologías, como la co-precipitación, el método de sol-gel, la técnica de emulsiones, procesos mecanoquímicos, hidrotérmicos y de plasma de arco térmico de corriente directa (Nyabadza *et al.*, 2023). Entre estos métodos para la síntesis de óxidos metálicos, el proceso de sol-gel ofrece diversas ventajas en comparación de las otras metodologías, tales como una buena homogeneidad, bajo costo, baja temperatura y alta pureza del nanomaterial (Shaker *et al.,* 2013).

2.5.1 Método sol-gel

El método de sol-gel es el más adecuado para la síntesis de nanopartículas, puesto que usa una pequeña cantidad de precursores de bajo costo, baja temperatura y es una metodología de síntesis simple (Brahmbhatt *et al.,* 2023).

El método de sol-gel representa una técnica de síntesis consolidada para la producción de nanopartículas a partir de óxidos metálicos y compuestos de óxidos mixtos. Implica varios pasos para la formación de óxidos metálicos. Primero, el precursor metálico correspondiente se somete a una rápida hidrólisis para producir una solución coloidal estable (sol) de hidróxido metálico. La hidrólisis es seguida inmediatamente por la condensación, que conduce a la formación de geles tridimensionales (3D) a través de interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno o enlaces covalentes. Posteriormente, el gel obtenido se somete a un proceso de secado y el producto resultante se convierte fácilmente en un xerogel o aerogel, dependiendo del método de secado (Figura 6) (Borges *et al.,* 2023).

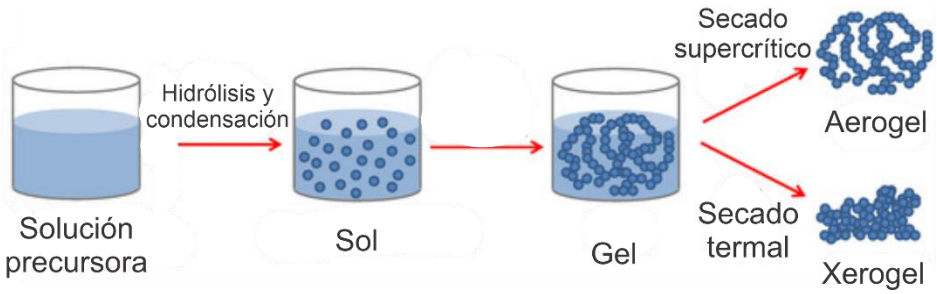


Figura 6. *Esquema general del método de sol-gel. Modificado de Tao & Pescarmona (2018).*

2.5.2 Impregnación húmeda incipiente

Entre los diversos métodos para la preparación de catalizadores metálicos soportados, la impregnación húmeda incipiente es uno de los más sencillos. Este método permite obtener materiales con alta actividad catalítica, debido a la dispersión uniforme de las especies metálicas activas sobre el material soporte (Zhang *et al.,* 2024; Afolabi & Onwona, 2023).

La impregnación húmeda generalmente comienza con la selección del material de soporte, siendo los más comunes los óxidos metálicos como la alúmina (Al_2O_3), la sílice (SiO_2) y el óxido de titanio (TiO_2). Estos materiales ofrecen una alta área superficial y buena estabilidad mecánica, lo que los hace adecuados para su uso como soportes catalíticos (Afolabi & Onwona, 2023).

El método de impregnación húmeda consiste en sumergir el material de soporte en una solución que contiene las especies metálicas activas, permitiendo que estas se difundan dentro de la estructura porosa del soporte. Este método implica saturar el soporte con la solución sin dejar un exceso de líquido, lo que asegura una distribución uniforme de las especies metálicas y reduce el riesgo de aglomeración (Munnik *et al.*, 2015).

Una vez completada la impregnación, el material se somete a un proceso de secado para eliminar el disolvente, seguido de una etapa de calcinación o reducción, con el fin de obtener las especies metálicas en su estado activo deseado (Phichairatanaphong *et al.*, 2022).

Capítulo 3

Estado del Arte

La producción de metano a partir de ARR es un proceso clave en la generación de energía renovable. La eficiencia de este proceso puede mejorarse mediante la incorporación de NP y el pretratamiento térmico (PT). Las NP de óxido de hierro, han demostrado ser eficaces para aumentar la actividad microbiana, lo que puede resultar en un incremento en la producción de biogás (Li *et al.,* 2019).

Por su parte, el PT es un método que se puede emplear para aumentar la disponibilidad de sustratos para los microorganismos (Scherzinger & Kaltschmitt, 2021). Este estudio se centra en explorar la implementación de estos dos tratamientos en conjunto para maximizar la producción de metano a partir de ARR.

Como se mencionó en la sección 2.3, las pruebas BPM son un indicador que permite determinar la cantidad de metano que un sustrato específico generará por cada unidad de masas de SV (Hussain & Dubey, 2017). Las pruebas BMP con la incorporación de NP se suelen realizar entre 32-37°C, puesto que son las condiciones óptimas para este tipo de pruebas (Tsegaye *et al.,* 2023; Ragasri *et al.,* 2022; Abdelsalam *et al.,* 2017). Sin embargo, son escasos los trabajos que operen a temperaturas de 25°C (Cruz *et al.,* 2014), como en el presente trabajo.

Los valores obtenidos en producción de metano (mL CH_4/g SV) con sustratos derivados de rastros u otros residuos han sido variados: Hassanein *et al.* (2019), con una concentración de 50 mg/L de NP de magnetita, llegaron a obtener 335 mL CH_4/g SV, con temperatura de 35°C, usando como sustrato estiércol de aves de corral, mientras que Caballero *et al.* (2020) obtuvieron una producción de 215 mL CH_4/g SV para lodos activados provenientes del tratamiento de ARR a los 6 días, operando con una temperatura de 35°C y un volumen útil de 150 mL.

El pretratamiento térmico puede potenciar la producción de biogás entre un 35 al 50%, dependiendo de la temperatura utilizada (Karuppiah & Azariah, 2018; Vanegas *et al.,* 2022). Cabe señalar que los pretratamientos térmicos no se suelen emplear en el agua residual, sino que generalmente se aplican para el pretratamiento de residuos sólidos (Carrere *et al.,* 2014; Liu *et al.,* 2018).

En cambio, las NP de óxido de hierro se han utilizado para diversos residuos, donde se ha encontrado que la adición de NP incrementa la producción de metano entre un 66-

96% (Ajay *et al.,* 2020), variando según el sustrato utilizado, así como el tamaño y concentración de las NP.

Los resultados de los estudios internacionales y nacionales relacionados con el uso del PT y NP en la DA de diversos residuos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. *Estudios de pretratamiento térmico (PT) y nanopartículas (NP) de óxido de hierro.*

Método	***Materia prima***	***Condiciones operacionales***	***Tamaño NP (nm)***	***Resultados***	***Referencias***
PT	Lodos de matadero de aves de corral	80°C 60 min	NA	La producción de biogás aumentó 43.12% Producción de metano aumentó 38.52%	Méndez-Contreras *et al.,* 2023
	Lodos activados (AR municipal)	165°C 15 min	NA	Aumento de 57% metano acumulado	Liu *et al.,* 2022
	Aguas residuales bovinos	120°C 60 min	NA	Se obtuvo 0.463 L CH_4/g SV	Hernández-Fydrych *et al.,* 2021
	Residuos de mataderos de aves de corral	170-220°C 30 min	NA	Aumentó a 0.393 CH_4/g SV con respecto al blanco 0.301 CH_4/g SV para T=190°C	Park *et al.,* 2017
	Matadero de aves y cerdos (vísceras)	Pasteurización (70°C durante 60 min) y esterilización (133°C y 3 bar durante 20 min)	NA	Incremento del 52.7% después de la pasteurización y 66.1% después de la esterilización	Rodríguez-Abalde *et al.,* 2011
Método	***Materia prima***	***Condiciones operacionales***	***Tamaño NP (nm)***	***Resultados***	***Referencias***
NP óxido de hierro	Lodos residuales	100, 200, 400 y 600 mg/L de NP	40-60	Aumento de 92.22% metano con NP de 200 mg/L	Gong *et al.,* 2021
	Excremento pollo (granja avícola)	20, 40, 60 mg/L de NP	4.2	Con NP de 20 mg/L mayor producción CH_4 (2.55 mL CH_4/g_{SSV}·d) un 55.5% con respecto al de control (1.64 mL CH_4/g_{SSV}·d)	Aguilar-Moreno *et al.,* 2020
	Excrementos aves de corral	15, 50, 100 mg/L de NP	20-30	Incremento de 25.7–27.5% en CH_4 (con NP de 15 mg/L)	Hassanein *et al.,* 2019

AR: aguas residuales; SV: sólidos volátiles; SSV: sólidos suspendidos volátiles.

En la Tabla 4 se observa que, en la última década, existen pocas publicaciones sobre el uso de nanopartículas de óxido de hierro y pretratamiento térmico para el mejoramiento

de la producción de metano usando agua residual de rastro bovino. En contraste, sí se encuentran mayormente estudios para aguas residuales de aves de corral o porcinos. Esta tendencia evidencia la necesidad de ampliar la investigación en bovinos a fin de fortalecer el conocimiento en este campo.

También cabe resaltar que trabajos como de Heikal *et al.* (2022) y el de Zhang *et al.* (2020) (Tabla 5) implementaron la combinación de las dos metodologías para mejorar la DA de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), encontrando que la producción de biogás se incrementó un 96% para el biogás y 60% para el metano.

Tabla 5. *Estudios combinados de pretratamiento térmico (PT) y nanopartículas (NP) de óxido de hierro.*

Materia prima	***Condiciones operacionales (mg/L de NP)***	***Tamaño NP (nm)***	***Resultados***	***Referencias***
Lodos de PTAR municipal	20, 50, 100 y 200	25	Biogás acumulado incrementó 96% (PT de 100°C y NP de 100 mg/L)	Heikal *et al.,* 2022
Lodos residuales (AR municipal)	20, 50, 100 y 200	20-30	Rendimiento metano 58.7% (PT de 80°C y con NP de 100 mg/L)	Zhang *et al.,* 2020

Existen algunos trabajos que abordan de manera específica el incremento en la producción de metano a través del uso del pretratamiento térmico y NP de hierro en el tratamiento de aguas residuales de rastro. En este contexto, es beneficioso fomentar y amplificar la investigación de esta área, dado la relevancia de optimizar la gestión de estos residuos e impulsar el aprovechamiento del tratamiento de este tipo de aguas residuales para la obtención de energía.

En cuanto a la síntesis de NP, cabe señalar que el método de co-precipitación es comúnmente utilizado para la síntesis de NP de óxido de hierro magnéticas (Al-Madhagi *et al.,* 2023). Sin embargo, en este método se suelen utilizar cloruros férricos o ferrosos, los cuales pueden ser perjudiciales en la DA al afectar de manera negativa a la comunidad de microorganismos presentes en cada una de las etapas (Shao *et al.,* 2021). Un método alternativo interesante es el sol-gel, ya que no se utilizan precursores con cloruros de hierro, sino precursores de nitratos, evitando así los inconvenientes asociados al utilizar cloruros.

Son pocos los trabajos donde se utilizan NP soportados en la DA (Baniamerian *et al.,* 2019). Se pueden llegar a utilizar materiales como óxido de titanio, óxido de aluminio, óxido de silicio o materiales carbonosos, puesto que mejoran el área superficial de las NP soportadas, a su vez, aumenta la reactividad de estos materiales debido a su dispersión en la superficie del soporte (Baniamerian *et al.,* 2019).

Como se observa en la Tabla 6, se ha implementado la síntesis de NP de óxido de hierro soportadas en carbón activado granular (CAG), donde el CAG se ha utilizado como potenciador de producción de metano. Barrena *et al.* (2023) utilizaron NP de magnetita impreganadas en óxido de grafeno, mientras que Qin *et al.* (2024) usaron magnetita soportada en nanotubos de carbono de multipared. Cabe mencionar que en estos trabajos

utilizaron sustratos diferentes al de interés en este proyecto. Sin embargo, hay poca evidencia sobre la utilización de alúmina como soporte para las NP de óxido de hierro, lo cual representa una oportunidad para futuras investigaciones.

Tabla 6. *Estudios con diferentes metodologías de nanopartículas (NP) de óxido de hierro y soportadas.*

Metodología	***Materiales***	***Tamaño NP (nm)***	***Resultados***	***Referencias***
Impregnación	Nitrato de hierro Agua desionizada CAG	5-12	Óxido de hierro fase magnetita soportadas en CAG	Orrantia *et al.,* 2024
Sol-gel	Nitrato de hierro Etanol	NI	Óxido de hierro fase magnetita	Brahmbhatt *et al.,* 2023
Co-precipitación	$FeCl_3$ $FeSO_4$	12-18	Óxido de hierro fase magnetita	Hassanpour moghadam *et al.,* 2023
Sol-gel	Nitrato de itrio Nitrato de hierro Ácido cítrico	NI	Óxido de hierro fase Ɛ	Jang *et al.,* 2022

NI: No Indicado

Capítulo 4

Justificación

Las ARR perjudican al ambiente y a la salud pública debido a que contienen patógenos que representan un riesgo a la salud; además, este tipo de aguas contienen una alta carga de materia orgánica y pueden contaminar cuerpos de agua, afectando su calidad y perjudicando la vida acuática sino se realiza un tratamiento antes de ser vertidas a cuerpos de agua receptores. Según el informe "Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipales" de la COFEPRIS y la Dirección General de Promoción de la Salud, en el año 2006 se estimó que los mataderos en el país produjeron una cantidad significativa de aguas residuales, aproximadamente 23 millones de litros diariamente (COFEPRIS, 2006).

Comúnmente las ARR son tratadas por medio de la DA con la ventaja de producir metano; sin embargo, también este tratamiento presenta desventajas debido a que la etapa de hidrólisis puede ser inhibida y/o afectada por diferentes factores como la alta concentración de sólidos o la presencia de AGCL, que pueden llegar a ser inhibidores (Shende & Pophali, 2021; Loganath & Senophiyah-Mary, 2020), perjudicado la producción de metano, por lo que se busca mitigar dichas desventajas.

En ese sentido, el pretratamiento térmico facilita de desintegración de sustancias insolubles, mejorando su capacidad de biodegradación (Scherzinger & Kaltschmitt, 2021). Otra alternativa que actualmente se está implementando es la incorporación de nanopartículas, las cuales pueden estimular la etapa metanogénica (Li *et al.,* 2019).

Con el fin de contribuir en el tratamiento de las ARR y potenciar la obtención de un gas altamente energético, como lo es el metano, se propone usar la DA con la implementación de estos dos procesos, con la finalidad de disminuir los factores que afecten la hidrólisis, y a su vez, estimular a las bacterias presentes de la etapa de metanogénesis para que en conjunto potencien la producción de metano.

Además, se realizará un balance energético para determinar si con la producción de metano obtenida con el pretratamiento térmico y de la síntesis de las nanopartículas, es factible suplir la demanda de energía que dichos procesos requieren.

Capítulo 5

Pregunta de investigación, hipótesis y objetivos

5.1. Pregunta de investigación

¿Cómo influye la aplicación de un pretratamiento térmico combinado con la incorporación de nanopartículas de óxido de hierro en la producción de metano durante la digestión anaerobia de aguas residuales de rastro?

5.2. Hipótesis

Se obtendrá una mayor producción de metano a partir de la digestión anaerobia de aguas de rastro si se combinan el pretratamiento térmico y la adición de nanopartículas de óxido de hierro, debido a que ambos procesos favorecen la digestión de la materia orgánica al mejorar las etapas de hidrólisis y metanogénesis porque facilitan los procesos de conversión de la materia orgánica y estimulan la actividad metabólica de los microorganismos presentes.

5.3. Objetivo general

Evaluar la producción de metano en la digestión anaerobia de agua residual de rastro pretratada térmicamente con la incorporación de nanopartículas de óxido de hierro en ensayos a microescala.

5.4. Objetivos particulares

a) Sintetizar y caracterizar las nanopartículas de óxido de hierro soportadas y no soportadas.
b) Analizar la influencia de la incorporación de nanopartículas de óxido de hierro en la producción de metano durante la digestión anaerobia de agua residual de rastro.
c) Analizar la influencia de la concentración de las nanopartículas de óxido de hierro en la producción de metano durante la digestión anaerobia de agua residual de rastro.
d) Analizar la influencia del pretratamiento térmico en la producción de metano durante la digestión anaerobia de agua residual de rastro.

e) Determinar el efecto que tiene la combinación de nanopartículas de óxido de hierro y el pretratamiento térmico en la producción de metano en la digestión anaerobia de aguas residuales de rastro.

Capítulo 6

Metodología

Las 3 etapas experimentales que se siguieron en esta tesis se resumen en la Figura 7. La etapa 1 correspondió a la síntesis y caracterización de NP de óxido de hierro con y sin soporte, la etapa 2 consistió en la recolección y caracterización de las ARR y, por último, en la etapa 3 se llevaron a cabo las pruebas de biopotencial de metano, en las cuales se evaluó el volumen y se caracterizó la composición del biogás producido, así como la reducción de sólidos volátiles en el ARR.

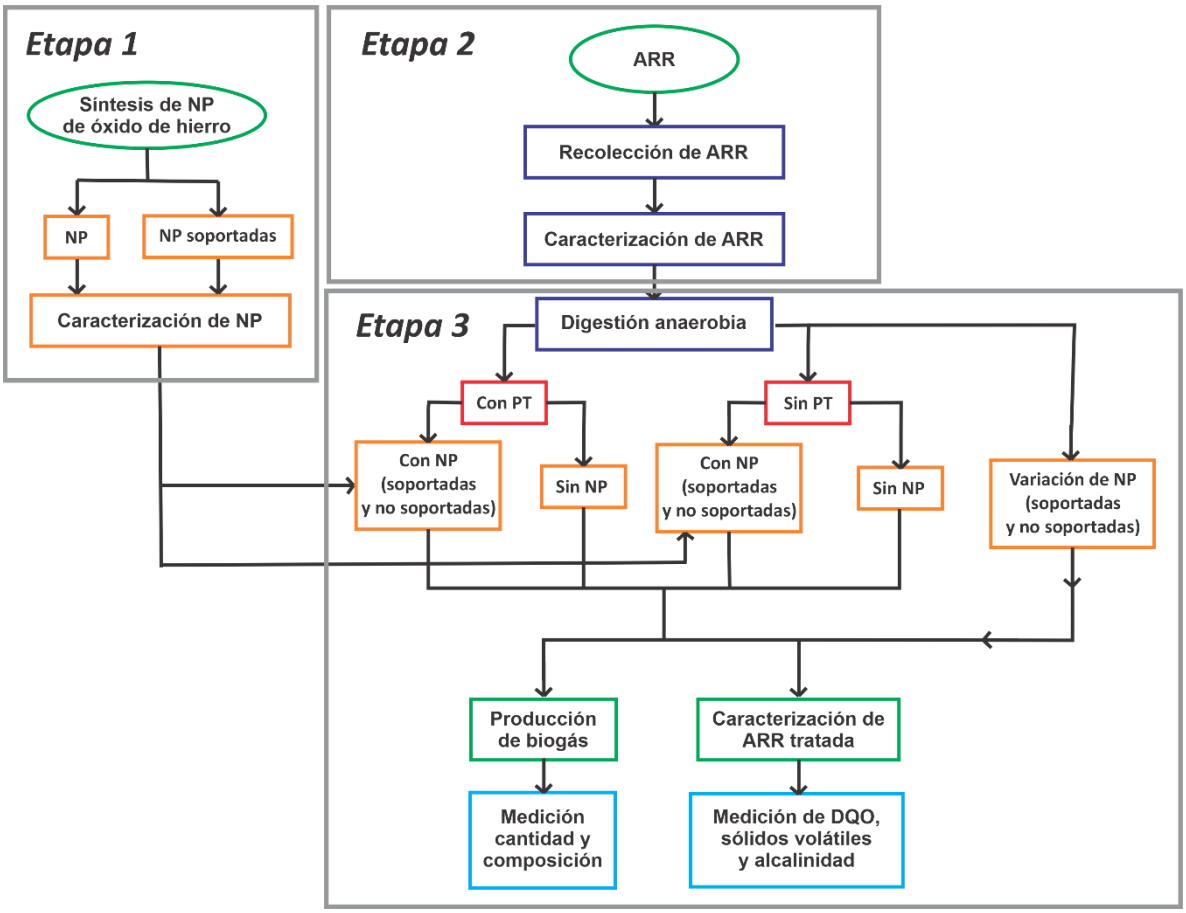


Figura 7. *Diagrama de flujo de experimentos con/sin pretratamiento térmico (PT) y nanopartículas (NP) de óxido de hierro (soportadas o no soportadas).*

6.1 Etapa 1. Síntesis y caracterización de NP con y sin soporte

6.1.1 Síntesis de NP con y sin soporte

Las nanopartículas de óxido de hierro en fase magnetita se sintetizaron por el método sol-gel, a partir de los procedimientos propuestos por Jang *et al.* (2022) y por Brahmbhatt *et al.* (2023). Se compararon estas dos metodologías con el fin de obtener el método más sostenible en términos de consumo energético para la obtención de nanopartículas de óxido de hierro en fase magnetita.

El método propuesto por Jang *et al.* (2022) consistió en preparar una disolución de citrato de sodio 0.48 M y una solución de nitrato de hierro 0.1 M a temperatura ambiente. Ambas disoluciones se mezclaron en una relación 1:1 y se agitaron a 300 rpm durante 24 h a 80°C hasta obtener un gel homogéneo. Posteriormente, dicho gel se secó completamente durante 5 h a 180°C para obtener un gel bruto, el cual se trituró y calcinó en aire durante 2 h a diferentes temperaturas: 650, 750 y 850°C, con incrementos de temperatura de 5°C/min, con el fin de determinar a qué temperatura se favorecía mayoritariamente la formación de la fase magnetita.

Para las NP soportadas se empleó como soporte alúmina comercial fase alfa. Para obtener el gel precursor de las NP se procedió como ya se mencionó en el párrafo anterior hasta la etapa de obtención del gel, el cual se incorporó al soporte con una concentración del 5% en peso por el método de impregnación incipiente. Posteriormente, el material impregnado se secó y se calcino a 850°C con la misma rampa descrita para el caso de las NP sin soporte.

Por su parte, en el método propuesto por Brahmbhatt *et al.* (2023) se mezclaron una disolución de nitrato de hierro 0.5 M con 10 mL de etanol y se mantuvieron una agitación de 300 rpm durante 2 h a 50°C. Luego, se aumentó la temperatura a 70°C hasta casi evaporar todo el etanol y obtener una coloración marrón y se procedió a verter el material gelatinoso a un crisol que se dejó secar a temperatura ambiente. Se calcinó en aire durante 3 h a 200°C con incrementos de temperatura de 5°C/min, se trituró hasta obtener un polvo y, por último, se calcinó a 600°C en un ambiente con hidrógeno durante 2 h.

Para las NP soportadas, nuevamente se usó el método de impregnación, en donde el gel de coloración marrón se impregno en alúmina comercial fase alfa y se dispersó incorporando un poco de etanol, con una concentración del 5% en peso. El material se dejó secar y se calcinó bajo las mismas condiciones descritas para las NP.

Todos los materiales se etiquetaron y almacenaron para su caracterización.

6.1.2 Técnicas de caracterización

- **Análisis estructural**

Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier

La espectroscopia de radiación infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) es una técnica que proporciona información sobre las vibraciones de los enlaces de una molécula. En esta técnica, la radiación IR pasa a través de la muestra, una parte de la radiación es absorbida y otra parte es transmitida. El espectro resultante representa la absorción o transmisión molecular. Así como no existen dos huellas dactilares iguales, tampoco hay dos estructuras moleculares únicas que produzcan el mismo espectro IR (Dutta, 2017).

La técnica utiliza un interferómetro, siendo el modelo de Michelson el más comúnmente empleado. La IR emitida por una fuente incide sobre un divisor de haz dentro del interferómetro, donde se separa en dos haces de misma intensidad: uno es reflejado por un espejo fijo y el otro por un espejo móvil. Al recombinarse estos haces después de atravesar nuevamente el divisor, se generan interferencias destructivas y constructivas. Cuando se ajusta la posición del espejo móvil, se altera la diferencia de recorrido óptico entre los dos haces, lo que permite obtener el espectro. Una vez que el espectro ha sido obtenido, el equipo captura los datos y realiza de manera automática la transformada de Fourier (Petit & Madejova, 2013).

Las mediciones de este estudio se realizaron con un equipo Thermo Nicolet modelo 1510. Se midió en la región media con un número de onda de 4000 a 400 cm^{-1}. Los análisis se realizaron con el accesorio de Reflectancia Difusa, para lo cual fue necesario diluir la muestra del 1 al 10 % de muestra usando como diluyente KBr. La muestra diluida se compactó en el portamuestras asegurando una superficie lo más lisa posible y se introdujo en el cámara del accesorio para su análisis por 16 scans con una resolución de 2 cm^{-1}.

Difracción de rayos X

La técnica de difracción de Rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) es elemental en la caracterización de compuestos cristalinos ya que se emplea para definir la estructura de los materiales. La información que se obtiene en el XRD son los difractogramas, con lo que se pueden determinar la estructura cristalina de un compuesto, e incluso el tamaño de NP. (Aparicio & Carbajal, 2010).

Los Rayos X se generan por un tubo de rayos catódicos que son filtrados para producir una radiación monocromática, que son colimados para concentrarse y dirigirlos hacia el material (Bunaciu *et al.,* 2015). La interacción de los rayos se describe con la ecuación de la Ley de Bragg:

$$n\lambda_1 = 2d\ Sen\ \theta \qquad (4)$$

Donde λ_1 es la longitud de onda de los rayos X, d es el espaciado interplanar que genera la difracción, n es un número entero y θ es el ángulo de difracción como se muestra en la Figura 8 (Aparicio & Carbajal, 2010).

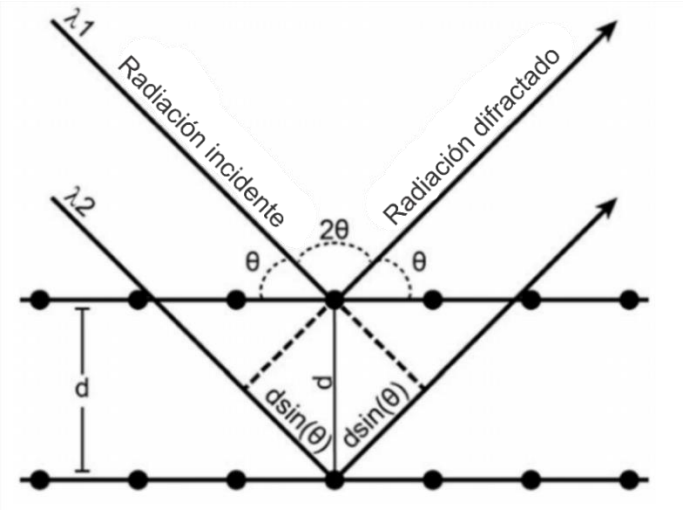


Figura 8. *Esquema de la ley de Bragg.Tomado de Stan et al. (2018).*

Las mediciones de este estudio se realizaron en un equipo Bruker modelo D2 Phaser con una fuente de Rayos X de CuKα (λ= 1.5406 Å). El intervalo del ángulo de análisis (2θ) fue de 7 a 80°, con pasos de 0.03 y tiempo de análisis de 0.6 s, con condiciones operacionales de 30 kV y 10 mA.

- **Análisis fisicoquímico**

Reducción programada de temperatura

Las técnicas de temperatura programada permiten la caracterización de las propiedades del catalizador y la evaluación de las interacciones físico-químicas que tienen lugar entre la superficie del catalizador y las especies reactivas.

El principio de la reducción programada por temperatura (TPR por su acrónimo en inglés) es simple: se ingresa un gas que ayudará a reducir al material de interés (ejemplo H_2 gaseoso) (Da Ros *et al.,* 2021), además como la temperatura es baja al principio, las velocidades de reacción son prácticamente cero. Luego, se aumenta la temperatura a una velocidad constante, por lo que las velocidades de reacción aumentan dependiendo de la actividad y el grado de reducción del material sólido, hasta que el material se reduce por completo. La concentración de los productos de reacción gaseosos se mide en la salida con una alta frecuencia de muestreo (Da Ros *et al.,* 2021; Heidebrecht *et al.,* 2008).

Para el análisis de las NP obtenidas en esta investigación se utilizó un equipo BEL Japan Inc modelo BELCAT-BET. Para el análisis de TPR se realizó un pretratamiento de la muestra a 250°C por una hora, posteriormente se disminuyó la temperatura a 50°C. A continuación,

se calentó la muestra hasta 800°C con una velocidad de calentamiento de 10°C/min y un flujo de H_2 al 5% en argón con un caudal de 30 cm^3/min y 20 min de estabilización.

- **Análisis morfológico y composicional**

Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM, por su acrónimo en inglés) se emplea para conseguir imágenes detalladas de las superficies de las muestras. Esta técnica utiliza un haz de electrones que es enfocado por lentes electromagnéticas. Cuando estos electrones interactúan con la muestra, se generan señales que son recolectadas para producir una imagen de la superficie. La generación de imágenes se basa en las señales obtenidas por las interacciones de los electrones con la muestra (Asif *et al.,* 2023). Estas interacciones se clasifican en:

Dispersión elástica: Ocurre cuando los electrones incidentes se desvían debido a la presencia del núcleo atómico (protones), sin que haya una pérdida significativa de energía. En este tipo de interacción, los electrones mantienen su energía cinética original, pero cambian de dirección. Un caso particular es el de los electrones retrodispersados (AsB), que se desvían en ángulo mayores a 90° y se puede obtener imágenes mediante esa señal (Inkson, 2016).

Dispersión inelástica: Tiene lugar cuando los electrones incidentes transfieren parte de su energía a los átomos de la muestra, lo que da lugar a proceso como la excitación de electrones internos, la ionización o la emisión de electrones secundarios (SE por sus siglas en inglés). Estos SE, que generalmente tienen energías inferiores a 50 eV, también pueden ser recolectados para formar imágenes (Inkson, 2016).

Además de estos dos tipos de interacciones, también se pueden generar algunos otros tipos tal como se muestra en la imagen de la Figura 9.

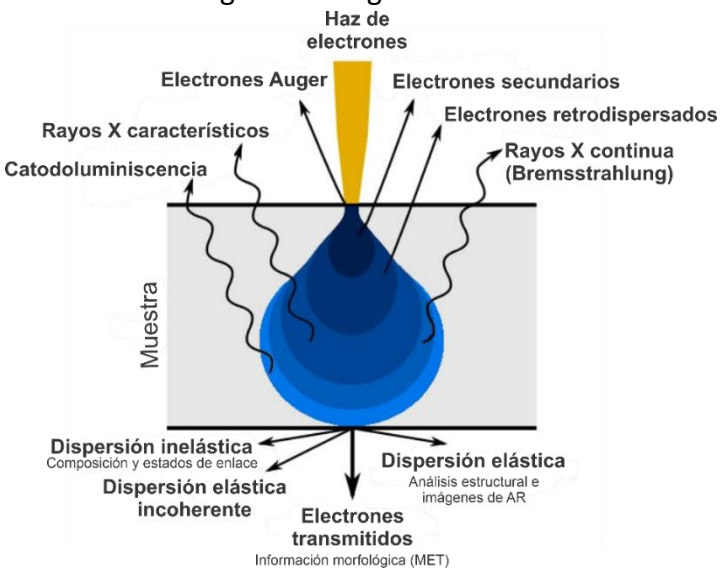


Figura 9. *Interacción del haz de electrones con la muestra. Tomado de https://atriainnovation.com/en/blog/scanning-electron-microscopy-uses/*

Esta técnica, y dado que se puede generar una mayor interacción del haz de electrones con los electrones de la muestra, provoca la formación de Rayos X característicos (ver Figura 9). Estos fotones se aprovechan para realizar un análisis elemental mediante espectroscopía de la dispersión de energía de los Rayos X (EDS, por sus siglas en inglés) (Pirozzi *et al.,* 2021).

La caracterización morfológica mediante SEM se realizó con microscopio electrónico marca Carl Zeiss, modelo Supra 55VP, utilizando un voltaje de 2 kV y detector de electrones secundarios. Para el análisis elemental se empleó un detector de espectroscopía dispersiva de energía (EDS) de la marca Oxfort, el análisis se generó usando el detector de electrones retrodispersados (AsB) con un voltaje de 15 kV para el SEM.

Microscopia electrónica de transmisión

La microscopía electrónica de transmisión (TEM, por su acrónimo en inglés) utiliza un haz de electrones que atraviesa una muestra delgada, lo que permite la visualización detallada del interior de la muestra (Malatesta, 2021).

Los electrones transmitidos son captados por un detector y proyectados sobre una pantalla fluorescente, lo que permite obtener imágenes altamente ampliadas. Existen distintos modos de operación en TEM, como la difracción de haz paralelo, haz convergente y de área seleccionada, los cuales proporcionan distintos tipos de información estructural. Esta técnica permite alcanzar resoluciones del orden de 0.1 nm, lo que la convierte en una herramienta poderosa para el análisis de materiales a escala nanométrica. Para su correcto funcionamiento, las muestran deben ser suficientemente delgadas para permitir el paso del haz de electrones. TEM permite determinar características como el tamaño, la morfología, el espaciado interplanar y la estructura cristalina de materiales de dimensiones nanométricas (Yadav *et al.*, 2022).

La caracterización morfológica mediante TEM se realizó con microscopio electrónico marca JEOL, modelo JEM-1400, utilizando un voltaje de 120 kV. Las muestras fueron dispersadas en etanol, colocadas sobre rejillas de cobre recubiertas con película de carbono, y posteriormente secadas antes del análisis.

6.2 Etapa 2. Recolección y caracterización de agua residual de rastro

Se realizó un muestreo del agua residual en julio 2024, al inicio de temporada lluvias, de acuerdo con la NOM-001-SEMARNAT-2021 y la NMX-AA-003-1980, en un rastro de un municipio del Estado de México con capacidad para procesar 80 bovinos diarios. Las muestras fueron recolectadas del sistema de drenaje interno del rastro, tamizadas *in situ* a través de una malla de 5 mm para separar los sólidos de mayor tamaño del ARR y almacenadas a 4°C.

Las determinaciones de alcalinidad, DQO (total y soluble) y sólidos (totales, fijos y volátiles) se llevaron a cabo mediante los Métodos Estándar (APHA-AWWA-WEF, 2018), mientras que el pH se determinó con un medidor de pH (Orion StarTM A211, Thermo Fischer Scientific, USA).

6.3 Etapa 3. Pruebas biopotencial de metano

6.3.1 Primer ensayo

Las variables que se analizaron en el primer ensayo fueron el pretratamiento térmico y la adición de NP (soportadas y no soportadas). Las pruebas BPM se realizaron en botellas serológicas de 120 mL con un volumen útil de 50 mL y una relación volumétrica de sustrato a inóculo de 3:1. Se empleó como inóculo lodo granular anaeróbico proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales de una cervecería, con una concentración de SV de 35.91 g SV/L.

Una vez agregados el sustrato y el inóculo, las botellas fueron selladas con tapones de goma y aros metálicos y posteriormente se purgaron durante un minuto con nitrógeno para garantizar un ambiente anaerobio. Se mantuvieron en un agitador orbital (modelo HNY-100B, Honour Instrument Co., Tianjin, China) a temperatura y agitación constantes (25°C y 100 rpm). Se montaron 6 experimentos, los cuales se realizaron por triplicado, dando las 18 botellas que se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. *Diseño de experimentos del primer ensayo de pruebas BPM con variación en el pretratamiento térmico y las nanopartículas de óxido de hierro.*

VARIABLE		***Nanopartículas***		
		Sin NP	*NP*	*NP soportadas*
Pretratamiento térmico	*Con PT*	ARP-1	ARP-NP-7	ARP-NPS-13
		ARP-2	ARP-NP-8	ARP-NPS-14
		ARP-3	ARP-NP-9	ARP-NPS-15
	Sin PT	ARC-4	ARC-NP-10	ARC-NPS-16
		ARC-5	ARC-NP-11	ARC-NPS-17
		ARC-6	ARC-NP-12	ARC-NPS-18

ARP: Agua Residual Pretratada, ARC: Agua Residual Cruda, NP: nanopartículas, NPS: nanopartículas soportadas, PT: Pretratamiento; BPM: pruebas de biopotencial de metano

El pretratamiento térmico se realizó en una autoclave (Modelo CVQ-B35L, Ecoshel), sometiendo el ARR a 100°C durante media hora (Figura 10). De acuerdo con el diseño de experimentos de la Tabla 6, nueve botellas de la prueba BPM tuvieron como sustrato el ARR pretratada térmicamente, mientras que en las otras nueve el ARR no recibió pretratamiento térmico.

Figura 10. *Autoclave utilizada para el pretratamiento térmico del ARR.*

Para las NP, se utilizó una concentración de 120 mg/L, tanto para las NP soportadas y no soportadas, de acuerdo con lo reportado por Hassanpourmoghadam *et al.* (2023). En la prueba BPM, seis botellas tuvieron NP soportadas, seis botellas tuvieron NP no soportadas, mientras que las seis botellas restantes no tuvieron NP (Tabla 6).

6.3.2 Segundo ensayo

Las variables que se analizaron en el segundo ensayo fueron la adición de NP (soportadas y no soportadas) y la variación en la concentración de éstas (Tabla 7). Las pruebas BPM se realizaron en botellas serológicas de 120 mL con un volumen útil de 80 mL. Como inóculo se empleó lodo granular proveniente de un reactor biológico de la UNAM con una concentración de SV de 21.48 g SV/L.

Las demás condiciones operacionales se mantuvieron iguales al primer ensayo. Se montaron un total de 7 experimentos, los cuales se realizaron por triplicado, dando las 21 botellas que se presentan en la Tabla 8. Las concentraciones de NP analizadas fueron 0, 30, 60 y 120 mg/L, tanto para las NP soportadas y no soportadas.

Tabla 8. *Diseño de experimentos en el segundo ensayo de pruebas BMP con variación en la concentración de nanopartículas de óxido de hierro.*

Concentración de NP (mg/L)	***Tipo de experimento***	***Nomenclatura***		
0	Sin NP	ARC-1	ARC-2	ARC-3
30	NP	ARC-NP/30-4	ARC-NP/30-5	ARC-NP/30-6
	NP soportada	ARC-NPS/30-7	ARC-NPS/30-8	ARC-NPS/30-9
60	NP	ARC-NP/60-10	ARC-NP/60-11	ARC-NP/60-12
	NP soportada	ARC-NPS/60-13	ARC-NPS/60-14	ARC-NPS/60-15
120	NP	ARC-NP/120-16	ARC-NP/120-17	ARC-NP/120-18
	NP soportada	ARC-NPS/120-19	ARC-NPS/120-20	ARC-NPS/120-21

ARC: Agua Residual Cruda, NP: nanopartículas y NPS: nanopartículas soportadas, BPM: pruebas de biopotencial de metano

La producción de biogás obtenida en todas las pruebas BPM (primer y segundo ensayo) se cuantificó diariamente por el método de desplazamiento de líquido (Figura 11). En el primer ensayo se utilizó una disolución salina con pH 2, mientras que en el segundo, NaOH al 3% p/v.

Figura 11. *Montaje empleado para el desplazamiento del biogás producido en las pruebas BPM mediante una solución salina.*

La composición del biogás se determinó por cromatografía de gases (TCD-GC) (Agilent 6890) en una columna capilar HP-PLOT/Q (Agilent) con nitrógeno como gas de arrastre, una vez por semana. El rendimiento específico de metano se calculó en condiciones normales (20°C, 1 atm).

Las pruebas de BPM se consideraron terminadas cuando cesó la producción de biogás, lo cual ocurrió aproximadamente a los 35 días. Una vez alcanzado este punto, se caracterizó el contenido de cada botella con los mismos métodos y parámetros mencionados en la Etapa 2 (excepto alcalinidad), y se midió el ORP con un electrodo (Apera Instruments, modelo 301 PT-C).

- **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó con el programa estadístico Statgraphics Centurion (versión 16.1.03). Inicialmente se determinó si los datos se ajustaban a una distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk, con un intervalo de confianza del 95%.

Posteriormente, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) para verificar si existían diferencias significativas, también con un intervalo de confianza del 95%, cuando se encontró que los datos seguían una distribución normal. En aquellas variables donde se verificaron diferencias significativas, se empleó la prueba de Múltiple Rangos para determinar cuáles medias fueron significativamente diferentes de otras. Mientras que para los datos que no siguieron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, con un nivel de significancia del 0.05. Cuando se encontraron diferencias significativas, se realizó un gráfico de cajas y bigotes con muesca de mediana para determinar que medianas fueron significativamente diferentes de otras.

Capítulo 7

Resultados y discusión

7.1 Caracterización de NP óxido de hierro

7.1.1 Análisis estructural

- **FTIR**

Mediante FTIR se obtuvo el espectro de las NP con y sin soporte. En la Figura 12 se muestran los espectros correspondientes a las NP de óxido de hierro calcinadas a 650, 750 y 850°C, preparadas según la metodología de Jang *et al.* (2022).

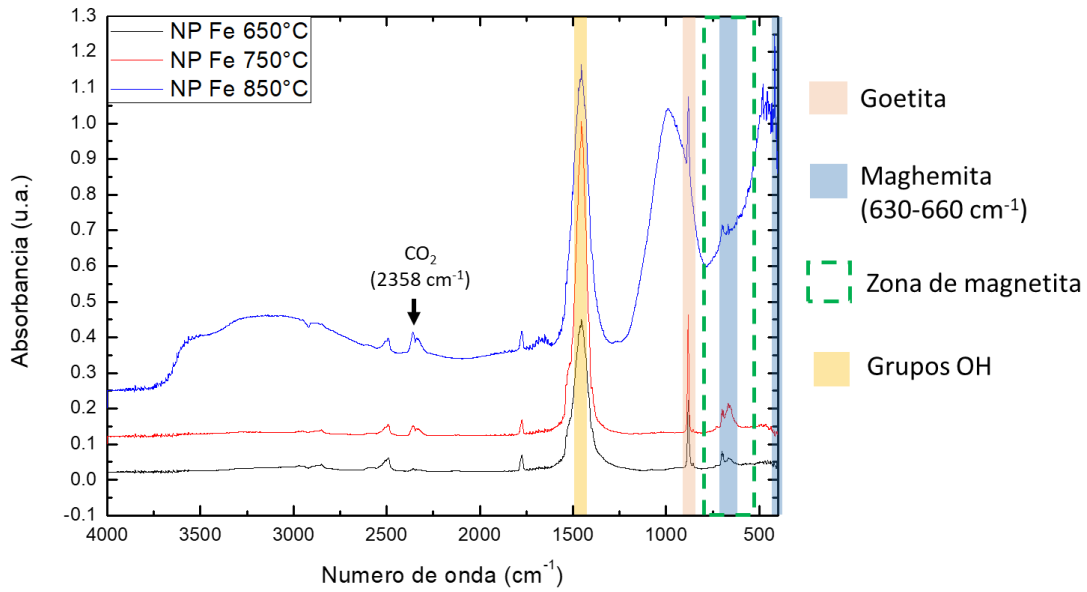


Figura 12. *Espectro de NP de óxido de hierro con diferentes temperaturas de calcinación obtenido mediante FTIR (metodología Jang et al. (2022)).*

En la Figura 12 se observan espectros similares para las muestras calcinadas a 650 y 750°C, mientras que el espectro cambió para la muestra calcinada a 850°C. En todos los espectros se pueden distinguir tres zonas, la primera comprendida entre un número de onda de 630 a 660 cm^{-1}, que corresponde a enlaces de la fase maghemita (Namduri &

Nasrazadani, 2008), la segunda zona comprendida entre 890 y 810 cm^{-1}, la cual está relacionada con enlaces de grupos OH de la fase goetita (Khanam *et al.,* 2022) y la tercera zona que está comprendida entre 579 y 875 cm^{-1} y correspondería a la fase magnetita, de acuerdo con lo reportado por diferentes autores: 579-635 cm^{-1} (Che *et al.,* 2018), a 634, 582 y 397 cm^{-1} (Kahlil, 2015) e inclusive a 476, 519, 688, 743 y 875 cm^{-1} (Takai *et al.,* 2019). La banda 1454 cm^{-1} corresponde al grupo OH, esto es cercano a lo que obtuvieron Winiarczyk *et al.* (2021) quienes la reportan a 1422 cm^{-1}.

Finalmente, en los materiales calcinados a 750°C y 850°C se encontró la presencia de una banda a 2358 cm^{-1} correspondiente a la adsorción de CO_2 (Khanam *et al.,* 2022). Es importante mencionar que solo en la muestra calcinada a 850°C se observó una banda ancha entre 2700 y 3800 cm^{-1}, correspondiente a enlaces OH de la molécula de H_2O (Winiarczyk *et al.,* 2021).

El espectro del nanomaterial con soporte se presenta en la Figura 13, donde resaltan las bandas del óxido de hierro con fase goetita (431 y 809.32 cm^{-1}), la fase maghemita (667.67 y 418.56 cm^{-1}) y la fase magnetita (691.6, 551.17, 521.86 y 466.18 cm^{-1}) a los mismos números de onda que ya se describieron antes para las NP sin soporte.

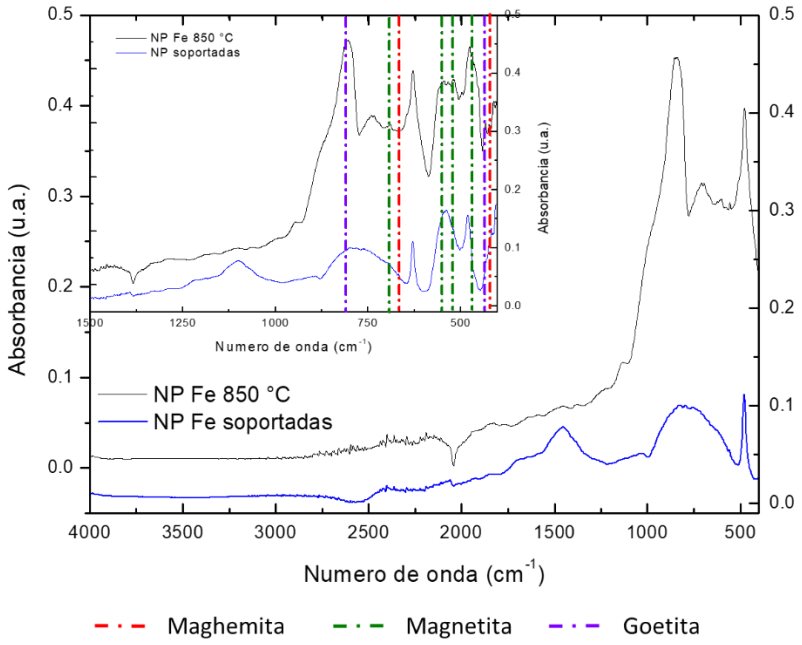


Figura 13. *Espectro de NP de óxido de hierro con soporte obtenido mediante FTIR (metodología Jang et al. (2022)).*

Los espectros de las NP de óxido de hierro (con y sin soporte) sintetizadas mediante la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023) se muestra en la Figura 14.

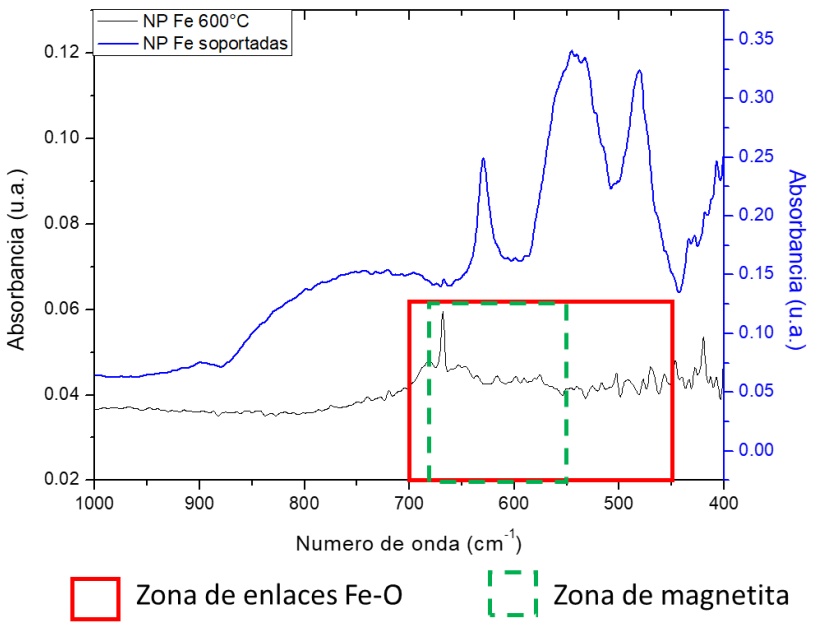


Figura 14. *Espectro de NP de óxido de hierro con y sin soporte obtenido mediante FTIR (metodología Brahmbhatt et al. (2023)).*

La banda correspondiente al enlace Fe-O se encuentra a 667 cm^{-1} para la fase magnetita, esto de acuerdo con diferentes autores, como se describió anteriormente. Las variaciones en las bandas del enlace de Fe-O se deben a diferentes parámetros tales como el método de síntesis, los materiales empleados y la temperatura de calcinación (Khaman *et al.*, 2024).

Con respecto a las NP con soporte, las bandas 630, 543.47 y 481 cm^{-1} se identificaron como el enlace de Al-O. Este resultado es similar a los hallazgos de Hajdúchová (2018), quienes encontraron bandas para la alúmina alfa en 641, 604, 488 y 457 cm^{-1}, mientras que Prashanth *et al.* (2015) documentan la banda correspondiente al enlace Al-O en 577 cm^{-1}.

- **XRD**

En la Figura 15 se presentan los difractogramas obtenidos mediante la técnica de XRD de las NP de óxido de hierro con y sin soporte obtenidas con la metodología de Jang *et al.* (2022). Para este análisis se usaron cuatro fichas cristalográficas estándar: JCPDS 33-0664 (hematita), JCPDS 8-97 (goetita), JCPDS 39-1346 (maghemita) y JCPDS 00-019-0629 (magnetita).

Se observa que no se obtuvo la fase completa de magnetita mediante la síntesis de NP a partir de esta metodología, sino que se observó una combinación de fases que incluyó maghemita, goetita, hematita y magnetita, tal y como ya se reportó en el análisis por FTIR (Figura 12). Los planos sobresalientes de cada una de estas fases se muestran en la Tabla 9.

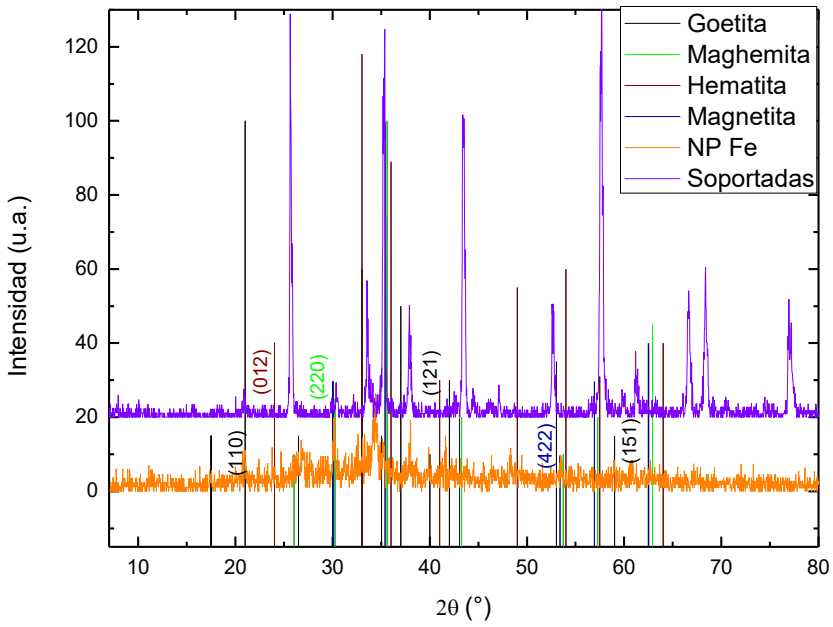


Figura 15. *Difractogramas de NP de óxido de hierro con y sin soporte (metodología Jang et al. (2022)).*

Tabla 9. *Fases identificadas en las NP de óxido de hierro sintetizadas por la metodología de Jang et al. (2022).*

Fase	***Ángulo (2θ)***	***Plano cristalográfico***
Goetita	20.7°	(110)
	39.98°	(121)
	58.93	(151)
Hematita	24.07°	(012)
Maghemita	30.32°	(220)
Magnetita	53.66°	(422)

De igual forma, en el difractograma de las NP soportadas en Al_2O_3 se observan los picos correspondientes a la fase maghemita y la fase goetita, así como los planos característicos de la α-Al_2O_3 los cuales son (012), (104), (110), (113), (024), (116), (214) y (300) en los grados 25.59°, 35.14°, 37.78°, 43.36°, 52.55°, 57.52°, 66.55° y 68.2°, respectivamente, esto de acuerdo con la ficha cristalográfica JCPDS 46-1212.

El tamaño de las NP cristalinas de óxido de hierro (D) se calculó usando la ecuación de Scherrer (Bagheri *et al.,* 2023):

$$D = \frac{0.9\,\lambda}{\beta\, Cos\ \theta} \qquad (5)$$

Donde θ es el ángulo de difracción, β es el ancho total a la mitad del máximo del respectivo pico (FWHM, por sus siglas en inglés) y λ es la longitud de onda de la fuente de Rayos X. Se determinó que el tamaño de NP es de 10.54 nm.

Los difractogramas de las NP preparados con la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023) se presentan en la Figura 16.

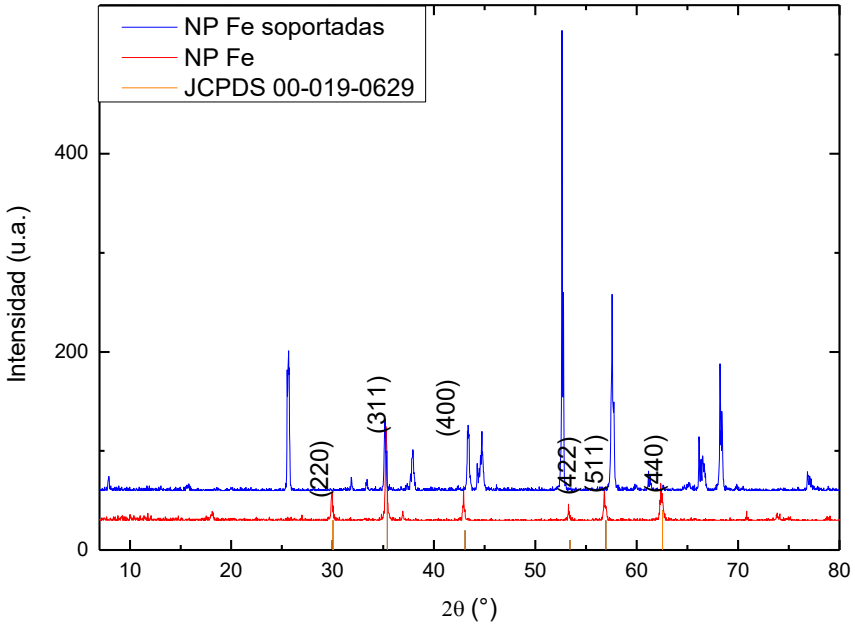


Figura 16. *Difractogramas de NP de óxido de hierro con y sin soporte (metodología Brahmbhatt et al. (2023)).*

Los planos sobresalientes son (220), (311), (400), (422), (511) y (440) en los grados 30.04°, 35.41°, 43.06°, 53.41°, 56.95° y 62.53°, respectivamente. De acuerdo con la ficha cristalográfica JCPDS 00-019-0629, la estructura cristalina obtenida corresponde al óxido de hierro fase magnetita con estructura espinela cúbica inversa. Mediante la ecuación de Scherrer se determinó que el tamaño de NP fue 43.91 nm.

Para las NP soportadas en α-Al_2O_3 se identificaron los picos característicos con la ficha cristalográfica JCPDS 46-1212, tal como se mencionó anteriormente. El plano que sobresalió de las NP de óxido de hierro en el material soportado fue el (311), en comparación con los otros planos que no se observan en el difractograma de las NP no soportadas.

Con base en los resultados obtenidos en el análisis estructural de las NP, se concluyó que la metodología por Brahmbhatt *et al.* (2023) es la más adecuada para emplearse en este trabajo, ya que permite obtener la fase magnetita a una temperatura de calcinación de 600°C, significativamente menor en comparación con la metodología de Jang *et al.* (2022), la cual requiere una temperatura de 850°C para lograr la misma fase. Esta diferencia

representa una ventaja importante desde el punto de vista energético y de eficiencia del proceso.

7.1.2 Análisis fisicoquímico

- **TPR**

La Figura 17 muestra los perfiles de reducción programada de temperatura de las NP de óxido de hierro por la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023). El primer pico a 300°C corresponde a la reducción de Fe_2O_3 a Fe_3O_4, el segundo pico a 650°C corresponde a la reducción de Fe_3O_4 a Fe^0. Según Jozwiak *et al.* (2007), la fase hematita se encuentra antes de los 400°C, la fase magnetita se encuentra desde los 300°C y 600°C, el FeO se ubica desde los 400°C, y el Fe desde los 600°C. Estos resultados son cercanos a lo obtenido mediante esta metodología.

Con base en estos resultados, se puede concluir que la magnetita se forma como fase intermedia en el proceso de reducción y es predominante antes de alcanzar temperaturas superiores a los 600°C. Por tanto, si el tratamiento térmico se detiene antes del segundo pico, es posible asegurar que la fase mayoritaria corresponde a la magnetita, lo que concuerda con los resultados del análisis estructural presentados en la sección anterior

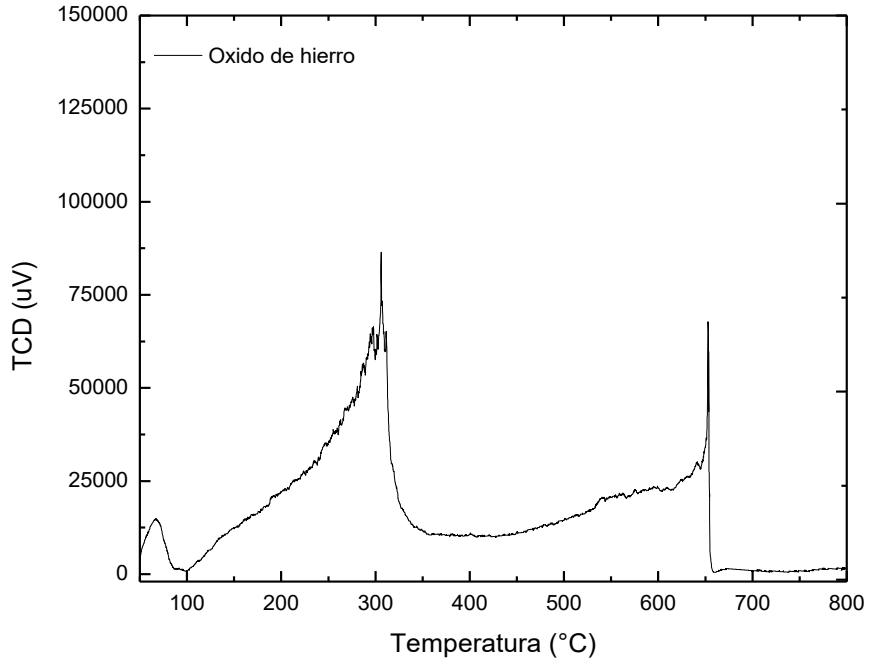


Figura 17. *Perfil de TPR de NP de óxido de hierro (metodología Brahmbhatt et al. (2023)).*

7.1.3 Análisis morfológico y composición química

- **SEM/EDS**

La morfología de las NP de óxido de hierro (con y sin soporte) sintetizadas por la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023) se obtuvo mediante SEM (Figura 18). Se observaron diferentes morfologías y tamaños para las NP sin soporte, donde estas presentan zonas donde se aglomeraron en una especie de clústers irregulares (Figura 18 a).

Mientras que con las NP soportadas se observó una morfología tipo angular para el soporte de alúmina (Tshimanga *et al.,* 2021) y la presencia de las NP sobre este correspondería a las zonas blancas o brillantes con forma de pequeños aglomerados (Figura 18 b).

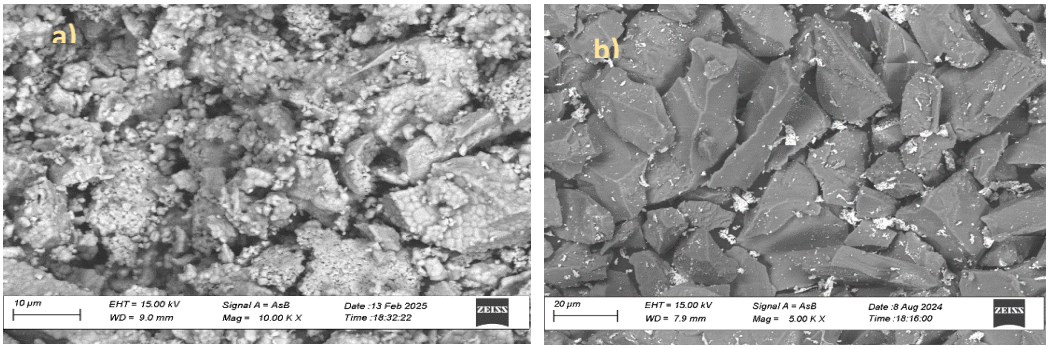
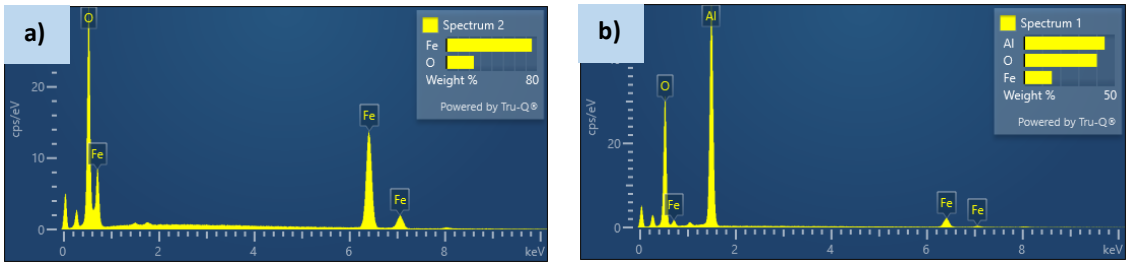


Figura 18. *Micrografías de SEM de las NP de óxido de hierro: a) sin soporte, b) con soporte.*

En la Figura 19 se indica el porcentaje en peso obtenido mediante SEM/EDS para los materiales sintetizados por la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023). Para las NP no soportadas se obtuvo un porcentaje en peso de 24.43% para el oxígeno y 75.57% para el hierro. Para las NP soportadas se obtuvieron 40.19%, 44.44% y 15.37% para el oxígeno, aluminio y hierro, respectivamente.



c)

Composición elemental		
Elemento	*% en peso*	*% atómico*
O	*24.43*	*53.02*
Fe	*75.57*	*46.98*
Total	*100*	*100*

d)

Composición elemental		
Elemento	*% en peso*	*% atómico*
O	*40.19*	*56.65*
Al	*44.44*	*37.14*
Fe	*15.37*	*6.21*
Total	*100*	*100*

Figura 19. *Análisis EDS: a) Espectro y c) composición elemental de las NP sin soporte, b) Espectro y d) composición elemental de las NP con soporte.*

En la Figura 20 se muestra el mapeo con EDS para determinar la distribución elemental para las NP con y sin soporte obtenidas con la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023). Para el caso de las NP no soportadas (Figura 20 a), no se observó presencia de hierro elemental, en su lugar, se encontró en forma oxidada. Para las NP soportadas (Figura 20 b), se muestra que las NP de hierro se encuentran de manera uniforme en todo el soporte. Además, se identificaron regiones donde las NP de hierro se encuentran aglomeradas.

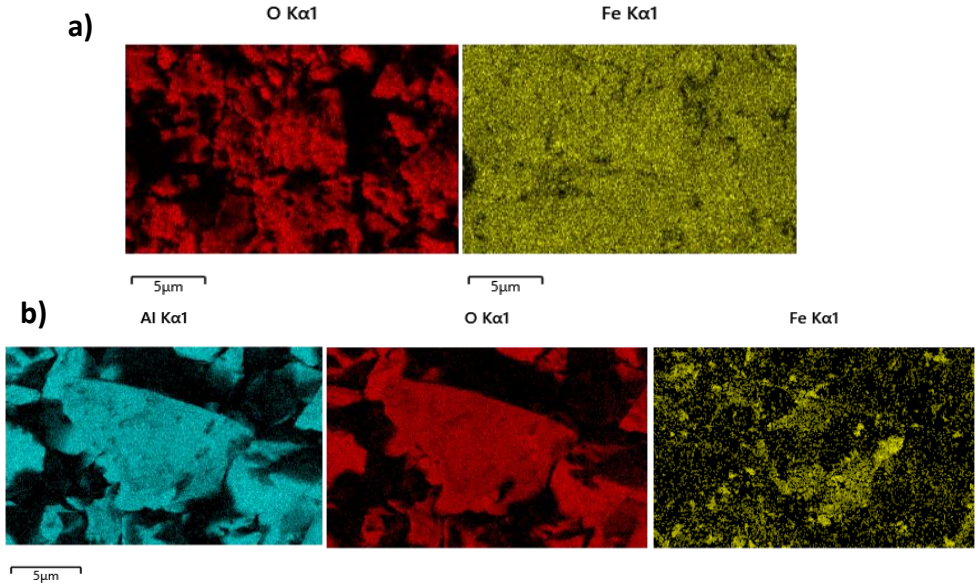


Figura 20. *Mapeo elemental mediante EDS de las NP de óxido de hierro: a) sin soporte, b) con soporte.*

- **TEM**

En la Figura 21 se muestran las micrografías obtenidas por TEM de las NP de óxido de hierro por la metodología de Brahmbhatt *et al.* (2023). En la Figura 21 a con una escala de 50 nm, se observa la distribución general de las NP, así como una primera aproximación a su morfología y tendencia a la aglomeración. Por su parte, la Figura 21 b presenta una ampliación correspondiente a una escala de 20 nm, que permite visualizar con mayor precisión la forma individual de las NP. A esta resolución, es posible estimar que las NP presentan una morfología esférica y tamaños en el rango de 8.66 nm.

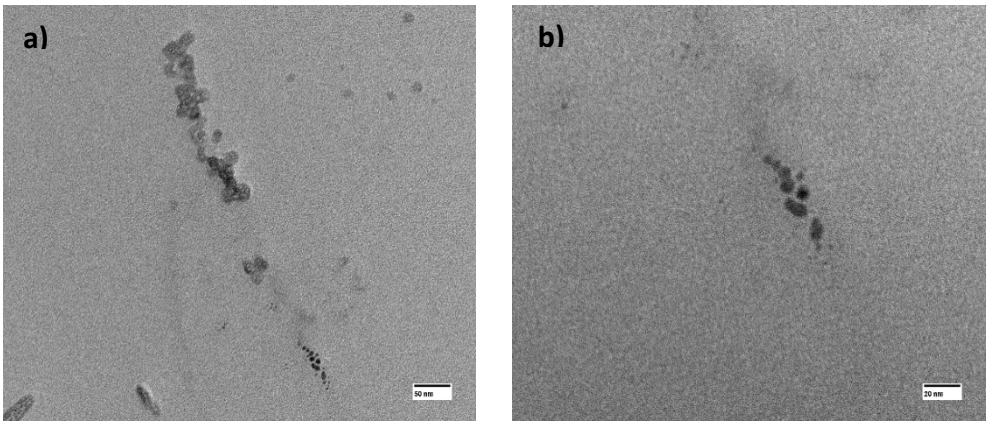


Figura 21. *Micrografías de TEM de las NP de óxido de hierro: a)escala de 50 nm, b) escala de 20 nm.*

7.2 Caracterización del agua residual de rastro

En la Tabla 10 se muestran la caracterización fisicoquímica del ARR y agua residual pretratada térmicamente (ARP) utilizadas en este estudio. Estos sustratos tuvieron pH neutro, adecuado para la digestión anaerobia (Wang *et al.,* 2018).

Tabla 10. *Caracterización del agua residual de rastro cruda (ARC) y pretratada térmicamente (ARP).*

	Tipo de agua residual	
Parámetro	**ARC**	**ARP**
pH	7.03	7.89
ST	7.24 ± 0.024	3.14 ± 0.01
SF	4.26 ± 0.008	2.42 ± 0.02
SV	2.98 ± 0.02	0.72 ± 0.012
DQO_T	6.05 ± 0.34	7.3 ± 0.013
DQO_S	4.4 ± 0.034	1.9 ± 0.088

Todos los parámetros se reportan en g/L (excepto pH)

Se observaron valores de DQO_T, sólidos totales, fijos y volátiles altos, los cuales son característicos del ARR y que se encuentran dentro del rango reportado por diversos autores para este tipo de residuos (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2017; Bonadiman *et al.,* 2024; Rouland *et al.,* 2024).

En la literatura son escasos los estudios que incluyen caracterizaciones de ARR bovino. Por ejemplo, Wu & Mittal (2012) llevaron a cabo un estudio en Ontario, Canadá sobre la caracterización de diferentes ARR según el animal de origen. En el caso del ARR bovino, reportaron una DQO de 50.66±8.38 g/L, de ST de 15.69±.65 g/L y pH de 7.0±0.4. Por su parte, Ziara *et al.* (2018) estudiaron dos muestras de ARR bovino en Estados Unidos, obteniendo valores de pH de 7.9±0.9 y 7.4±1.1, así como concentraciones de ST y SV fue de 4973±2526 y 2767±510 mg/L, y 3515±2053 y 2058±1168 mg/L, respectivamente.

Cabe mencionar que un factor importante de la composición de las ARR es el tipo y cantidad de animales sacrificados (Bonadiman *et al.,* 2024). Según Wu y Mittal (2012), parámetros como la DQO, los SV, los nutrientes y la cantidad de contaminantes microbianos se pueden ver afectados, además, por los procesos que se lleven a cabo en el rastro. De esta manera, la composición de las ARR bovino depende de las diversas prácticas que se lleven a cabo en el proceso de sacrificio, puesto que pueden agregar al ARR heces, orina, sangre, pelusa, alimentos no digeridos, patógenos microbianos, productos farmacéuticos, desinfectantes, carne suelta y material en suspensión (Ng *et al.,* 2022).

De acuerdo con Pereira *et al.* (2016), la sangre presente en estas aguas residuales contribuye al alto contenido de nutrientes y materia orgánica. Esto es equivalente, en el caso de una vaca sacrificada, a la carga de efluente de agua residual producida por 50 personas en un día promedio (Al-Najar & Nassar, 2019). Además, Bonadiman *et al.* (2024) caracterizaron aguas residuales de distintas fuentes de animales y encontraron que los mataderos bovinos presentan las concentraciones más altas de DQO y ST.

Con respecto a la relación DQO_S/DQO_T, el ARC tuvo un valor de 0.73, lo que indica un mayor contenido de materia orgánica disuelta en comparación con el ARP, que presentó un valor de solo 0.26. Este resultado reflejaría que la ARP tuvo una reducción de casi el 50% en materia orgánica soluble con respecto al ARC (Pirsaheb *et al.,* 2015). Por su parte, la relación de SV/ST para el ARC fue de 0.41, mientras que para el ARP fue de 0.23, aproximadamente la mitad en comparación con el ARC.

Estos resultados son comparables con los de Hernández-Fydrych *et al.* (2019), quienes también utilizaron como sustrato ARR bovino proveniente del mismo rastro que este trabajo y reportaron valores para la relación SV/ST entre el 70 y 80%, mientras que la relación DQO_S/DQO_T estuvo entre 40 y 88%. Además, Aguilar-Moreno *et al.* (2020) usaron como sustrato estiércol de pollos y su ensayo control tuvo valores de SV/ST de 56.4%

Otro resultado que vale la pena analizar es el cambio en las relaciones de DQO_S/DQO_T y SV/ST encontrado entre el ARC y el ARP, el cual podría deberse probablemente a la ocurrencia de las reacciones de Maillard durante el pretratamiento térmico. Estas consisten en reacciones químicas no enzimáticas entre aminoácidos y azúcares que ocurren durante el calentamiento, las cuales modifican el sabor, color y la biodisponibilidad de la materia orgánica (Wang *et al.,* 2021; Zhang *et al.,* 2020). Un ejemplo es la formación de melanoidinas, compuestos resultantes de la condensación de productos intermedios de la reacción entre aminoácidos y azúcares, las cuales generan un color marrón característico (Martins *et al.,* 2000; Balasundaram *et al.,* 2023; Wang *et al.* 2021).

Los productos de las reacciones de Maillard disminuyen la biodegradabilidad de la materia orgánica debido a la formación de compuestos tóxicos y/o recalcitrantes, con estructuras complejas que reducen la digestibilidad de las proteínas e inhiben la actividad enzimática (Joubran *et al.,* 2017; Moscovici *et al.,* 2014; Rodríguez-Abalde *et al.,* 2011). Estas reacciones afectan significativamente a la DA, lo que reduce el rendimiento en la producción de metano (Zhang *et al.,* 2020). Además, dependen de la temperatura y el pH, y se ha observado que ocurren a temperaturas de 100°C o menores (Martins and Boekel, 2005; Ajandouz *et al.*, 2008).

Debido a la posible ocurrencia de estas reacciones en el AR durante el pretratamiento térmico, la biodisponibilidad de la materia orgánica en el ARP se pudo ver afectada. La Figura 22b muestra un color marrón en el ARP luego del pretratamiento térmico, lo cual podría ser indicativo de la formación de meloidinas en las reacciones de Maillard.

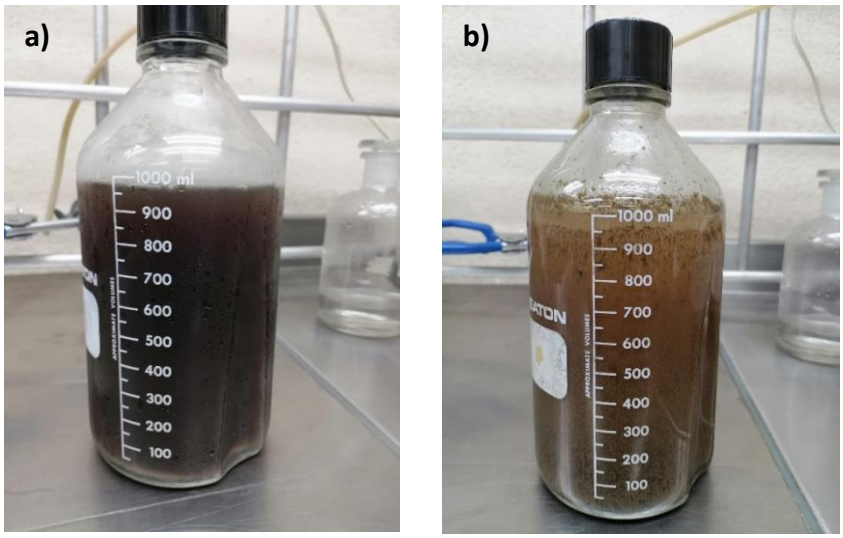


Figura 22. *ARR a) antes del pretratamiento térmico, b) después del pretratamiento térmico.*

En resumen, la muestra con mayor materia orgánica potencialmente biodegradable fue el ARC, mientras que el ARP presentó valores entre un 20% y 50% menores en comparación del ARC debido a un probable efecto negativo de las reacciones de Maillard en la biodisponibilidad de la materia orgánica.

7.3 Primer ensayo de las pruebas de biopotencial de metano

7.3.1 Caracterización inicial

Una vez realizado el montaje de las botellas para las pruebas BPM de acuerdo con el diseño de experimentos de la Tabla 7, se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica inicial para cada experimento, según lo descrito en la sección 6.3.1. Los resultados se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11. *Caracterización de las botellas al inicio del experimento*

	Botellas					
Parámetro	**ARC**	**ARC-NP**	**ARC-NPS**	**ARP**	**ARP-NP**	**ARP-NPS**
pH	7.72	7.61	7.69	7.47	7.65	7.55
ORP (mV)	-445	-354	-308	-312	-309	-356
Alcalinidad (mg/L $CaCO_3$)	500.295	533.025	608.202	512.5	490.085	535.19
ST (g/L)	23.47 ± 0.73	23.47 ± 0.73	23.47 ± 0.73	23.82 ± 0.11	23.82 ± 0.11	23.82 ± 0.11
SF (g/L)	5.12 ± 0.60	5.12 ± 0.60	5.12 ± 0.60	5.05 ± 0.58	5.05 ± 0.58	5.05 ± 0.58
SV (g/L)	18.11 ± 0.07	18.11 ± 0.07	18.11 ± 0.07	21.35 ± 2.65	21.35 ± 2.655	21.35 ± 2.655
DQOs (g/L)	2.98 ± 0.02	2.08 ± 0.07	1.9 ± 0.11	1.42 ± 0.04	0.87 ± 0.01	0.87 ± 0.01

Al inicio todas las botellas presentaron un pH cercano a la neutralidad, el cual es adecuado para la DA (Wang *et al.,* 2018). En cuanto a los valores de ORP, se encontró que fueron negativos, lo que evidenció un ambiente anaerobio, en el cual predominaron condiciones reductoras (Li *et al.,* 2019).

Con respecto a la alcalinidad, los valores obtenidos (500-600 mg/L $CaCO_3$) fueron adecuados para mantener la estabilidad del proceso, ya que fue posible amortiguar posibles variaciones del pH y evitar la inhibición de los microorganismos metanogénicos (Gyadi *et al.,* 2024). Estos resultados sugieren que las condiciones iniciales fueron propicias para la actividad microbiana.

La concentración de materia orgánica se evaluó mediante la medición de SV y DQO_S. Los valores de SV fueron semejantes en todas las botellas, lo que indica que la cantidad de materia orgánica total fue similar entre los experimentos. Sin embargo, los valores de DQO_S en los ensayos con PT difieren de los obtenidos en los ensayos de ARC.

Como se mencionó en la sección anterior (7.2), la relación DQO_S/DQO_T es menor en el PT en comparación con el ARC, lo que sugiere una menor disponibilidad de materia orgánica para la producción de metano. Esta reducción en la materia orgánica podría estar relacionada con las reacciones de Maillard, descritas previamente.

7.3.2 Evaluación de la digestión anaerobia

Los resultados de las caracterizaciones de las botellas al finalizar la prueba BPM se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12. *Caracterización de las botellas al final del experimento.*

	Botellas					
Parámetro	**ARC**	**ARC-NP**	**ARC-NPS**	**ARP**	**ARP-NP**	**ARP-NPS**
pH	6.99	7.15	7.07	6.94	6.94	7.01
ORP (mV)	-354 ± 2.00	-496 ± 5.00	-354 ± 3.00	-352.5 ± 0.50	-352.5 ± 0.50	-327 ± 1.00
ST (g/L)	19.93 ± 0.68	24.70 ± 0.59	25.65 ± 0.66	25.88 ± 0.50	25.88 ± 0.50	15.48 ± 0.73
SF (g/L)	4.70 ± 0.18	5.12 ± 0.01	5.19 ± 0.25	5.09 ± 0.19	5.09 ± 0.19	4.73 ± 0.17
SV (g/L)	15.33 ± 0.73	19.58 ± 0.58	20.27 ± 0.63	20.54 ± 0.47	20.54 ± 0.47	10.86 ± 0.78
DQOs (g/L)	0.44 ± 0.03	0.56 ± 0.04	0.79 ± 0.04	0.71 ± 0.01	0.71 ± 0.01	0.65 ± 0.03

Para entender mejor el efecto del pretratamiento térmico y la adición de las NP en el proceso de digestión anaerobia del agua de rastro, se dividirá su análisis en dos secciones.

- **Influencia del pretratamiento térmico**

Todas las botellas tuvieron una ligera disminución del pH en comparación con el inicio de las pruebas, manteniendo un valor cercano a la neutralidad, lo que indica que la DA fue un proceso estable (Gyadi *et al.,* 2024).

El contenido de materia orgánica, medida como DQO soluble y SV, disminuyó en todas las muestras en comparación con los valores iniciales del experimento. Sin embargo, los experimentos con ARC tuvieron una mayor remoción (60-80% de DQO_s y 15-26% SV) en contraste con ARP, donde la remoción fue menor (20-68% de DQO_s y 12-19% SV). Una posible explicación para este resultado se puede deber a que durante el PT la materia orgánica se polimerizó debido las reacciones de Maillard, que, como se mencionó en la sección 7.2, provocó que el sustrato fuera más difícil de degradar por los microorganismos anaerobios.

En ese sentido, Ajandouz *et al.* (2008) estudiaron el pretratamiento térmico (60-100°C) de soluciones de glucosa, albúmina de suero bovino (ASB), caseína, glucosa-ASB y glucosa-caseína y encontraron que el PT a temperaturas iguales o menores a 100°C puede llegar a obtenerse compuestos recalcitrantes (principalmente para la ASB), debido a reacciones de Maillard, afectando la biodisponibilidad de la materia orgánica.

El resultado de remoción de materia orgánica con el agua pretratada térmicamente está en contradicción con Hernández-Frydych *et al.* (2019), quienes obtuvieron una mayor producción de metano con el PT. Sin embargo, en ese estudio estos autores obtuvieron dos fases: un semisólido y agua pretratada, mientras que en el presente trabajo no se observó dicha separación (como se ilustró anteriormente en la Figura 22). En dicho estudio, la materia orgánica se concentró principalmente en el semisólido, el cual fue utilizado como sustrato para las pruebas de BPM, mientras que en el presente estudio se empleó el agua pretratada en su totalidad.

De los resultados de esta sección puede inferirse que el pretratamiento térmico tuvo una influencia negativa en la remoción de materia orgánica debido probablemente a que este aumentó el contenido de materiales recalcitrantes, dificultando su degradación por parte de los microorganismos anaerobios.

- **Influencia de la incorporación de NP de óxido de hierro**

Recapitulando los resultados de la caracterización de las NP (sección 7.1), se confirmó que las nanopartículas de óxido de hierro obtenidas corresponden a la fase magnetita. A partir de este momento, cualquier mención a las NP de óxido de hierro hará referencia a esta fase.

En el primer ensayo se encontró que los experimentos con NP (con y sin soporte) tuvieron potenciales rédox más negativos en comparación de los ensayos sin NP, lo que

sugiere un ambiente más favorable para la actividad de los microorganismos metanogénicos y, a su vez, una posible mayor estabilidad en el proceso de DA.

Por su parte, las concentraciones de DQO_S y SV disminuyeron en todos los ensayos con nanopartículas (con y sin soporte) al finalizar las pruebas BPM (Tabla 12), entre 58% y 73% para la DQO y 22 % y 24 % para los SVT, respectivamente. Diversos estudios (Ziganshina *et al.,* 2021; Aguilar-Moreno *et al.,* 2020; Baek *et al.,* 2019) indican que la DIET es el principal mecanismo de intercambio de electrones entre especies en la DA, facilitando la conversión de materia orgánica en metano.

El uso de NP de óxido de hierro estimula esta transferencia de electrones, mejorando el proceso de DA. Kato *et al.* (2012) sugieren que la transferencia de electrones de célula a célula es mediada por materiales conductores no biológicos como el óxido de hierro. Además, indican que su adición favorece la metanogénesis al fortalecer la relación sintrófica entre *Geobacter* y *Methanosarcina*, optimizando la transferencia de electrones.

Zhao *et al.* (2018) estudiaron la influencia de nanopartículas de hierro zerovalente y óxido de hierro en la DA de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales. Utilizaron una concentración de 10 g/L de NP de óxido de hierro y compararon sus efectos con un ensayo control sin NP. Los resultados indicaron que la adición de NP incrementó la remoción de los sólidos suspendidos volátiles en un 47.4%, mientras que en el control solo se logró una remoción del 34.5%.

La adición de NP en procesos de la digestión anaerobia también promueve el crecimiento microbiano, mejora la eficiencia de la degradación de materia orgánica, así como el rendimiento de producción de biogás, por este motivo las NP han resultado fascinantes en los procesos de DA (Kumar *et al.,* 2023).

Los experimentos con NP mostraron un mejor desempeño en la remoción de materia orgánica que los controles, evidenciado por mayores porcentajes de eliminación de DQO y SV, lo que indica que las NP contribuyeron positivamente al proceso. Estos beneficios pueden atribuirse a los mecanismos previamente descritos, como la mejora en el ambiente rédox y la facilitación de la DIET, los cuales en conjunto favorecieron las etapas clave de la DA.

En resumen, los resultados obtenidos con respecto a la remoción de materia orgánica respaldan el potencial de las NP de óxido de hierro como una estrategia eficiente para optimizar la DA de aguas residuales con alta carga orgánica.

7.3.3 Cinéticas de producción de metano acumulado

Las curvas de rendimiento de metano acumulado (ml CH_4/ g SV) bajo condiciones normales (20° C y 1 atm) junto con los modelos modificados de cinética de primer orden y Gompertz se muestran en la Figura 23. En el *Anexo 2* se muestran las gráficas de volumen de biogás y metano acumulados.

La Figura 23 muestra que la producción acumulada de metano en todos los experimentos siguió una curva sigmoidal, la cual corresponde una cinética de primer orden (Zhang *et al.,* 2021). Este tipo de cinética considera que la producción de metano es proporcional a la cantidad de materia orgánica biodegradable disponible y no está limitada por la cantidad de microorganismos (Fernández-Rodríguez *et al.*, 2024).

Esto significa que la eficiencia del sistema depende directamente de la concentración inicial del sustrato y que la velocidad de conversión disminuye a medida que la materia se va agotando. Esta información es útil para estimar los tiempos de retención óptimos, dimensionar reactores anaerobios y predecir el comportamiento del sistema bajo diferentes condiciones operacionales (Srividhya & Schnell, 2006).

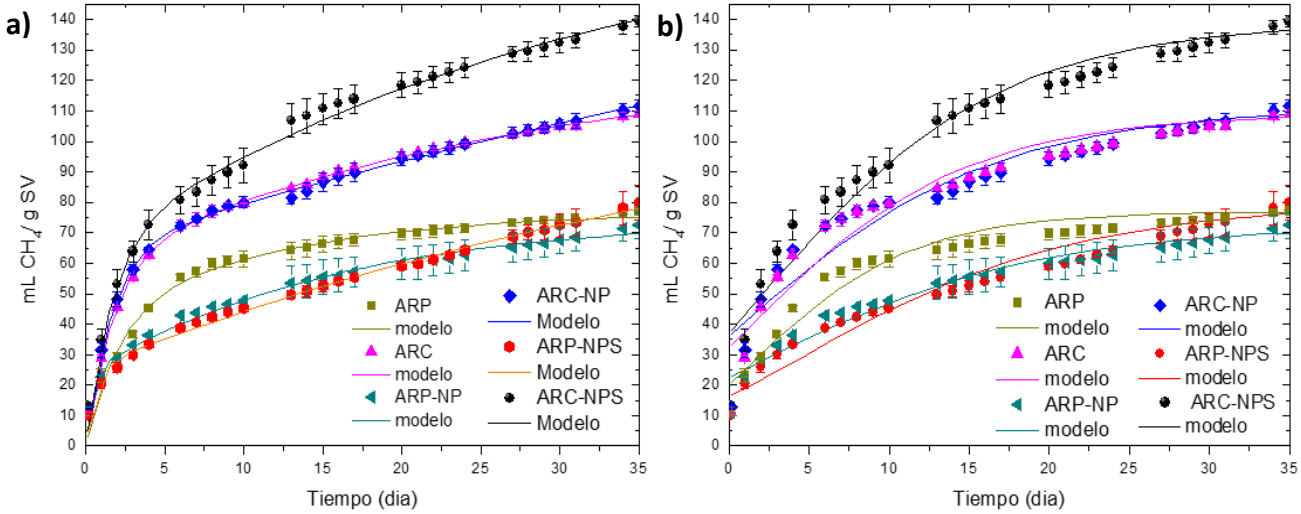


Figura 23. *Cinéticas de producción acumulada de metano vs tiempo (día) para los 6 experimentos (puntos), a) modelo cinético de primer orden modificado (línea continua) y b) modelo de Gompertz (línea continua).*

- **Influencia del pretratamiento térmico**

En los ensayos con el pretratamiento térmico (ARP, ARP-NP y ARP-NPS) se observó una disminución del rendimiento del metano entre 26.71% y 33.51%, en comparación con el control (ARC), como se observa en la Figura 23.

Como se mencionó anteriormente, en los ensayos de PT se observó una menor proporción de materia orgánica biodisponible, con valores entre un 20 y 50% menores en comparación con el ARC debido probablemente a las reacciones de Maillard, afectando el rendimiento de metano. Esto provocó que los ensayos con PT tuvieran una disminución en el rendimiento metano.

Este resultado concuerda con los hallazgos de Cuetos *et al.* (2010), quienes evidenciaron la presencia de compuestos refractarios para las muestras pretratadas térmicamente a una temperatura de 133°C durante 20 minutos y a una presión de 3 bar, las cuales afectaron el rendimiento del biogás un 9.38% con respecto al control.

Rodríguez-Abalde *et al.* (2011) usaron como sustrato desechos avícolas y PT de 70°C por una hora, donde encontraron una disminución de producción de metano en un 43.8% en comparación del control. Los autores atribuyeron este hecho a la posible aparición de reacciones de Maillard, las cuales disminuyeron la biodisponibilidad y aumentaron la concentración de carbohidratos en el sustrato.

Nazari *et al.* (2017) probaron diferentes condiciones de temperatura y tiempos (40-80°C, con tiempos de pretratamiento de 1 a 5 h) y reportaron que 80°C es la temperatura óptima para el tratamiento térmico de lodos biológicos, ya que se observó una mayor solubilización de DQO y SV. Sin embargo, se registró una disminución 33% en la producción de metano, lo que se atribuye a la generación de compuestos recalcitrantes, afectando negativamente el proceso. Las diferencias en la composición macromolecular, como proteínas y carbohidratos, entre los diferentes tipos de lodo pueden generar resultados variables en la eficiencia de la DA.

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que el ARP no resultó ser un sustrato adecuado para la producción de metano, en comparación con el ARC. La menor producción de metano observada en los ensayos con ARP sugiere que el pretratamiento térmico favoreció la formación de compuestos recalcitrantes, lo que limitó la disponibilidad de materia orgánica biodegradable. Por lo tanto, no se recomienda la aplicación de este pretratamiento, ya que puede afectar negativamente el rendimiento del proceso de DA.

- **Influencia de la incorporación de NP de óxido de hierro**

Las NP soportadas contribuyeron a una mayor producción de metano, tal como se ilustra en la Figura 23. La producción máxima de metano acumulada fue de 139.33 mL CH_4/g SV para el ARC-NPS mientras que para el ARC fue de 109.04 mL CH_4/g SV. Estos ensayos tuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.0365$, 95% de confianza), donde el incremento fue del 27.78%.

Dentro de los factores clave que habrían influenciado la mejora en la producción de metano en la DA se encuentran la actividad enzimática, la transferencia de electrones y la reducción de dióxido de carbono (Li *et al.,* 2019).

Noonari *et al.* (2019) indican que los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} de la magnetita ayudan a aumentar la producción de biogás y metano porque son necesarios para el crecimiento de microorganismos anaerobios. Además, durante la etapa de metanogénesis, las NP de magnetita pueden estimular la DIET entre bacterias fermentadoras y metanógenos, lo que resulta en una mayor producción de metano (Zhong *et al.,* 2022).

Cheng *et al.* (2020) observaron un enriquecimiento de *Syntrophomonas* y *Methanosarcina* en presencia de NP de óxido de hierro y concluyeron que el aumento de biometano se podría deber a la relación sintrófica de ambos microorganismos a través de la DIET.

Adicionalmente, las nanopartículas soportadas lograron una mayor producción en comparación con las que no tenían soporte. Uno de los factores que pudo haber contribuido con este aumento en la producción de metano fue que las NP con soporte permitieron una mejor dispersión de las NP, lo cual podría haber incrementado la superficie activa disponible para la interacción con los microrganismos.

Aunque no se cuenta con caracterización por TEM del material soportado, las imágenes de TEM de las NP sin soporte revelaron tamaños promedio del orden de 8.66 nm, lo que indica que ya de por sí presentan una alta relación superficie-volumen. Al ser depositadas sobre un soporte, es razonable suponer que se evitó su aglomeración, favoreciendo una mayor exposición de la superficie activa.

Cabe señalar que la alúmina resultó ser un buen material de soporte de las NP de óxido de hierro, pues no afectó la actividad metabólica de los microorganismos. En este sentido, González-Estrella *et al.* (2013) realizaron pruebas de BPM con una concentración de 1500 mg/L de Al_2O_3, evidenciando que los microorganismos metanogénicos no se inhiben con altas concentraciones de dicho material. Además, Zhao *et al.* (2023) también demostraron que la alúmina no causa inhibición en las pruebas de BPM y que puede ser un buen soporte para el proceso de DA.

7.3.4 Modelado matemático

Diversos modelos matemáticos se han utilizado para entender las cinéticas en los procesos biológicos (Ahlamine *et al.*, 2024). En este trabajo, los modelos de primer orden y Gompertz modificados fueron utilizados para predecir la producción de metano en los ensayos, debido a que ambos han sido ampliamente aplicados en pruebas de BPM por su capacidad para describir la cinética de producción de metano (Velázquez-Martí *et al.*, 2019).

El modelo de primer orden modificado permite estimar la velocidad de conversión del sustrato biodegradable (Wang *et al.*, 2018), mientras que el modelo de Gompertz es útil para calcular la tasa máxima de producción y la producción acumulada de CH_4 (Hongguang *et al.*, 2019), proporcionando una descripción más completa del comportamiento del proceso.

A partir del ajuste de la cinética de producción de metano acumulado con el modelo de primer orden modificado (Figura 23a), se obtuvo el rendimiento específico máximo de metano así como las tasas de degradación de la materia orgánica y la fracción de la materia potencialmente biodegradable (P) (Banks & Heaven, 2013).

Como se observa en la Tabla 13, este modelo logró predecir adecuadamente los datos experimentales. Se obtuvieron coeficientes de correlación (R^2) de 0.99 en todos los ensayos, lo que indica un excelente ajuste.

Tabla 13. *Parámetros obtenidos en el ajuste de los modelos matemáticos a partir de los datos experimentales del primer ensayo.*

		Botellas					
Modelo	**Parámetro**	**ARC**	**ARC-NP**	**ARC-NPS**	**ARP**	**ARP-NP**	**ARP-NPS**
	Metano experimental (ml CH_4/g SV)	109.04	111.47	139.33	76.99	72.50	79.91
Primer orden modificado	***A (ml CH_4/g SV)***	109.10	111.50	139.35	77.01	72.51	79.92
	P	0.53	0.54	0.42	0.49	0.48	0.32
	K_1 (d^{-1})	0.48	0.49	0.48	0.42	0.43	0.42
	K_2 (d^{-1})	0.07	0.06	0.07	0.09	0.06	0.05
	R^2	0.9970	0.9949	0.9939	0.9957	0.9910	0.9927
Gompertz	***A (ml CH_4/g SV)***	107.73	108.84	136.37	76.78	69.89	76.18
	k_G (d^{-1})	0.13	0.11	0.12	0.17	0.10	0.10
	T_i (d)	1.50	1.04	2.35	1.62	1.59	4.62
	R^2	0.9287	0.9135	0.9564	0.9438	0.9587	0.9476

A: rendimiento específico máximo de metano; k_1: tasa de velocidad de la proporción del materia potencialmente biodegradable; k_2: tasa de velocidad de la proporción del materia potencialmente menos biodegradable y P: proporción de la materia potencialmente biodegradable
kG: coeficiente de tasa de crecimiento en torno al punto de inflexión; Ti: tiempo de inflexión

Los ensayos realizados con ARC como sustrato presentaron los valores más altos de P, lo cual concuerdan con la mayor proporción de materia orgánica soluble encontrada en este sustrato (sección 7.2). En consecuencia, se observó una mayor producción de metano de manera experimental (Figura 23a).

Este resultado puede atribuirse a una mayor disponibilidad de materia orgánica fácilmente biodegradable en este tipo de sustrato. Asimismo, los valores de k_1 también fueron elevados en los ensayos con ARC, lo que sugiere una mayor velocidad en la producción de metano, confirmando su mayor biodegradabilidad. En contraste, los ensayos con ARP mostraron menores valores de P y de k_1, posiblemente debido a la formación de compuestos recalcitrantes durante el pretratamiento térmico, lo que habría reducido la fracción biodegradable disponible y el rendimiento de este sustrato para la DA.

Por su parte, el modelo de Gompertz permitió obtener el valor de A, además de parámetros enfocados en la actividad microbiana, como el coeficiente de tasa de crecimiento en torno al punto de inflexión (k_G) y el tiempo de inflexión (T_i), el cual representa el momento en el que la tasa de crecimiento de los microorganismos es máxima, reflejando así su mayor actividad metabólica (Velázques-Martí *et al.*, 2018).

De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 13, el modelo presentó un buen nivel de ajuste a los datos experimentales, con coeficientes de correlación (R^2) que oscilaron entre 0.91 y 0.95 en los distintos ensayos. El coeficiente de tasa de crecimiento (k_G) representa la tasa máxima de crecimiento bacteriano alrededor del punto de inflexión

(Guzmán-Armenteros *et al.*, 2024). En este estudio, los valores oscilaron entre 0.10 y 0.17 d^{-1}. El mayor valor se observó en ARP (0.17 d^{-1}), lo que sugiere un crecimiento más acelerado del consorcio microbiano en torno a su punto de máxima actividad. Mientras que, los experimentos con NP mostraron valores ligeramente más bajos (0.10-0.12 d^{-1}) lo que podría estar relacionado con una respuesta más gradual de los microorganismos ante la presencia de estos nanomateriales.

Mientras que, el tiempo de inflexión (T_i) representa el momento donde la tasa de crecimiento es máxima (Tjørve & Tjørve, 2017). Este parámetro osciló entre 1.04 y 4.62 días, siendo más alto en los experimentos con NP soportadas (ARC-NPS y ARP-NPS), lo cual indica que el sistema alcanzó su máximo rendimiento en una etapa más tardía. Este retraso podría estar relacionado con una progresiva respuesta microbiana frente a un entorno más complejo, en lugar de una activación inmediata. Cabe mencionar que las aguas utilizadas corresponden a aguas residuales de rastro bovino, caracterizadas por una alta carga orgánica y presencia de compuestos complejos como proteínas, grasas y fibras, lo cual podría ralentizar los procesos iniciales de hidrólisis (Ng *et al.,* 2022).

Córdova *et al.* (2018) reportaron que una relación adecuada de inóculo:sustrato puede favorecer la tasa de producción de metano, incrementando parámetros como la tasa de producción de metano en los modelos cinéticos, debido a una mayor disponibilidad y actividad del consorcio microbiano. En el presente estudio, el ARP presentó el mayor valor de k_G (0.17 d^{-1}), lo que indica una respuesta cinética rápida del sistema microbiano alrededor del punto de inflexión. Sin embargo, este tratamiento no logró la mayor producción acumulada, lo que sugiere que, si bien la actividad inicial fue alta, esta no se sostuvo a lo largo del tiempo.

Por el contrario, el ARC-NPS, con un valor intermedio de k_G, alcanzó la mayor producción total de metano. Esto podría reflejar un crecimiento más progresivo, pero también más eficiente y sostenido en la conversión del sustrato disponible. Considerando los resultados obtenidos, se puede inferir que la presencia de las NP influye en la actividad microbiana, afectando tanto la velocidad de crecimiento como el tiempo necesario para alcanzar la máxima actividad metabólica.

7.3.5 Actividad metanogénica específica y producción acumulada de metano

Además de la medición de producción de metano, se determinó la actividad metanogénica específica (AME), la producción acumulada de metano (A) y la eficiencia teórica de conversión de DQO a metano (Tabla 14).

Tabla 14. *Porcentajes de conversión de metano con respecto a la producción teórica.*

Prueba	*SSV (g)*	*AME (mL CH4/ g SV-d)*	*AME (g DQO/ g SV-d)*	*Volumen de CH_4 producido (mL)*	*DQO total (mg)*	*Prod. Teórica CH4 (mL)*	*% conversión*
ARP-1	0.45	10.49	0.03	51.41	502.50	184.38	27.88
ARP-2	0.45	8.79	0.02	34.37	502.50	184.38	18.64
ARP-3	0.45	8.11	0.02	34.74	502.50	184.38	18.84
ARC-4	0.45	15.79	0.04	48.64	515.16	189.02	25.73
ARC-5	0.45	15.36	0.04	49.24	515.16	189.02	26.05
ARC-6	0.45	14.81	0.04	55.78	515.16	189.02	29.51
ARP-NP-7	0.45	7.00	0.02	33.90	502.50	184.38	18.39
ARP-NP-8	0.45	7.80	0.02	37.90	502.50	184.38	20.56
ARP-NP-9	0.45	7.01	0.02	31.17	502.50	184.38	16.91
ARC-NP-10	0.45	15.64	0.04	50.71	515.16	189.02	26.83
ARC-NP-11	0.45	15.55	0.04	53.79	515.16	189.02	28.46
ARC-NP-12	0.45	15.93	0.04	49.35	515.16	189.02	26.11
ARP-NPS-13	0.45	7.27	0.02	24.98	502.50	184.38	13.55
ARP-NPS-14	0.45	6.67	0.02	37.66	502.50	184.38	20.42
ARP-NPS-15	0.45	6.55	0.02	34.07	502.50	184.38	18.48
ARC-NPS-16	0.45	18.27	0.05	61.94	515.16	189.02	32.77
ARC-NPS-17	0.45	16.95	0.05	55.25	515.16	189.02	29.23
ARC-NPS-18	0.45	18.04	0.05	63.12	515.16	189.02	33.39

- **Influencia del pretratamiento térmico**

Los ensayos con PT presentaron una menor AME en comparación con los ensayos realizados con ARC. Esto concuerda con lo explicado anteriormente, la presencia de compuestos recalcitrantes dificulta su degradación por parte de los microorganismos, lo cual impacta negativamente su rendimiento (Wang *et al.,* 2021; Zhang *et al.,* 2020).

Los resultados mostrados de la Tabla 14 son consistentes con lo observado en las pruebas de BPM y en las curvas de producción de metano, donde se evidenciaron una menor remoción de materia orgánica y, por ende, una menor producción de metano en los experimentos donde se usó ARP como sustrato.

Además, se pudo observar que los experimentos con ARP (ARP, ARP-NP, ARP-NPS) tuvieron una menor conversión de materia orgánica a metano, presentando un intervalo de 17-28% inferior con respecto al control (ARC), con diferencias estadísticamente significativas dentro del intervalo del 95% de confianza ($p = 0.0308$). Esto debido a que, como se mencionó anteriormente, en los ensayos con ARP era posible que existiera una mayor concentración de materia orgánica recalcitrante.

No existen muchos reportes en la literatura sobre la velocidad de producción de metano a partir de residuos de rastro, por lo que es difícil comparar los resultados

obtenidos. Entre los pocos estudios encontrados, Rodríguez-Abalde *et al.* (2013), utilizaron residuos de mataderos de aves de corral y cerdos como sustrato, aplicando un pretratamiento térmico a 70°C durante 60 minutos y obtuvieron valores de AME de 17.6±0.3 y 37.6±2.2 L CH_4/kg SV-d para los residuos de aves de corral y de cerdos, respectivamente, bajo condiciones normales de presión y temperatura (0°C y 1 atm).

En el presente trabajo, los valores de AME obtenidos a 20°C fueron de aproximadamente 7-8 mL CH_4/g SV-d; al corregirlos a condiciones utilizados por estos autores, los valores se reducen a aproximadamente 6.5-7.5 mL CH_4/g SV-d. A diferencia de lo reportado en dicha referencia, en el presente estudio el PT no favoreció la producción de metano, lo que sugiere que su efectividad puede depender del tipo de sustrato y de la generación de compuestos recalcitrantes.

Hernández-Fydrych *et al.* (2019) también utilizaron como sustrato ARR bovino proveniente del mismo rastro que en este trabajo. En su trabajo, reportaron una AME de 18.19 mL CH_4/g SV-d en condiciones normales, utilizando una relación de sustrato/inóculo de 3:1 y ARR pretratada térmicamente a 120°C y 1.2 atm durante una hora. En comparación con los resultados obtenidos en este estudio, su producción fue más de un 50% superior, lo cual podría atribuirse a que no enfrentaron el problema de formación de compuestos recalcitrantes durante el pretratamiento.

Con base en los resultados obtenidos, se puede concluir que el PT aplicado al ARR no mejoró la producción de metano, en comparación con el ARC. Los valores de AME, de A y de conversión de materia orgánica (Tabla 14) fueron consistentemente menores en los ensayos con ARP, lo cual indica que el pretratamiento térmico pudo haber generado compuestos recalcitrantes que dificultaron la biodegradación de la materia orgánica.

Por lo tanto, bajo las condiciones evaluadas en este estudio, no se recomienda la aplicación del PT, ya que no favoreció la producción de metano e incluso afectó negativamente la eficiencia de la DA.

- **Influencia de la incorporación de NP de óxido de hierro**

Los ensayos con agua residual cruda y nanopartículas (ARC-NP, ARC-NPS) mostraron un mejor porcentaje de conversión de la materia orgánica (25-33%) con respecto al control (ARC) con diferencias estadísticamente significativas dentro del intervalo del 95% de confianza ($p = 0.0018$), lo que indica una mayor eficiencia en la transformación de la materia orgánica disponible en metano.

En lo referente a la AME, se encontró un valor promedio de 15 mL CH_4/ g SV-d en los ensayos con ARC y NP, lo que representa una velocidad de producción 2.3 veces superior con respecto a lo reportado por Hernández-Fydrych *et al.* 2019, quienes obtuvieron una AME de 6.50 mL CH_4/ g SV-d utilizando los mismos parámetros que en este trabajo. Este incremento puede atribuirse al efecto positivo de las NP de óxido de hierro, que no solo

mejoraron la conversión de la materia orgánica y la producción acumulada de metano, sino que también aceleraron la velocidad del proceso, favoreciendo una DA más eficiente.

Con el fin de profundizar en la influencia que tuvieron las NP en la DA, se procedió a montar un segundo ensayo donde se analizó la influencia del soporte y la concentración de las NP. Los resultados se presentan a continuación.

7.4 Segundo ensayo de las pruebas de biopotencial de metano

Con el objetivo de esclarecer la influencia de las NP en la DA, se llevó a cabo un segundo ensayo, en el cual se emplearon NP de óxido de hierro tanto con soporte como sin él, en concentraciones de 30, 60 y 120 mg/L, de acuerdo con lo explicado en la sección 6.3.2.

7.4.1 Caracterización inicial

Los datos correspondientes a la caracterización de las botellas se encuentran en la Tabla 15. En este experimento no se incluyó el uso de agua residual pretatada térmicamente, ya que en el experimento anterior se observó que dicho pretratamiento no favoreció la producción de metano.

Tabla 15. *Caracterización de las botellas al inicio del experimento.*

	Botellas						
Parámetro	**ARC**	**ARC-NP/30**	**ARC-NPS/30**	**ARC-NP/60**	**ARC-NPS/60**	**ARC-NP/120**	**ARC-NPS/120**
pH	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7
ORP (mV)	-312	-284	-305	-308	-271	-354	-308
Alcalinidad (mg/L $CaCO_3$)	684.32 ± 1.69	684.32 ± 1.69	684.32 ± 1.69	684.32 ± 1.69	684.32 ± 1.69	684.32 ± 1.69	684.32 ± 1.69
ST (g/L)	18.17 ± 0.10	18.17 ± 0.10	18.17 ± 0.10	18.17 ± 0.10	18.17 ± 0.10	18.17 ± 0.10	18.17 ± 0.10
SF (g/L)	7.47 ± 0.05	7.47 ± 0.05	7.47 ± 0.05	7.47 ± 0.05	7.47 ± 0.05	7.47 ± 0.05	7.47 ± 0.05
SV (g/L)	10.71 ± 0.05	10.71 ± 0.05	10.71 ± 0.05	10.71 ± 0.05	10.71 ± 0.05	10.71 ± 0.05	10.71 ± 0.05
DQO_s (g/L)	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.04

Al igual que en los experimentos del primer ensayo, los del segundo también presentaron valores de pH cercanos a la neutralidad, por lo que no fue necesario ajustar este parámetro. En cuanto a los valores de los ST, SF, SV, DQO_s y alcalinidad fueron iguales en todos los experimentos.

El parámetro que presentó variaciones fue el ORP, el cual dependió de la concentración de las NP (con o sin soporte); sin embargo, dichos valores se mantuvieron dentro del rango adecuado para la digestión anaerobia, ya que favorecieron condiciones reductoras (Wang *et al.,* 2018).

Respecto a la alcalinidad, se obtuvo un valor de 684 mg/L $CaCO_3$, considerado adecuado para mantener la estabilidad del proceso, ya que permite amortiguar posibles variaciones del pH y evitar la inhibición de los microorganismos metanogénicos (Gyadi *et al.,* 2024).

En conjunto, estos resultados indican que las condiciones iniciales fueron favorables para la actividad microbiana, por lo que se puede inferir que las NP de hierro no afectaron negativamente el metabolismo de las bacterias anaerobias.

7.4.2 Evaluación de la digestión anaerobia

Los análisis realizados a las botellas una vez finalizada la prueba BPM se resumen en la Tabla 16.

Tabla 16. *Caracterización de las botellas al final del experimento.*

	Botellas						
Parámetro	**ARC**	**ARC-NP/30**	**ARC-NPS/30**	**ARC-NP/60**	**ARC-NPS/60**	**ARC-NP/120**	**ARC-NPS/120**
pH	7 ± 0.05	7 ± 0.06	7 ± 0.01	7.07 ± 0.05	7.02 ± 0.04	7.10 ± 0.05	7.01 ± 0.07
ORP (mV)	-328 ± 14.0	-330 ± 10.0	-316.7 ± 3.6	-311.5 ± 1.5	-313 ± 3.0	-233 ± 18.0	-335 ± 10.0
Alcalinidad (mg/L $CaCO_3$)	776.32 ± 1.53	751.01 ± 6.87	780.83 ± 13.43	778.50 ± 15.70	784.04 ± 15.79	788.42 ± 23.25	764.14 ± 20.27
ST (g/L)	16.29 ± 0.44	16.28 ± 0.30	16.78 ± 0.37	16.56 ± 0.50	16.29 ± 0.50	16.57 ± 0.51	15.02 ± 1.29
SF (g/L)	7.46 ± 0.18	7.58 ± 0.03	7.77 ± 0.13	7.70 ± 0.31	7.61 ± 0.19	7.79 ± 0.23	7.20 ± 0.46
SV (g/L)	8.91 ± 0.21	8.74 ± 0.25	8.98 ± 0.23	8.94 ± 0.19	8.68 ± 0.31	8.70 ± 0.18	7.81 ± 1.06
DQO_s (g/L)	0.68 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.68 ± 0.01	0.60 ± 0.02	0.71 ± 0.03	0.51± 0.01	0.80 ± 0.05

El pH se mantuvo cercano a la neutralidad, lo cual indica que no se produjo acidificación en las botellas. Esta estabilidad se ve respaldada por el aumento de la alcalinidad (751-784 mg/L $CaCO_3$) observado al final de las pruebas en comparación con el inicio (684 mg/L $CaCO_3$). Un mayor nivel de alcalinidad contribuye a mejorar la capacidad de amortiguamiento del sistema frente a la acumulación de ácidos, favoreciendo así la estabilidad del proceso (Gyadi *et al.,* 2024).

Wang *et al.* (2018), quienes evaluaron el efecto del óxido de hierro en un reactor por lotes utilizando diferentes pesos: 0 (control), 0.2, 0.4 y 0.6 g, con un tamaño de partícula de 250 µm, encontraron que la NP ayudaron a mantener el pH cercano a la neutralidad, en comparación con el control cuando se emplearon 0.2 y 0.4 g de óxido de hierro. Los ensayos se realizaron a 37°C utilizando agua residual proveniente de procesos de Fischer-Tropsch. En cuanto a los valores de ORP, estos autores reportaron -234.5±10.2 mV para el control, mientras que los ensayos con 0.2, 0.4 y 0.6 g registraron valores de -292.8±13.6, -329.0±9.2 y -210.7±10.8 mV, respectivamente.

Ajayi-Banji & Rahman (2021) investigaron la influencia de tres concentraciones de NP de óxido de hierro (20, 50 y 75 mg/L) y una muestra control sin NP, para evaluar su efecto en el rendimiento del reactor en el tratamiento de estiércol de vaca usando digestión anaerobia. Los autores encontraron que las NP mitigaron la acidificación y mejoraron la estabilidad del proceso al acelerar la conversión de los ácidos grasos volátiles. Además, la incorporación de NP potenció la degradación de celulosa y hemicelulosa en un 188% y 20%, respectivamente, en comparación con el control, lo que indica que las NP mejoran la actividad microbiana.

En relación con la materia orgánica, se observó una mayor remoción de DQO_s en comparación con los SV. En el caso de la remoción de DQO_s, los ensayos con NP presentaron el mayor porcentaje de remoción (54.31-62.78%), mientras que los ensayos con NP soportadas tuvieron valores de entre 41.70-50.88%. Estos ensayos tienen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.0017$, 95% de confianza). Con respecto a la remoción de SV, los ensayos con NP (17.82-20.08%) tuvieron un porcentaje de remoción muy similar a los ensayos con NPS (17.67-19.66%).

Zhang *et al.* (2020) usaron NP con tamaños entre 20 y 30 nm, utilizando como sustrato lodos residuales provenientes de un tanque de sedimentación secundaria. Los ensayos se realizaron con un volumen útil de 150 mL, a 36°C y 120 rpm, aplicando concentraciones de NP de 0, 20, 50, 100 y 200 mg/L. Al finalizar el proceso de DA, se observaron porcentajes de remoción de 21.1%, 22.4%, 32.2% y 28.0% con 20, 50, 100 y 200 mg/L de NP, en comparación con la remoción de 23.7% observada en el control.

Ma *et al.* (2021) estudiaron el efecto de diferentes concentraciones de NP de óxido de hierro (50, 100, 200, 400 y 600 mg/L) en la remoción de fenoles totales de aguas residuales provenientes de la gasificación del carbón mediante digestión anaerobia. Los resultados mostraron que la adición de NP aumentó la remoción de fenoles totales hasta un 40%, en comparación con el 30% obtenido en el control (sin NP). Además, la presencia de NP redujo el potencial rédox y mejoró la estabilidad del sistema de DA.

Zhang *et al.* (2019) analizaron el tratamiento de estiércol de cerdo mediante digestión anaerobia, utilizando NP de óxido de hierro en concentraciones de 0 mmol (control), 5, 75, 750 y 350 mmol. Sus resultados mostraron que la adición de NP de óxido de hierro mejoró significativamente la reducción de SV, alcanzando un máximo de 45.6% de remoción con 350 mmol en comparación con el control. Sin embargo, en la DQO_s no se observó un beneficio notable con la adición de NP.

Al comparar los resultados obtenidos de este estudio con los reportados por los autores antes mencionados, se observa que los porcentajes de remoción de SV (17-20%) son bajos. Por ejemplo, Zhang *et al.* (2020) reportó porcentajes entre 32.2 y 52.1% utilizando diferentes concentraciones de NP, mientras que Zhang *et al.* (2019) lograron remover hasta un 45.6% de SV. Ma *et al.* (2021), por su parte, evaluaron la remoción de fenoles totales, una fracción específica de la materia orgánica, y reportaron una eficiencia de hasta 40% al emplear NP, en comparación con 30% en el control. Aunque estos

compuestos no son directamente comparables con los SV o la DQO, los resultados sugieren que las NP pueden mejorar la degradación de ciertos contaminantes orgánicos en procesos de DA.

En el presente estudio, los ensayos con NP mostraron un incremento en la remoción de DQO_s en comparación con el ARC, alcanzando una mejora del 6 al 12%. Sin embargo, para el caso de la remoción de los SV no se vio beneficiado con la adición de NP.

7.4.3 Cinéticas de producción de metano acumulado

Las curvas de rendimiento de metano acumulado (mL CH_4/ g SV) bajo condiciones normales (20°C y 1 atm) junto con los modelos modificados de cinética de primer orden y de Gompertz se muestran en la Figura 24. En *Anexo 2* se muestran las gráficas de volumen de metano acumulado.

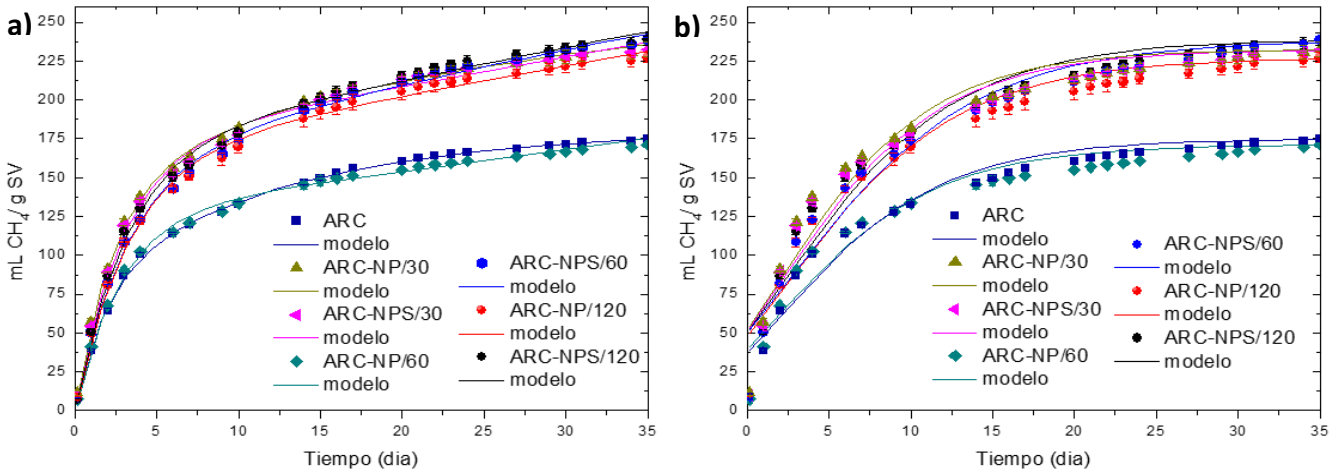


Figura 24. *Cinéticas de producción acumulada de metano vs tiempo (día) para los 7 experimentos (puntos), a) modelo cinético de primer orden modificado (línea continua) y b) modelo de Gompertz.*

- **Influencia de la incorporación de NP de óxido de hierro**

Como se puede observar en la Figura 24, las muestras con NP (tanto con y sin soporte) presentaron resultados muy similares entre sí en términos de producción de metano. Aunque la muestra ARC-NPS/120 registró el valor más alto de rendimiento acumulado de metano (238.83 mL CH_4/g SV), las diferencias con respecto a los demás ensayos no fueron estadísticamente significativas.

Por ello, considerando criterios de eficiencia y economía, el experimento ARC-NPS/30, con una menor concentración de NP, puede considerarse como la condición ideal en este estudio. Además, la mejora de producción de metano en este experimento con respecto al control fue del 32.95%.

Zhang *et al.* (2020) usaron NP con tamaños entre 20 y 30 nm, utilizando como sustrato lodos residuales provenientes de un tanque de sedimentación secundaria. Los ensayos se

realizaron con un volumen útil de 150 mL, a 36°C y 120 rpm, aplicando concentraciones de NP de 0, 20, 50, 100 y 200 mg/L.

Estos autores observaron que la mayor producción de metano (109.8 mL CH_4/g SV) se alcanzó con una concentración de 100 mg/L de NP, lo que representó una mejora del 58.7% en comparación del control. Sin embargo, con una concentración de 200 mg/L, los resultados fueron similares a los obtenidos con 50 mg/L, lo que sugirió que, a concentraciones más altas, los microorganismos se vieron inhibidos.

En este estudio no se observaron indicios de inhibición en el proceso de DA, tanto en los ensayos con NP sin soporte como en las NP soportadas. Sin embargo, cabe destacar que las NP soportadas presentan una menor carga metálica (como se mencionó en la sección 7.1.3.), debido a su dispersión sobre el soporte de alúmina. A pesar de ello, se obtuvieron valores de producción de metano similares a los alcanzados con NP sin soporte, lo que sugiere que el soporte permitió una mejor distribución y estabilidad de las NP, favoreciendo su actividad con una menor cantidad de hierro. Esto representa una ventaja en términos de eficiencia y sostenibilidad del proceso.

Aguilar-Moreno *et al.* (2020) analizaron la producción de metano mediante pruebas BPM con estiércol de pollo como sustrato y NP de óxido de hierro con concentraciones de 0 , 20, 40 y 60 mg/L, un volumen útil de 250 mL, una temperatura de incubación de 36°C y un tiempo de operación de 80 días. Estos autores reportaron una producción de 73.29 mL CH_4/g SV para el control y con NP el mejor rendimiento (137.23 mL CH_4/g SV) se obtuvo con 20 mg/L.

En comparación, en el presente estudio, donde se empleó ARR bovina como sustrato y NP soportadas en alúmina, se obtuvo un incremento del 69.4% en la producción de metano respecto al mejor resultado reportado por dichos autores. Este rendimiento superior, además, se logró además en la mitad del tiempo, con una quinta parte del volumen útil y a temperatura ambiente lo que demuestra el potencial de las NP de hierro como coadyuvante en el proceso de DA.

En resumen, aunque la incorporación de NP de óxido de hierro con y sin soporte mostró mejoras en la producción de metano respecto al control, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Por lo tanto, se considera como condición ideal el uso de NP soportadas en alúmina a una concentración de 30 mg/L, ya que permite alcanzar resultados comparables utilizando una menor cantidad de material metálico.

7.4.4 Modelado matemático

En la Figura 24 se muestra como los modelos de primer orden y Gompertz se ajustaron a los datos experimentales de las curvas de producción acumulada de metano. Las cinéticas mostradas en todos los ensayos tuvieron un comportamiento de una curva sigmoidal, que

corresponde una cinética de primer orden (Zhang *et al.,* 2021) tal como se describió en la sección 7.3.3. Como se observa en la Tabla 17, el modelo de primer orden modificado logró ajustarse adecuadamente a los datos experimentales, obteniéndose coeficientes de correlación (R^2) de 0.99 en todos los experimentos, lo que indica un excelente ajuste.

Tabla 17. *Parámetros obtenidos en el ajuste de los modelos matemáticos a partir de los datos experimentales del segundo ensayo.*

Modelo	***Parámetro***	***Botellas***						
		ARC	**ARC-NP/30**	**ARC-NPS/30**	**ARC-NP/60**	**ARC-NPS/60**	**ARC-NP/120**	**ARC-NPS/120**
	Metano experimental (ml CH_4/g SV)	174.99	232.41	232.36	171.29	238.19	227.12	238.83
Primer orden modificado	***A (ml CH_4/g SV)***	174.99	232.41	232.37	171.30	238.20	227.12	238.84
	P	0.48	0.52	0.49	0.51	0.42	0.43	0.46
	K_1 (d^{-1})	0.42	0.45	0.45	0.49	0.41	0.45	0.42
	K_2 (d^{-1})	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
	R^2	0.9991	0.9983	0.9947	0.9967	0.9965	0.9958	0.9959
Gompertz	***A (ml CH_4/g SV)***	174.48	231.95	231.72	170.87	236.59	226.11	237.79
	k_G (d^{-1})	0.18	0.19	0.18	0.18	0.16	0.17	0.17
	T_i (d)	2.37	2.12	2.25	2.08	2.82	2.59	2.59
	R^2	0.9991	0.9476	0.9487	0.9365	0.9554	0.9551	0.9513

A: rendimiento específico máximo de metano; k_1: tasa de velocidad de la proporción del materia potencialmente biodegradable; k_2: tasa de velocidad de la proporción del materia potencialmente menos biodegradable y P: proporción de la materia potencialmente biodegradable

kG: coeficiente de tasa de crecimiento en torno al punto de inflexión; Ti: tiempo de inflexión

Los ensayos con diferentes concentraciones de NP (tanto las soportadas como las que no) presentaron valores similares de P. Además, al no observarse diferencias estadísticamente significativas en la producción acumulada de metano (Figura 24), se propone el uso de 30 mg/L de NP soportadas para mejorar la producción de metano. Esta opción permite obtener buenos resultados con una menor cantidad de material, lo que representa una ventaja tanto en términos de eficiencia del proceso como de uso de recursos, al reducir el consumo de insumos sin comprometer el rendimiento.

Es importante destacar que los análisis EDS/SEM indicaron que el contenido en peso de hierro en el material soportado fue del 15%. Por lo tanto, la cantidad de hierro introducida en los ensayos con NP soportadas fue considerablemente menor que en aquellos con NP sin soporte. Aun así, se observó un efecto positivo en la DA, lo que sugiere que incluso concentraciones reducidas de hierro pueden ser suficientes para mejorar el proceso.

El modelo de Gompertz no presentó un ajuste tan preciso como el modelo de primer orden modificado; sin embargo, logró un buen nivel de ajuste, con R^2 que oscilaron entre 0.93 y 0.99. Este modelo no fue capaz de ajustarse adecuadamente a los experimentos que incluyeron NP, ya que la aceleración en la producción de metano inducida por las NP dificultó que el modelo se acoplara con precisión al punto de inflexión entre las fases de digestión activa y estacionaria. No obstante, en el caso de ARC, donde no se usaron NP, el modelo de Gompertz sí mostró un excelente ajuste.

Los valores de k_G oscilaron entre 0.17 y 0.19 d^{-1}, lo que indica una variación mínima en la tasa de crecimiento de los microorganismos entre los diferentes experimentos. Esta similitud sugiere que ninguno de los experimentos presentó una mejora significativa en la velocidad en que los microorganismos alcanzan su actividad máxima durante la fase de producción de metano.

Con respecto al tiempo de inflexión, este fluctuó entre 2.08 y 2.82 días. Donde los experimentos con NP con mayor concentración (ARC-NPS/60, ARC-NP/120 y ARC-NPS/120) presentaron los valores más altos (2.82, 2.59 y 2.59 d, respectivamente), lo que sugiere una respuesta microbiana más retardada para alcanzar la máxima tasa de producción de metano, posiblemente asociada a un entorno más complejo.

Estos resultados sugieren que, aunque las NP pueden mejorar la eficiencia del proceso, su concentración debe ser cuidadosamente optimizada para evitar periodos prolongados antes de alcanzar la máxima actividad microbiana, o incluso efectos inhibitorios, especialmente en sustratos complejos como el ARR.

7.4.5 Actividad metanogénica específica y producción acumulada de metano

En la Tabla 18 se muestra la medición de producción metano, la AME y la eficiencia de conversión de la DQO a metano mediante balance de masa.

Tabla 18. *Porcentajes de conversión de metano con respecto a la producción teórica.*

Prueba	*SSV (g)*	*AME (mL CH4/ g SV-d)*	*AME (g DQO/ g SV-d)*	*Volumen de CH_4 producido (mL)*	*DQO total (mg)*	*Prod. Teórica CH_4 (mL)*	*% conversión*
ARC-1	0.43	26.69	0.07	75.03	664.50	243.82	30.77
ARC-2	0.43	26.89	0.07	75.21	664.50	243.82	30.84
ARC-3	0.43	27.76	0.07	75.24	664.50	243.82	30.86
ARC-NP/30-4	0.43	38.49	0.10	102.17	664.50	243.82	41.90
ARC-NP/30-5	0.43	37.00	0.10	99.14	664.50	243.82	40.66
ARC-NP/30-6	0.43	37.38	0.10	98.15	664.50	243.82	40.26
ARC-NPS/30-7	0.43	36.86	0.10	99.56	664.50	243.82	40.83
ARC-NPS/30-8	0.43	38.09	0.10	99.88	664.50	243.82	40.96

Prueba	*SSV (g)*	*AME (mL CH4/ g SV-d)*	*AME (g DQO/ g SV-d)*	*Volumen de CH_4 producido (mL)*	*DQO total (mg)*	*Prod. Teórica CH4 (mL)*	*% conversión*
ARC-NPS/30-9	0.43	37.64	0.10	99.96	664.50	243.82	41.00
ARC-NP/60-10	0.43	28.03	0.07	69.57	664.50	243.82	28.53
ARC-NP/60-11	0.43	28.56	0.08	73.44	664.50	243.82	30.12
ARC-NP/60-12	0.43	28.43	0.08	73.70	664.50	243.82	30.23
ARC-NPS/60-13	0.43	35.26	0.09	102.37	664.50	243.82	41.98
ARC-NPS/60-14	0.43	34.62	0.09	102.97	664.50	243.82	42.23
ARC-NPS/60-15	0.43	33.92	0.09	101.57	664.50	243.82	41.66
ARC-NP/120-16	0.42	33.79	0.09	94.11	647.89	237.73	39.59
ARC-NP/120-17	0.42	32.08	0.09	88.14	647.89	237.73	37.08
ARC-NP/120-18	0.42	34.79	0.09	96.11	647.89	237.73	40.43
ARC-NPS/120-19	0.38	37.47	0.10	89.81	581.44	213.34	42.10
ARC-NPS/120-20	0.38	37.75	0.10	91.22	581.44	213.34	42.76
ARC-NPS/120-21	0.38	36.72	0.10	88.23	581.44	213.34	41.36

Los ensayos con ARC y nanopartículas (ARC-NP y ARC-NPS, en distintas concentraciones) presentaron un mayor porcentaje de conversión de la materia orgánica (40-42%) con respecto al control, lo que evidencia una mayor eficiencia en la transformación del sustrato en metano. Asimismo, la AME se incrementó con la incorporación de NP, alcanzando mejoras de entre 18.9% y 42.3%, lo cual representa un aumento significativo en el rendimiento del proceso.

Aguilar-Moreno *et al.* (2020) realizaron pruebas de BPM usando estiércol de pollo y NP de óxido de hierro con concentraciones de 0, 20, 40 y 60 mg/L, con un volumen útil de 250 mL, temperatura de 36°C y a condiciones estándar y reportaron una AME de 2.55 mL CH_4/ g SV-d con la concentración de 20 mg/L de NP.

En el presente estudio se obtuvieron valores significativamente superiores a los reportados por estos autores, con un rango de 33 a 38 mL CH_4/ g SV-d, utilizando ARR como sustrato y a temperatura ambiente. Esta diferencia sugiere que, además del tipo de sustrato, el uso de un soporte para las NP puede favorecer la eficiencia del proceso, incluso a temperatura ambiente.

En general, la incorporación de NP de óxido de hierro en el sistema demostró ser beneficiosa para el proceso de DA. Las NP favorecieron la remoción de materia orgánica, incrementaron la producción acumulada de metano, mejoraron la AME y aumentaron la conversión de materia orgánica en metano.

Adicionalmente, se encontró que el soporte de alúmina mejoró la distribución y estabilidad de las NP, favoreciendo su actividad con una menor cantidad de hierro, pues sólo contienen un 10% en peso de este elemento, mostrando una ventaja en términos de eficiencia y sostenibilidad.

En cuanto a la influencia de la concentración de las NP en el proceso de la DA, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Por lo tanto, se considera que con una concentración de 30 mg/L es posible obtener buenos resultados utilizando una menor cantidad de óxido de hierro en comparación de las NP sin soporte.

Dado que la incorporación de NP mejoró diversos aspectos del proceso, resulta relevante evaluar también el proceso desde una perspectiva energética. Analizar la eficiencia energética permite determinar si las mejoras obtenidas justifican el consumo de energía asociado a la síntesis de los nanomateriales. A continuación, se presenta el análisis de eficiencia energética de los dos ensayos realizados.

7.5 Análisis de eficiencia energética

Para el balance energético se tomaron en consideración los experimentos con mayor producción de metano de cada ensayo correspondiente (Tabla 19). Para mayor detalle sobre los datos y equipos empleados en el balance energético, se remite al *Anexo 3*.

Tabla 19. *Balance energético de los dos ensayos realizados.*

Ensayo	*Nomenclatura*	*Máxima producción de metano (L CH_4)*	*Energía gastada por botella (kWh)*	*Energía producida por botella (kWh)*	*Balance (kWh)*	*Eficiencia energética (%)*
Primero	ARC-NPS	0.06	0.024	0.0006	-0.024	2.44
Segundo	ARC-NPS/30	0.10	0.010	0.001	-0.009	10.17

Como se puede observar en la Tabla 19, la energía generada en los experimentos ARC-NPS y ARC-NPS/30 no fue suficiente para compensar el consumo energético asociado a la síntesis de las NP soportadas, ya que se obtuvo una eficiencia energética de apenas 2.44% y 10.17%, respectivamente.

Si bien no se alcanzó una eficiencia energética favorable, existen diversos factores que podrían contribuir a mejorar este indicador. En primer lugar, la cantidad de NP sintetizadas fue limitada, dado que los microensayos solo contemplaron la masa necesaria para las caracterizaciones y la ejecución de los experimentos. Sin embargo, una síntesis a mayor escala (por ejemplo, de al menos 10 g de NP soportadas) permitiría distribuir mejor el gasto energético por unidad.

Asimismo, el uso de equipos más eficientes en términos de consumo eléctrico podría reducir considerablemente el impacto energético del proceso (Aduba *et al.*, 2025). Muchos equipos utilizados en laboratorios carecen de tecnologías recientes de ahorro de energía, lo cual representa una limitante importante en este tipo de análisis.

Además, cabe mencionar que los ensayos no se realizaron bajo condiciones completamente optimizadas. Es posible que, al ajustar parámetros operativos clave, se

logre incrementar la producción de metano y, con ello, mejorar la eficiencia del proceso (Obileke *et al.*, 2025).

Finalmente, otro aspecto a considerar en futuras investigaciones es la reutilización de las NP. Dado que el óxido de hierro es un material magnético, su recuperación mediante separación magnética resulta viable, lo cual abre la posibilidad de su reúso en múltiples ciclos de DA (Baek *et al.*, 2017). Evaluar la estabilidad y la efectividad del nanomaterial tras varios usos sería clave para fortalecer la viabilidad ambiental de su aplicación en procesos anaerobios.

Capítulo 8

Conclusiones y Recomendaciones

La presente investigación evaluó el mejoramiento de la producción de metano a partir de aguas residuales de rastro usando un pretratamiento térmico y nanopartículas de óxido de hierro, demostrando que el pretratamiento térmico no favoreció la producción de metano, a diferencia de la incorporación de nanopartículas en donde se comprobó la contribución positiva de las nanopartículas soportadas en la producción de metano.

Las nanopartículas de óxido de hierro, tanto soportadas como no soportadas, fueron sintetizadas a través de dos métodos sol-gel. Los resultados de caracterización permitieron comprobar que con el método propuesto por Brahmbhatt *et al.* (2023) se obtuvieron nanopartículas de la fase magnetita pura a una menor temperatura (600°C). Además, el uso del soporte de alúmina fase alfa, permitió una mejor dispersión y una menor carga metálica (15%) de las nanopartículas de óxido de hierro en el medio, sin causar efectos inhibitorios en los microorganismos anaerobios.

Las pruebas de biopotencial de metano demostraron que las nanopartículas soportadas de óxido de hierro mejoraron la producción de metano hasta en un 27.78%. Este efecto positivo se atribuye posiblemente a una mejor dispersión de las nanopartículas al estar soportadas, lo que incrementó la superficie activa para la interacción con los microorganismos, además de favorecer la transferencia directa de electrones y mejorar las condiciones del ambiente reductor, facilitando así la actividad metanogénica.

Al modificar las concentraciones de las nanopartículas con y sin soporte (30, 60 y 120 mg/L), se obtuvieron rendimientos similares en la producción de metano, alcanzando un incremento de hasta 32.95%. Debido a estas similitudes, se consideró como condición más adecuada la concentración más baja, ya que implica un menor consumo de material.

No obstante, es necesario seguir investigando sobre la influencia de la concentración de las nanopartículas de óxido de hierro, porque aunque los ensayos con nanopartículas soportadas tuvieron una cantidad de hierro considerablemente menor en comparación con las nanopartículas sin soporte, mostraron efectos positivos en la producción de metano.

En ese sentido, otro aspecto importante es utilizar la menor cantidad posible de nanopartículas para optimizar la eficiencia del proceso y minimizar posibles efectos negativos asociados a concentraciones elevadas.

El pretratamiento térmico (100°C, 1 atm, 30 min) no benefició la producción de metano en el agua residual de rastro, ya que probablemente se generaron compuestos recalcitrantes, probablemente debido a las reacciones de Maillard.

Los modelos matemáticos aplicados permitieron concluir que la mejora observada en la producción de metano no se atribuye principalmente a la tasa de crecimiento de los microorganismos, sino a la directa transferencia de electrones, evidenciada por una mayor conversión de materia orgánica, una mayor actividad metanogénica y, en consecuencia, un incremento en la producción de metano.

En consecuencia, la presencia de las nanopartículas no solo favoreció la producción de metano, sino que también mejoró la remoción de materia orgánica, su conversión y la actividad metanogénica específica.

A pesar del claro beneficio de la adición de las nanopartículas en la producción de metano, el proceso no logró ser energéticamente eficiente, ya que solo se logró compensar la energía para producir las nanopartículas en apenas 2.44% y 10.17% para el primer y segundo ensayo, respectivamente. Por ello, es necesario explorar nuevas metodologías de síntesis de nanopartículas que impliquen un menor consumo energético.

Algunas estrategias para mejorar este aspecto incluyen el uso de métodos de síntesis que no requieran de calcinación o, en su caso, emplear equipos con un consumo energético optimizado. Asimismo, se recomienda producir una mayor cantidad de material, para disminuir la cantidad de energía requerida por cada gramo de nanopartículas sintetizadas.

Y, por último, otro enfoque que valdría la pena explorar es la reutilización de las nanopartículas de óxido de hierro. Dado que el óxido de hierro es un material magnético, su recuperación mediante separación magnética es factible, lo que permitiría su uso en múltiples ciclos de digestión anaerobia, dando la posibilidad de mejorar la eficiencia energética del sistema.

Referencias

Abdelsalam, E., Samer, M. A., Abdel-Hadi, M., Hassan, H., & Badr, Y. (2017). Influence of zero valent iron nanoparticles and magnetic iron oxide nanoparticles on biogas and methane production from anaerobic digestion of manure. *Energy, 120*(1), 842-853.

Aduba, J., Asgari, B., Ennajih, Y., & Shimada, K. (2025). Impact of learning on energy consumption and energy efficiency: Empirical evidence from manufacturing industry. *Journal of Cleaner Production, 492*.

Afolabi, O., & Onwona, A. (2023). Application of incipient wet impregnation (IWI) methodology in the synthesis of Ni/SiO2 catalysts for hydrodeoxygenation processes. *Journal of Sustainable Energy, 14*(2), 77-85.

Agrawal, A., Chaudhari, K., & Ghosh, P. (2024). Effect of inoculums type and optimization of inoculum to substrate ratio on the kinetics of biogas production of fruit and vegetable waste. *Environmental Engineering Research, 29*(1).

Aguilar-Moreno, G., Navarro-Cerón, E., Velázquez-Hernández, A., Hernández-Eugenio, G., Aguilar-Méndez, M., & Espinosa-Solares, T. (2020). Enhancing methane yield of chicken litter in anaerobic digestion using magnetite nanoparticles. *Renewable Energy, 147*, 204-213.

Ahlamine, I., Alla, A., & Khattabi, N. (2024). Mathematical analysis of an anaerobic digestion model for biogas production from solid waste. *Scientific Reports, 14*.

Ahmad, F., Pathak, V., & Singh, A. (2023). Effect of slaughterhouse waste on sewage channel. *Wold Journal of Advanced Research and Reviews, 19*(3), 1227-1236.

Ahmed, B., Rizvi, A., Ali, K., & Lee, J. (2021). Nanoparticles in the soil–plant system: a review. *Environmental Chemistry Letters, 19*(4).

Ahmed, H., Roy, A., Wahab, M., Ahmed, M., Othman-Qadir, G., Elesawy, B., . . . Emran, T. (2021). Applications of Nanomaterials in Agrifood and Pharmaceutical Industry. *Journal of Nanomaterials*.

Ajandouz, E., Desseaux, V., Tazi, S., & Puigserver, A. (2008). Effects of temperature and pH on the kinetics of caramelisation, protein cross-linking and Maillard reactions in aqueous model systems. *Food Chemistry, 107*(3), 1244-1252.

Ajay, C., Mohan, S., Dinesha, P., & Rosen, M. (2020). Review of impact of nanoparticle additives on anaerobic digestion and methane generation. *Fuel, 277*, 118234.

Ajayi-Banji, A., & Rahman, S. (2021). Efficacy of magnetite (Fe3O4) nanoparticles for enhancing solid-state anaerobic co-digestion: Focus on reactor performance and retention time. *Bioresource Technology, 324*.

Akindele, A., & Sartaj, M. (2018). The toxicity effects of ammonia on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Waste Management, 71*, 757-766.

Aleksic, N., Nesovic, A., Sustersic, V., Gordic, D., & Milovanovic, D. (2020). Slaughterhouse water consumption and wastewater characteristics in the meat processing industry in Serbia. *Desalination and Water Treatment, 190*, 98-112.

Al-Madhagi, H., Yazbik, V., Abdelwahed, W., & Alchab, L. (2023). Magnetite nanoparticle co-precipitation synthesis, characterization, and applications: mini review. *BioNanoScience, 13*(2).

Al-Najar, H., & Nassar, A. (2019). Slaughterhouses Wastewater Characteristics in the Gaza Strip. *Journal of Water Resource and Protection, 11*(7), 844-851.

Altammar, K. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology, 14*.

American Public Health Association, A. W. (2018). Standar methods for the examination of water and wastewater American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2018. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Asso. American Public Health Association.

Amin, F., Khalid, H., Zhang, H., Rahman, S., Zhang, R., Liu, G., & Chen, C. (2017). Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *AMB Express, 7*(1).

Amo-Duodu, G., Buthelezi, K., Rathilal, S., Mahlangu, T., Chollom, M., & Tetteh, E. (2022). Biostimulation of anaerobic digested wastewater using magnetic nanoparticles and an external magnetic field for biogas enhancement. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 17*(2), 324-331.

Amo-Duodu, G., Kweinor, E., Precious, N., & Rathilal, S. (2023). Synthesis and characterization of magnetitc nanoparticles via co-precipitation: Application and assessment in anaerobic digested wastewater. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining* .

Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A., . . . Lier, J. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology, 59*(5), 927-934.

Anuar, N., Man, H., & Daud, N. (2018). Biochemical methane potential (BMP) from anaerobic co-digestion of sewage sludge and decanter cake. *Conference Series Materials Science and Engineering, 368*(1).

Aparicio, M., & Carbajal, G. G. (2010). Utilidad de la difracción de rayos X en las nanociencias. *Mundo nano, 3*(2), 62-72.

Ariunbaatar, J., Panico, A., Esposito, G., Pirozzi, F., & Lens, P. (2014). Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied Energy, 123*, 143-156.

Asghar, N., Hussain, A., Nguyen, D., Ali, S., Hussain, I., Junejo, A., & Ali, A. (2024). Advancement in nanomaterials for environmental pollutants remediation: a systematic review on

bibliometrics analysis, material types, synthesis pathways, and related mechanisms. *Journal of Nanobiotechnology, 22*(1).

Ashraf, M., Wiener, J., Farooq, A., Saskova, J., & Noman, M. (2018). Development of Maghemite Glass Fibre Nanocomposite for Adsorptive Removal of Methylene Blue. *19*(8), 1735-1746.

Asif, A., Zhang, N., & Santos, R. (2023). Mineral characterization using scanning electron microscopy (SEM): a review of the fundamentals, advancements, and research directions. *Applied Sciences, 13*(23).

Atelge, M., Atabani, A., Banu, J., Krisa, D., Kaya, M., Eskicioglu, C., . . . Duman, F. (2020). A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery. *Fuel, 270*.

Baek, G., Jung, H., Kim, J., & Lee, C. (2017). A long-term study on the effect of magnetite supplementation in continuous anaerobic digestion of dairy effluent – Magnetic separation and recycling of magnetite. *Bioresource Technology, 241*, 830-840.

Baek, G., Kim, J., & Lee, C. (2019). A review of the effects of iron compounds on methanogenesis in anaerobic environments. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 113*, 109282.

Bagheri, M., Sadeghi, E., & Zahedifar, M. (2023). Fabrication and investigation of thermoluminescence properties of gamma irradiated Dy-doped crystalline alumina. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 537*, 46-53.

Balasundaram, G., Gahlot, P., Ahmed, B., Biswas, P., Kumar, V., Svensson, K., . . . Kazmi, A. (2023). Advanced steam-explosion pretreatment mediated anaerobic digestion of municipal sludge: Effects on methane yield, emerging contaminants removal, and microbial community. *Environmental Research, 238*.

Balasundaram, G., Vidyarthi, P., Gahlot, P., Arora, P., Kumar, V., Kumar, M., . . . Tyagi, V. (2022). Energy feasibility and life cycle assessment of sludge pretreatment methods for advanced anaerobic digestion. *Bioresource Technology, 357*.

Baniamerian, H., Isfahani, P., Tsapekos, P., Alvarado-Morales, M., Shahrokhi, M., Vossoughi, M., & Angelidaki, I. (2019). Application of nano-structured materials in anaerobic digestion: Current status and perspectives. *Chemosphere, 229*, 188-199.

Banks, C., & Heaven, S. (2013). Optimisation of biogas yields from anaerobic digestion by feedstock type. *The Biogas Handbook*, 131-165.

Barrena, R., Vargas-García, M., Catacora-Padilla, P., Gea, T., Markeb, A., Moral-Vico, J., . . . Asprya, T. (2023). Magnetite-based nanoparticles and nanocomposites for recovery of overloaded anaerobic digesters. *Bioresource Technology, 372*.

Baruah, M., Dutta, A., Biswas, S., Gogoi, G., Hoque, N., Bhattacharyya, P., & Bania, K. (2022). Fe2O3 nanocatalysts supported on zeolite-Y for the selective synthesis of C2 di-indolyl indolones and isatins. *ACS Applied Nano Materials, 5*(1), 1446-1459.

Bonadiman, M., Pereira, J., Assemany, P., & Aguiar, A. (2024). Assessment of characteristics and treatment processes of wastewater from slaughterhouses in the state of Minas Gerais, Brazil. *Journal of Environmental Management, 358*.

Borges, M., Nicolini, J., Venturini, J., Viegas, A., Zen, M., Klegues, O., & Arcaro, S. (2023). Low-temperature sol-gel synthesis of magnetite superparamagnetic nanoparticles: Influence of heat treatment and citrate-nitrate equivalence ratio. *Ceramics International, 49*(5), 7322-7332.

Brahmbhatt, P., Bharucha, S., Bhatt, A., & Dave, M. (2023). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of magnetite (Fe3O4) nanoparticles by the sol-gel method. *Engineering Proceedings, 56*(1), 293.

Bunaciu, A., Udristioiu, E., & Aboul-Enein, H. (2015). X-ray diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry, 45*(4), 289-299.

Bustillo-Lecompte, C., & Mehrvar, M. (2017). Slaughterhouse wastewater: treatment, management and resource recovery. *InTech*, 153-174.

Caballero, P., Ágabo-García, C., Solera, R., Parrado, J., & Pérez, M. (2020). Eco-energetic management of activated sludge derived from slaughterhouse wastewater treatment: pre-treatments for enhancing biogas production under anaerobic conditions. *Sustainable Energy & Fuels, 4*(10), 5072-5079.

Carlsson, M., Lagerkvist, A., & Morgan-sagastume, F. (2012). The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems : A review. *Waste Manag., 32*(9), 1634-1650.

Carrere, H., Passos, F., Antonopoulou, G., Rouches, E., Affes, R., Battimelli, A., . . . Lyberatos, G. (2014). ENHANCEMENT OF ANAEROBIC DIGESTION PERFORMANCE: WHICH PRETREATMENT FOR WHICH WASTE? *5th International Conference on Engineeering for Waste and Biomass Valorisation*.

Castillo Borges, E., Bolio Rojas, A., Méndez Novelo, R., Osorio Rodríguez, J., & Pat Canul, R. (2012). Remoción de materia orgánica en aguas residuales de rastro por el proceso de contactor biológico rotacional. *Ingeniería, 16*(2), 83-91.

Che, S., Mohd, W. W., Rahman, A., Mohd, M., & Shamsuddin, M. (2018). Synthesis and physicochemical properties of magnetite nanoparticles as potential solid support for homogeneous catalysts. *Malaysian Journal of Analytical Science, 22*(5), 768-774.

Chen, J., Ortiz, R., Steele, T., & Stuckey, D. (2014). Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. *Biotechnology Advances, 32*(8), 1523-1534.

Cheng, J., Li, H., Ding, L., J., Z., Song, W., Li, Y., & Li, R. (2020). Improving hydrogen and methane co-generation in cascading dark fermentation and anaerobic digestion: The effect of magnetite nanoparticles on microbial electron transfer and syntrophism. *Chemical Engineering Journal, 397*.

Chernicharo, C. (2022). *Reactores anaerobios: principios del tratamiento biológico de aguas residuales* (Vol. 5). Universidade de Nariño.

Córdoba, V., Fernández, M., & Santalla, E. (2018). The effect of substrate/inoculum ratio on the kinetics of methane production in swine wastewater anaerobic digestion. *Enviromental Science and Pollutioin Research International, 25*(22), 21308-21317.

Crane, R., & Scott, T. (2012). Nanoscale zero-valent iron: future prospects for an emerging water treatment technology. *Journal of Hazardous Materials, 211-212*, 112-125.

Cuetos, M., Gómez, X., Otero, M., & Morán, A. (2010). Anaerobic digestion and co-digestion of slaughterhouse waste (SHW): Influence of heat and pressure pre-treatment in biogas yield. *Waste Management, 30*(10), 1780-1789.

Czekala, W. N. (2023). Characteristics of Substrates Used for Biogas Production in Terms of Water Content. *Fermentation, 9*(5).

Da Ros, S., Valter, K., Schwaab, M., Barbosa-Coutinho, E., Fernandes, N., & Pinto, J. (2021). Phenomenological approaches for quantitative temperature-programmed reduction (TPR) and desorption (TPD) analysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 94*, 425-434.

Da Silva, C., Astals, S., Peces, M., Campos, J., & Guerrero, L. (2018). Biochemical methane potential (BMP) tests: Reducing test time by early parameter estimation. *Waste Management, 71*, 19-24.

Demichelis, F., Tommasi, T., Deorsola, F., Marchisio, D., & Fino, D. (2022). Effect of inoculum origin and substrate-inoculum ratio to enhance the anaerobic digestion of organic fraction municipal solid waste (OFMSW). *Journal of Cleaner Production, 351*, 131539.

Dumlu, L., Ciggin, A., Rucman, S., & Perendeci, N. (2021). Pretreatment, anaerobic codigestion, or both? Which is more suitable for the enhancement of methane production from agricultural waste? *Molecules, 26*(14).

Dutta, A. (2017). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*, 73-93.

Faisal, S., Salama, E., Malik, K. L., & Li, X. (2020). Anaerobic digestion of cabbage and cauliflower biowaste: Impact of iron oxide nanoparticles (IONPs) on biomethane and microbial communities alteration. *Bioresource Technology Reports, 12*.

Ferdes, M., Dinca, M., Moiceanu, G., Zabava, B., & Paraschiv, G. (2020). Microorganisms and Enzymes Used in the Biological Pretreatment of the Substrate to Enhance Biogas Production: A Review. *Sustainability, 12*(17).

Fernández-Rodríguez, M., Cubero-Cardoso, J., Lama-Calvente, D., Fernández-Prior, A., Rodríguez-Gutiérrez, & Borja, R. (2024). Performance and kinetic evaluation of the anaerobic digestion of olive pomace derived from a novel manufacturing process based on an olive cold-pressing system: influence of the fruit ripening level. *Biomass Conversion and Biorefinery, 14*, 10035-10043.

Filer, J., Ding, H., & Chang, S. (2019). Biochemical methane potential (BMP) assay method for anaerobic digestion research. *Water, 11*(5).

Ganzoury, M., & Allam, N. (2015). Impact of nanotechnology on biogas production: a mini-review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 50*, 1392-1404.

García, A., Ruiz, C., Hermosilla, D., Gascó, A., Muñoz, R., & Godos, I. (2024). Improving the Anaerobic Digestion Process of Wine Lees by the Addition of Microparticles. *Water, 16*(101).

Gong, L., Yang, X., You, X., Wang, J., Zhou, J., & Yang, J. (n.d.). Explore the effect of Fe3O4 nanoparticles (NPs) on anaerobic digestion of sludge. *Environmental Technology, 12*(5), 1542-1551.

Gong, L., Yang, X., You, X., Wang, J., Zhou, J., Zhou, Y., & Yang, J. (2021). Explore the effect of Fe3O4 nanoparticles (NPs) on anaerobic digestion of sludge. *Environmental Technology, 42*(10), 1542-1551.

González-Estrella, J., & Sierra-Álvarez, R. F. (2013). Toxicity assessment of inorganic nanoparticles to acetoclastic and hydrogenotrophic methanogenic activity in anaerobic granular sludge. *Journal of Hazardous Materials, 260*, 278-285.

Guzmán-Armenteros, T., Villacís-Chiriboga, J., Guerra, L., & Ruales, J. (2024). Electromagnetic fields effects on microbial growth in cocoa fermentation: A controlled experimental approach using established growth models. *Heliyon, 10*(3).

Gyadi, T., Bharti, a., Basack, S., Kumar, P., & Lucchi, E. (2024). Influential factors in anaerobic digestion of rice-derived food waste and animal manure: A comprehensive review. *Bioresource Technology, 413*.

Hajdúchová, Z. (2018). Adsorption of dodecylbenzenesulfonic acid on the alumina particles in the preparation of alumina foam. *Ceramics-Silikaty, 62*(2), 1-10.

Harris, P., & McCabe, B. (2015). Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater. *Applied Energy, 155*, 560-575.

Hassanein, A., Lansing, S., & Tikekar, R. (2019). Impact of metal nanoparticles on biogas production from poultry litter. *Bioresource Technology, 275*, 200-206.

Hassanpourmoghadam, L., Aminzadeh Goharrizi, B., Torabian, A., & Bouteh, E. R. (2023). Effect of Fe3O4 nanoparticles on anaerobic digestion of municipal wastewater sludge. *Biomass and Bioenergy, 169*, 106692.

Hassanpourmoghadam, L., Goharrizi, B., Torabian, A., Bouthe, E., & Rittmann, B. (2023). Effect of Fe3O4 nanoparticles on anaerobic digestion of municipal wastewater sludge. *Biomass and Bioenergy, 169*.

Heidebrecht, P., Galvita, V., & Sundmacher, K. (2008). An alternative method for parameter identification from temperature programmed reduction (TPR) data. *Chemical Engineering Science, 63*, 4776-4788.

Heikal, G., Shakroum, M., Vranayova, Z., & Abdo, A. (2022). Impact of Nanoparticles on Biogas Production from Anaerobic Digestion of Sewage Sludge. *Jornal of Ecological Engineering, 23*(8), 222-240.

Hernández-Fydrych, V. B.-O.-O.-Z.-P. (2021). Analysis of the transient inhibited steady-state in anaerobic digestion of a semisolid from pretreated bovine slaughterhouse wastewater. *Revista Mexicana de Ingeniería Química, 20*(2), 541-553.

Hernández-Fydrych, V., Benítez-Olivares, G., Meraz-Rodríguez, M., Salazar-Peláez, M., & Fajardo-Ortiz, M. (2019). Methane production kinetics of pretreated slaughterhouse wastewater. *Biomass and Bioenergy, 130*.

Hernández-Fydrych, V., del Carmen Fajardo-Ortiz, M., & Salazar-Peláez, M. (2022). Performance evaluation and kinetics modeling of a hybrid UASB reactor treating bovine slaughterhouse wastewater. *Environmental Science and Pollution Research, 29*(53), 80994-81005.

Holliger, C., Astals, S., de Laclos, H., Hafner, S., Koch, K., & Weinrich, S. (2021). Towards a standardization of biomethane potential tests: a commentary. *Water Science & Technology, 83*, 247-250.

Hongguang, Z., Jing, Y., & Xiaowei, C. (2019). Application of Modified Gompertz Model to Study on Biogas production from middle temperature co-digestion of pig manure and dead pigs. *E3S Web of Conferences, 118*.

Hou, L., Ji, D., & Zang, L. (2018). Inhibition of Anaerobic Biological Treatment: A Review. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science, 112*(1).

Hsieh, P., Lai, Y., Chen, K., & Hung, C. (2016). Explore the possible effect of TiO2 and magnetic hematite nanoparticle addition on biohydrogen production by Clostridium pasteurianum based on gene expression measurements. *International Journal of Hydrogen Energy, 41*, 21685-21691.

Hussain, A., & Dubey, S. (2014). Specific methanogenic activity test for anaerobic treatment of phenolic wastewater. *Desalination and Water Treatment, 52*(37-39), 7015-7025.

Hussain, A., & Dubey, S. (2017). Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. *Applied Water Science, 7*, 535-542.

Inkson, B. (2016). Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization . *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, 17-43.

Jang, M., Ok, H., Oh, I., Kang, G., Yoo, J., & Lee, K. (2022). Formation of Y3Fe5O12 matrix including ε-phase Fe2O3 with the giant coercive field via optimized sol-gel method. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 552*.

Joubran, Y., Moscovici, A., Portmann, R., & Lesmes, U. (2017). Implications of the Maillard reaction on bovine alpha-lactalbumin and its proteolysis during in vitro infant digestion. *Food & Function, 6*, 2295-2308.

Joubran, Y., Moscovici, A., Portmann, R., & Lesmes, U. (2017). Implications of the Maillard reaction on bovine alpha-lactalbumin and its proteolysis during in vitro infant digestion. *Food & Function, 8*(6), 2295-2308.

Jozwiak, W., Kaczmarek, E., Maniecki, T., Ignaczak, W., & Maniukiewicz, W. (2007). Reduction behavior of iron oxides in hydrogen and carbon monoxide atmospheres. *Applied Catalysis A: General, 326*(1), 17-27.

Karuppiah, T. A. (2018). Biomass pretreatment for enhancement of biogas production. *IntechOpen*.

Kato, S., Hashimoto, K., & Watannabe, K. (2012). Methanogenesis facilitated by electric syntrophy via (semi) conductive iron-oxide minerals. *Environ Microbiol, 14*(7), 1646-1654.

Khadka, A. P.-M. (2022). Effect of the Substrate to Inoculum Ratios on the Kinetics of Biogas Production during the Mesophilic Anaerobic Digestion of Food Waste. *Energies, 15*(3), 834.

Khalil, M. (2015). Co-precipitation in aqueous solution synthesis of magnetite nanoparticles using iron (III) salts as precursors. *Arabian Journal of Chemistry, 85*(2).

Khanam, J., Ahmed, M., Zaman, S., Sharmin, N., & Ahmed, S. (2022). Synthesis of nano-sized magnetitc iron oxide by a simple and facile co-precipitation method. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research, 57*(2), 67-76.

Kim, G., Cayetano, R., Park, J., Jo, Y., Jeong, S., Lee, M., . . . Kim, S. (2022). Impact of thermal pretreatment on anaerobic digestion of dewatered sludge from municipal and industrial wastewaters and its economic feasibility. *Energy, 254*, 124345.

Kim, S., Bae, G., Lee, J., Yoon, Y., & Kim, C. (2023). Effects of Magnetite (Fe3O4) as an Electrical Conductor of Direct Interspecies Electron Transfer on Methane Production from Food Wastewater in a Plug Flow Reactor. *Processes, 11*(10).

Kozlowski, K., Dach, J., Czekala, W., Malinska, K., Swiechowski, K., Pulka, J., & Lewicki, A. (2023). Influence of the Parameters of Used Biochar on the Dark Fermentation Process. *Energies, 16*(22).

Kumar, P., Kumar, S., Pattanaik, L., Khan, A., Ranjan, A., & Sadhu, S. (2023). A critical review on nanotechnological advancement in biogas production from organic waste. *Biomass Conversion and Biorefinery*.

Laiq Ur Rehman, M., Iqbal, A., Chang, C., Li, W., & Ju, M. (2019). Anaerobic digestion. *Water Environment Research, 91*(10), 1253-1271.

Lee, E., Lee, H., Kim, Y. K., Sohn, K., & Lee, K. (2011). Hydrogen peroxide interference in chemical oxygen demand during ozone based advanced oxidation of anaerobically digested livestock wastewater. *International Journal of Environmental Science & Technology, 8*(2), 381-388.

Lee, J., Lee, J., Kim, S., & Yoon, Y. (2023). Effect of Addition of Zero-Valent Iron (Fe) and Magnetite (Fe3O4) on Methane Yield and Microbial Consortium in Anaerobic Digestion of Food Wastewater. *Processes, 11*(3).

Li, X., Guo, S., Peng, Y., He, Y., Wang, S., Li, L., & Zhao, M. (2018). Anaerobic digestion using ultrasound as pretreatment approach: Changes in waste activated sludge, anaerobic digestion performances and digestive microbial populations. *Biochemical Engineering Journal, 139*, 139-145.

Li, Y., Chen, Y., & Wu, J. (2019). Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. *Applied Energy, 240*, 120-137.

Liu, X., Souli, I., Chamaa, M., Lendormi, T., Sabourin, C., Lemée, Y., . . . Lanoisellé, J. (2018). Effect of thermal pretreatment at 70°C for one hour (EU hygienization conditions) of various organic wastes on methane production under mesophilic anaerobic digestion. *AIMS Environmental Science, 5*(2), 117-129.

Liu, Y., Zong, Y., Xie, T., Song, H., & Zhang, J. (2022). Anaerobic Co-Digestion with Food Waste: A Possible Alternative to Overcome the Energy Deficit of Sludge Thermal Pretreatment. *ACS Omega, 7*(43), 38496-38504.

Loganath, R., & Senophiyah-Mary, J. (2020). Critical review on the necessity of bioelectricity generation from laughterhouse industry waste and wastewater using different anaerobic digestion reactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 134*, 110360.

Ma, W., Li, J., Zhong, D., Ge, X., Li, K., Dai, C., & Gao, Y. (2021). New insights into enhanced anaerobic degradation of coal gasification wastewater (CGW) with the assistance of magnetite nanoparticles. *Chemosphere, 262*.

Magnetite Particles Triggering a Faster and More Robust Syntrophic Pathway of Methanogenic Propionate Degradation. (2014). *Environmental Science & Technology, 48*, 7536-7543.

Malatesta, M. (2021). Transmission Electron Microscopy as a Powerful Tool to Investigate the Interaction of Nanoparticles with Subcellular Structures. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(23).

Martins, S., & Boekel, M. (2005). A kinetic model for the glucose/glycine Maillard reaction pathways. *Food Chemistry, 90*, 257-269.

Martins, S., Jongen, W., & Boekel, M. (2000). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology, 11*(9-10), 364-373.

Meegoda, J., Brian, L., Patel, K., & Wang, L. (2018). A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 15*(10), 2224.

Méndez-Contreras, J., Atenodoro-Alonso, J., López-Escobar, L., & Nava-Valente, N. (2023). Enhanced Biogas Production from Thermophilic Anaerobic Digestion of Poultry Slaughterhouse Sludge: Effect of Thermal Pretreatment and Micronutrients Supplementation. *Waste and Biomass Valorization*, 1-14.

Mohammed, A., Khodair, Z., & Khadom, A. (2020). Preparation and investigation of the structural properties of α-Al2O3 nanoparticles using the sol-gel method. *Chemical Data Collections, 29*.

Moscovici, A., Joubran, Y., Briard-Bion, V., Mackie, A., Dupont, D., & Lesmes, U. (2014). The impact of the Maillard reaction on the in vitro proteolytic breakdown of bovine lactoferrin in adults and infants. *Food & Function, 8*, 1898-1908.

Munnik, P., Jongh, P., & Jong, K. (2015). Recent Developments in the Synthesis of Supported Catalysts. *Chemical Reviews, 115*(14), 6687-6718.

Musa, M., & Idrus, S. (2021). Physical and Biological Treatment Technologies of Slaughterhouse Wastewater: A Review. *Sustainability, 13*(9), 4656.

Namduri, H., & Nasrazadani, S. (2008). Quantitative analysis of iron oxides using Fourier transform infrared spectrophotometry. *Corrosion Science, 50*(9), 2493-2497.

Náthia-Neves, G., Berni, M., Dragone, G., Mussatto, S., & Foster-Carneiro, T. (2018). Anaerobic digestion process: technological aspects and recent developments. *International Journal of Environmental Science and Technology, 15*(4).

Nazari, L., Yuan, Z., Santoro, D., Sarathy, S., Ho, D., Batstone, D., . . . Ray, M. (2017). Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater sludge: Process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation. *Water Research, 113*, 111-123.

Neumann, P., Pesante, S., Venegras, M., & Vidal, G. (2016). Developments in pre-treatment methods to improve anaerobic digestion of sewabe sludge. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 15*, 173-211.

Ng, M., Dalhatou, S., Wilson, J., Kamdem, B., Temitope, M. P., Djelal, H., . . . Kane, A. (2022). Characterization of Slaughterhouse Wastewater and Development of Treatment Techniques: A review. *Processes, 10*(7), 1300.

Nguyen, V., Chaudhary, D., Dahal, R., Trinh, N., Kim, J., Chang, S., . . . Nguyen, D. (2021). Review on pretreatment techniques to improve anaerobic digestion of sewage sludge. *Fuel, 285*.

Nie, E., He, P., Zhang, H., Hao, L., Shao, L., & Lü, F. (2021). How does temperature regulate anaerobic digestion? *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 150*, 111453.

Noonari, A., Mahar, R., Sahito, A., & Brohi, K. (2019). Anaerobic co-digestion of canola straw and banana plant wastes with buffalo dung: Effect of Fe3O4 nanoparticles on methane yield. *Renewable Energy, 133*, 1046-1054.

Nyabadza, A., McCarthy, É., Makhesana, M., Heidarinassab, S., Plouze, A., Vazquez, M., & Brabazon, D. (2023). A review of physical, chemical and biological synthesis methods of bimetallic nanoparticles and applications in sensing, water treatment, biomedicine, catalysis and hydrogen storage. *Advances in Colloid and Interface Science, 321*.

Obileke, K., Makaka, G., Mukumba, P., & Tangwe, S. (2025). Improvement of biogas yields in an anaerobic digestion process via optimization technique. *Environment, Development and Sustainability, 27*, 15025-15051.

Oliveira, A., Barata, A., Batista, A., & Gouveia, L. (2019). Scenedesmus obliquus in poultry wastewater bioremediation. *Environmental Technology, 40*(28), 3735-3744.

Omondi, E., Ndiba, P., Chepkoech, G., & Kegode, A. (2023). Modeling anaerobic co-digestion of water hyacinth with ruminal slaughterhouse waste for first order, modified gompertz and logistic kinetic models. *International Journal of Renewable Energy Research, 12*(3), 569-580.

Orrantia, M., Armenta, M., Alvarez, L., Burboa-Charis, V., Meza-Escalante, E., Olivas, A., . . . Maytorena, V. (2024). Enhanced methane production via anaerobic digestion assisted with Fe3O4 nanoparticles supported on microporous granular activated carbon. *Fuel, 360*.

Palatsi, J., Laureni, M., Andrés, M., Flotats, X., Nielsen, H., & Angelidaki, I. (2009). Strategies for recovering inhibition caused by long chain fatty acids on anaerobic thermophilic biogas reactors. *Bioresource Technology, 100*, 4588-4596.

Park, S., Yoon, Y., Han, S., Kim, D., & Kim, H. (2017). Effect of hydrothermal pre-treatment (HTP) on poultry slaughterhouse waste (PSW) sludge for the enhancement of the solubilization, physical properties, and biogas production through anaerobic digestion. *Waste Management, 64*, 327-332.

Pereira, E., Paiva, T., & Silva, F. (2016). Physico-chemical and Ecotoxicological Characterization of Slaughterhouse Wastewater Resulting from Green Line Slaughter. *Water, Air, & Soil Pollution, 227*(199).

Petit, S., & Madejova, J. (2013). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Developments in Clay Science, 5*, 213-231.

Phichairatanaphong, O., Poo-Arporn, Y. C., & Donphai, W. (2022). Effect of Calcination Temperature on Cu-Modified Ni Catalysts Supported on Mesocellular Silica for Methane Decomposition. *ACS Omega, 7*(16), 14264-14275.

Pirozzi, N., Kuipers, J., & Giepmans, B. (2021). Sample preparation for energy dispersive X-ray imaging of biological tissues. *Methods in Cell Biology, 162*, 89-114.

Pirsaheb, M., Ghayebzadeh, M., Moradi, M., Gharagozlou, F., & Sharafi, K. (2015). Ratio variations of soluble to total organic matters at different units of a full scale wastewater integrated stabilization pond. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7*(5), 1326-1332.

Prashanth, P., Raveendra, R., Krishna, R., Ananda, S., Bhagya, N., Nagabhushana, B., . . . Naika, H. (2018). Synthesis, characterizations, antibacterial and photoluminescence studies of solution combustion-derived α-Al2O3 nanoparticles. *Journal of Asian Ceramic societies, 3*(3), 345-351.

Qin, F., Zhang, F., Lu, M., Feng, Q., & Guo, R. (2024). Effect of magnetic multi-walled carbon nanotubes coupled with magnetic field on anaerobic digestion. *Journal of Water Process Engineering, 63*.

Ragasri, S., Vasa, T., & Sabumon, P. (2022). A mini review on effect of nano particles of Fe in the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Materials Today: Proceedings, 51*, 1482-1488.

Rapaso, F., Fernández-Cegrí, V., Rubia, M., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., . . . Koubova, J. (2011). Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic

biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 86*(8), 1088-1098.

Rocha-Meneses, L., Hari, A., Inayat, A., Shanableh, A., Abdallah, M., Ghenai, C., . . . Kikas, T. (2022). Application of nanomaterials in anaerobic digestion processes: A new strategy towards sustainable methane production. *Biochemical Engineering Journal, 188*.

Rodrigues, R., Rodrigues, D., Klepacz-Smolka, A., Martins, R., & Quina, M. (2019). Comparative analysis of methods and models for predicting biochemical methane potential of various organic substrates. *Science of The Total Environment, 649*, 1599-1608.

Rodríguez, C., Alaswad, A., El-Hassan, Z., & Olabi, A. (2017). Mechanical pretreatment of waste paper for biogas production. *Waste Management, 68*, 157-164.

Rodríguez-Abalde, A., Fernández, B., Silvestre, G., & Flotats, X. (2011). Effects of thermal pre-treatments on solid slaughterhouse waste methane potential. *Waste Management, 31*(7), 1488-1493.

Rodríguez-Abalde, A., Gómez, X., Blanco, D., Cuetos, M., Fernández, B., & Flotats, X. (2013). Study of thermal pre-treatment on anaerobic digestion of slaughterhouse waste by TGA-MS and FTIR spectroscopy. *Waste Managemetn & Research, 31*(12), 1195-1202.

Romero-Ortiz, L., Ramírez-Vives, F., Álvarez-Silva, C., & Miranda-Arce, M. (2011). Uso de hidrófitas y un sistema anaerobio para el tratamiento de agua residual de rastro. *Polibotánica, 31*, 157-167.

Rouland, G., Safferman, S., Schweihofer, J., & Garmyn, A. (2024). Characterization of Low-Volume Meat Processing Wastewater and Impact of Facility Factors. *Water, 16*(4).

Saghir, A., & Hajjar, S. (2022). Biological treatment of slaughterhouse wastewater using Up Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) - anoxic-aerobic system. *Scientific African, 16*, 1-14.

Santos, A., Teixeira, K., Pereira, D., & Cavallini, G. (2024). A critical review on slaughterhouse wastewater: Treatment methods and reuse possibilities. *Journal of Water Process Engineering, 58*.

Sarker, S., Lamb, J., Hjelme, D., & Lien, K. (2019). A review of the role of critical parameters in the design and operation of biogas production plants. *Applied Sciences, 9*(9), 1915.

Scherzinger, M., & Kaltschmitt, M. (2021). Thermal pre-treatment options to enhance anaerobic digestibility – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 137*.

Scherzinger, M., & Kaltschmitt, M. (2021). Thermal pre-treatment options to enhance anaerobic digestibility: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 137*, 110627.

Shaker, S., Zafarian, S., Chakra, C., & Rao, K. (2013). Synthesis of magnetite nanoparticles by sol-gel method for environmental applications. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 2*(7).

Shao, Z., Guo, X., Qu, Q., Kang, K., Su, Q., Wang, C., & Qiu, L. (2021). Effects of chlorine disinfectants on the microbial community structure and the performance of anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology, 339*.

Shende, A., & Pophali, G. (2021). Anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater: a review. *Environmental Science and Pollution Research, 28*, 35-55.

Shi, X., Lin, J., Zuo, J., Li, P., Li, X., & Guo, X. (2017). Effects of free ammonia on volatile fatty acid accumulation and process performance in the anaerobic digestion of two typical bio-wastes. *Journal of Environmental Sciences, 55*, 49-57.

Shrestha, B., Hernández, R., Fortela, D., Sharp, W., Chictoserdov, A., Gang, D., . . . Zappi, M. (2020). A review of pretreatment methods to enhance solids reduction during anaerobic digestion of municipal wastewater sludges and the resulting digester performance: implications to future urban biorefineries. *Applied Sciences, 10*(24).

Shrestha, B., Hernandez, R., Fortela, D., Sharp, W., Chistoserdov, A., Gang, D., . . . Zappi, M. (2020). A Review of Pretreatment Methods to Enhance Solids Reduction during Anaerobic Digestion of Municipal Wastewater Sludges and the Resulting Digester Performance: Implications to Future Urban Biorefineries. *Applied Sciences, 10*(24).

Signorini, M. (2007). Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipales. . *Nacameh*, 118-141.

Srividhya, J., & Schnell, S. (2006). Why substrate depletion has apparent first-order kinetics in enzymatic digestion. *Computational Biology and Chemistry, 30*(3), 209-214.

Stan, C. B. (2018). X-Ray Diffraction under extreme conditions at the advanced light source. *Quantum Beam Science, 2*.

Suanon, F., Sun, Q., Mama, D., Li, J., Dimon, B., & Yu, C. (2016). Effect of nanoscale zero-valent iron and magnetite (Fe3O4) on the fate of metals during anaerobic digestion of sludge. *Water Research, 88*, 897-903.

Takai, Z., Asman, S., & Mustafa, M. (2019). Preparation and characterization of magnetite (Fe3O4) nanoparticles by sol-gel method. *International Journal of Nanoelectronics and Materials, 12*(1), 37-46.

Tao, Y. P. (2018). Nanostructured oxides synthesised via scCO2-assisted sol-gel methods and their application in catalysis. *Catalysts, 8*(5).

Thevenon, F., Shantz, A., Alabaster, G., & Johnston, R. (2022). *The Sustainable Development Goals 6 Extended Report.* Retrieved from https://unstats.un.org/sdgs/report/2022/extended-report/

Tian, T., Qiao, S., Li, X., Zhang, M., & Zhou, J. (2017). Nano-graphene induced positive effects on methanogenesis in anaerobic digestion. *Bioresource Technology, 224*, 41-47.

Tsegaye, D., Khan, M., & Leta, S. (2023). Optimization of Operating Parameters for Two-Phase Anaerobic Digestion Treating Slaughterhouse Wastewater for Biogas Production: Focus on Hydrolytic–Acidogenic Phase. *Sustainability, 15*(6), 5544.

Tshimanga, N., Combrink, G., & Kalenga, M. (2021). Surface morphology characterization of grade 304L stainless steel after abrasive blasting. *Materials Today: Proceedings, 38*, 544-548.

Uddin, M., & Wright, M. (2023). Anaerobic digestion fundamentals, challenges, and technological advances. *Physical Sciences Reviews, 8*(9), 2819-2837.

Ünşar, E., & Perendeci, N. (2018). What kind of effects do Fe2O3 and Al2O3 nanoparticles have on anaerobic digestion, inhibition or enhancement? *Chemosphere, 211*, 726-735.

USDA. (2023). Livestock and Poultry: World Markets and Trade. *United States Department of Agriculture*.

Vanegas, M. R. (2022). Pilot-Scale Anaerobic Digestion of Pig Manure with Thermal Pretreatment: Stability Monitoring to Improve the Potential for Obtaining Methane. *Processes, 10*.

Velázquez-Martí, B., Meneses-Quelal, O., Gaibor-Chávez, J., & Niño-Ruiz, Z. (2018). Review of Mathematical Models for the Anaerobic Digestion Process. *IntechOpen*.

Velázquez-Martí, B., Meneses-Quelal, O., Gaibor-Chavez, J., & Niño-Ruiz, Z. (2018). Review of Mathematical Models for the Anaerobic Digestion Process. *IntechOpen*.

Voumik, L., & Sultana, T. (2022). Impact of urbanization, industrialization, electrification and renewable energy on the environment in BRICS: fresh evidence from novel CS-ARDL model. *Heliyon, 8*(11).

Wang, D., Han, Y., Han, H., Li, K., Xu, C., & Zhuang, H. (2018). New insights into enhanced anaerobic degradation of Fischer-Tropsch wastewater with the assistance of magnetite. *Bioresource Technology, 257*, 147-156.

Wang, Q., Xu, Q., Du, Z., Zhang, W., Wang, D., & Peng, Y. (2021). Mechanistic insights into the effects of biopolymer conversion on macroscopic physical properties of waste activated sludge during hydrothermal treatment: Importance of the Maillard reaction. *Science of The Total Environment, 769*.

Wang, Q., Xu, Q., Wang, H., Han, B., Xia, D., Wang, D., & Zhang, W. (2021). Molecular mechanisms of interaction between enzymes and Maillard reaction products formed from thermal hydrolysis pretreatment of waste activated sludge. *Water Research, 206*.

Wang, S., Li, D., Zhang, K., Ma, Y., Liu, F., Li, Z., . . . Du, L. (2023). Effects of initial volatile fatty acid concentrations on process characteristics, microbial communities, and metabolic pathways on solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology, 369*.

Wang, Y., Qin, C., & Witarsa, F. (2018). Clarifying configurations of reaction rate constant for first-order and Monod-type kinetics: A comparative manner and a pursuit of parametric definition. *Waste Management, 77*, 22-29.

Ware, A., & Power, N. (2017). Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions. *Renewable Energy, 104*, 50-59.

Ware, A., & Power, N. (2017). Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions. *Renewable Energy, 104*, 50-59.

Winiarczyk, K., Gac, W., Góral-Kowalczyk, M., & Surowiec, Z. (2021). Magnetic properties of iron oxide nanoparticles with a DMSA-modified surface. *Hyperfine Interactions, 242*.

Wo, D., Li, L., Xing, T., Sun, Y., & Jiang, E. (2022). Enhancement mechanisms of iron powder on co-digestion of kitchen waste and Pennisetum hybrid. *Chemical Engineering Journal, 185*.

Wu, P., & Mittal, G. (2012). Characterization of provincially inspected slaughterhouse wastewater in Ontario, Canada. *Canadian Biosystems Engineering, 54*, 6.9-6.18.

Wu, Y., Xu, L., He, F., Song, X., Ding, J., & Ma, J. (2025). Effects of micro-magnetite on anaerobic co-digestion of waste activated sludge and slaughterhouse waste: Microbial community and metabolism analyses. *Journal of Environmental Management, 379*.

Yadav, H., Shinde, S., Kim, D., Chavan, T., Thorat, N., Ramesh, S., & Bathula, C. (2022). Metal oxide-based composites: synthesis and characterization. *Advances in Metal Oxides and Their Composites for Emerging Applications*, 57-96.

Yadav, S., Shinde, S., Kim, D.-Y., Chavan, T., Thorat, N., Ramesh, S., & Bathula, C. (2022). Metal oxide-based composites: synthesis and characterization. *Advances in Metal Oxides and Their Composites for Emerging Applications*, 57-96.

Yang, G., & Wang, J. (2019). Enhancing biohydrogen production from waste activated sludge disintegrated by sodium citrate. *Fuel, 258*.

Young-Man, Y., Seung-Hwan, K., Kook-Sik, S., & Chang-Hyun, K. (2014). Effects of substrate to inoculum ratio on the biochemical methane potential of piggery slaughterhouse wastes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 27*(4), 600-607.

Zhang, D., Feng, Y., Huang, H., Khunjar, W., & Wang, Z. (2020). Recalcitrant dissolved organic nitrogen formation in thermal hydrolysis pretreatment of municipal sludge. *Environment international, 138*.

Zhang, J., Lu, T., Wang, Z., Wang, Y., Zhong, H., Shen, P., & Wei, Y. (2019). Effects of magnetite on anaerobic digestion of swine manure: Attention to methane production and fate of antibiotic resistance genes. *Bioresource Technology, 291*.

Zhang, Z., Guo, L., Wang, Y., Zhao, Y., She, Z., Gao, M., & Guo, Y. (2020). Application of iron oxide (Fe3O4) nanoparticles during the two-stage anaerobic digestion with waste sludge: Impact on the biogas production and the substrate metabolism. *Renewable Energy, 146*, 2724-2735.

Zhao, H., Cheng, S., Zhao, C., Ruan, K., Xu, J., & Cheng, X. (2023). Effect of nano-Al2O3 and multi-walled carbon nanotubes on the anaerobic mono-digestion of sludge and the co-digestion of tobacco waste and sludge. *RSC Advances, 50*.

Zhao, H., Cheng, S., Zhao, C., Ruan, K., Xu, J., & Cheng, X. (2023). Effect of nano-Al2O3 and multi-walled carbon nanotubes on the anaerobic mono-digestion of sludge and the co-digestion of tobacco waste and sludge. *RSC Advances, 50*.

Zhao, Z., Zhang, Y., Li, Y., Quan, X., & Zhao, Z. (2018). Comparing the mechanisms of ZVI and Fe3O4 for promoting waste-activated sludge digestion. *Water Research, 144*, 126-133.

Zhong, Y., He, J., Wu, F., Zhang, P., Zou, X., Pan, X., & Zhang, J. (2022). Metagenomic analysis reveals the size effect of magnetite on anaerobic digestion of waste activated sludge after thermal hydrolysis pretreatment. *Science of the total environment, 851*.

Zhou, S., Xu, J., Yang, G., & Zhuang, L. (2014). Methanogenesis affected by the co-occurrence of iron (III) oxides and humic substances. *FEMS Microbiology Ecology, 88*(1), 107-120.

Ziara, R., Li, S., Subbiah, J., & Dvorak, B. (2018). Characterization of Wastewater in Two U.S. Cattle Slaughterhouses. *Water Environment Research, 90*(9), 851-863.

Ziganshina, E., Belostotskiy, D., Bulynina, s., & Ziganshin, A. (2021). Effect of magnetite on anaerobic digestion of distillers grains and beet pulp: Operation of reactors and microbial community dynamics. *Journal of Bioscience and Bioengineering, 131*(3), 290-298.

Anexos

Anexo 1

- **Pruebas de Normalidad para ARC con NP y NPS primer ensayo**

Tabla A1. Pruebas de Normalidad para AME

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.864297	0.105249

Tabla A2. Pruebas de Normalidad para A

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.881071	0.158443

Tabla A3. Pruebas de Normalidad para Conversión

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.881274	0.159219

Tabla A4. Pruebas de Normalidad para Remoción DQO

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.970631	0.89508

Tabla A5. Pruebas de Normalidad para Remoción SV

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.975248	0.931161

- **Pruebas ANOVA y Múltiple Rangos para ARC con NP y NPS primer ensayo**

Tabla A6. ANOVA para AME por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	10.495	2	5.24748	21.64	0.0018
Intra grupos	1.45527	6	0.242544		
Total (Corr.)	11.9502	8			

Tabla A7. Pruebas de Múltiple Rangos para AME por Nanopartículas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nanopartículas	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
(1) Sin nanopartículas	3	15.27	X
(2) Sin soporte	3	15.7133	X
(3) Con soporte	3	17.75	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
1 - 2		-0.443333	0.983942
1 - 3	*	-2.48	0.983942
2 - 3	*	-2.03667	0.983942

* indica una diferencia significativa.

Tabla A8. ANOVA para A por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	156.71	2	78.355	6.05	0.0365
Intra grupos	77.7487	6	12.9581		
Total (Corr.)	234.459	8			

Tabla A9. Pruebas de Múltiple Rangos para A por Nanopartículas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nanopartículas	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
(1) Sin nanopartículas	3	51.22	X
(2) Sin soporte	3	51.2833	X
(3) Con soporte	3	60.1033	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
1 - 2		-0.0633333	7.19192
1 - 3	*	-8.88333	7.19192
2 - 3	*	-8.82	7.19192

* indica una diferencia significativa.

Tabla A10. ANOVA para Conversión por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	43.838	2	21.919	6.04	0.0365
Intra grupos	21.7606	6	3.62677		
Total (Corr.)	65.5986	8			

Tabla A11. Pruebas de Múltiple Rangos para Conversión por Nanopartículas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nanopartículas	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
(1) Sin nanopartículas	3	27.0967	X
(2) Sin soporte	3	27.1333	X
(3) Con soporte	3	31.7967	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
1 - 2		-0.0366667	3.80482
1 - 3	*	-4.7	3.80482
2 - 3	*	-4.66333	3.80482

* indica una diferencia significativa.

Tabla A12. ANOVA para Remoción DQO por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	595.119	2	297.56	8.85	0.0162
Intra grupos	201.657	6	33.6095		
Total (Corr.)	796.776	8			

Tabla A13. Pruebas de Múltiple Rangos para Remoción DQO por Nanopartículas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nanopartículas	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
(3) Con soporte	3	60.0133	X
(2) Sin soporte	3	71.5233	XX
(1) Sin nanopartículas	3	79.8467	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
1 - 2		8.32333	11.5826
1 - 3	*	19.8333	11.5826
2 - 3		11.51	11.5826

* indica una diferencia significativa.

Tabla A14. ANOVA para Remoción SV por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	217.068	2	108.534	1.40	0.3178
Intra grupos	466.395	6	77.7324		
Total (Corr.)	683.463	8			

- **Pruebas de Normalidad para ARP con NP y NPS primer ensayo**

Tabla A15. Pruebas de Normalidad para AME

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.85367	0.0808827

Tabla A16. Pruebas de Normalidad para A

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.856956	0.087768

Tabla A17. Pruebas de Normalidad para Conversión

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.856836	0.0875062

Tabla A18. Pruebas de Normalidad para Remoción DQO

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.950885	0.693375

Tabla A19. Pruebas de Normalidad para Remoción SV

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.812823	0.0289378

- **Pruebas ANOVA y Múltiple Rangos para ARP con NP y NPS primer ensayo**

Tabla A20. ANOVA para AME por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	8.47816	2	4.23908	6.57	0.0308
Intra grupos	3.86987	6	0.644978		
Total (Corr.)	12.348	8			

Tabla A21. Pruebas de Múltiple Rangos para AME por Nanopartículas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nanopartículas	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
(2) Con soporte	3	6.83	X
(1) Sin soporte	3	7.27	X
(0) Sin Nanopartículas	3	9.07333	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
0 - 1	*	1.80333	1.60452
0 - 2	*	2.24333	1.60452
1 - 2		0.44	1.60452

* indica una diferencia significativa.

Tabla A22. ANOVA para A por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	101.567	2	50.7837	1.02	0.4146
Intra grupos	297.811	6	49.6351		
Total (Corr.)	399.378	8			

Tabla A23. ANOVA para Conversión por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	29.8385	2	14.9192	1.02	0.4148
Intra grupos	87.5421	6	14.5904		
Total (Corr.)	117.381	8			

Tabla A24. ANOVA para Remoción DQO por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	2744.23	2	1372.11	7.92	0.0207
Intra grupos	1039.21	6	173.202		
Total (Corr.)	3783.44	8			

Tabla A25. Pruebas de Múltiple Rangos para Remoción DQO por Nanopartículas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nanopartículas	*Casos*	*Media*	*Grupos Homogéneos*
(1) Con soporte	3	29.6833	X
(2) Sin soporte	3	32.2233	X
(0) Sin nanopartículas	3	67.93	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
0 - 1	*	38.2467	26.2936
0 - 2	*	35.7067	26.2936
1 - 2		-2.54	26.2936

* indica una diferencia significativa.

Tabla A26. ANOVA para Remoción SV por Nanopartículas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	80.5907	2	40.2953	0.47	0.6482
Intra grupos	518.403	6	86.4004		
Total (Corr.)	598.993	8			

- **Pruebas de Normalidad del segundo ensayo**

Tabla A27. **Pruebas de Normalidad para AME**

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.84055	0.00511849

Tabla A28. **Pruebas de Normalidad para A**

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.822642	0.00254254

Tabla A29. **Pruebas de Normalidad para Conversión**

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.687928	0.0000216427

Tabla A30. **Pruebas de Normalidad para Remoción DQO**

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.970864	0.795076

Tabla A31. **Pruebas de Normalidad para Remoción SV**

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.969624	0.772834

- **Pruebas de Kruskal-Wallis para experimentos con NP y NPS y diferente concentración del segundo ensayo**

Tabla A32. **Prueba de Kruskal-Wallis para AME por Nanopartículas**

Nanopartículas	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
NP	9	7.33333
NPS	9	11.6667

Estadístico = 2.96491 Valor-P = 0.0850854

Tabla A33. **Prueba de Kruskal-Wallis para AME por Concentración**

Concentración	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
30	6	14.3333
60	6	4.66667
120	6	9.5

Estadístico = 9.83626 Valor-P = 0.0073128

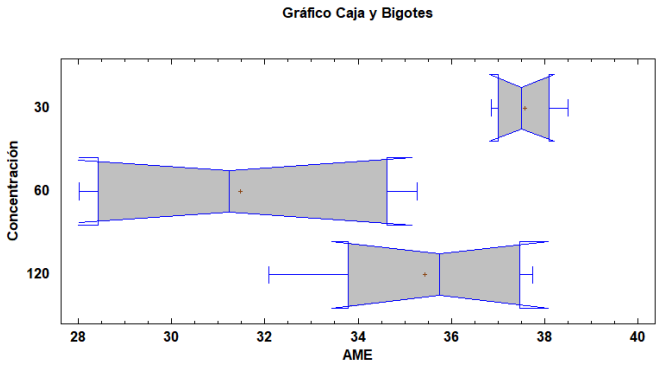


Tabla A34. **Prueba de Kruskal-Wallis para A por Nanopartículas**

Nanopartículas	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
NP	9	7.11111
NPS	9	11.8889

Estadístico = 3.60429 Valor-P = 0.0576271

Tabla A35. **Prueba de Kruskal-Wallis para A por Concentración**

Concentración	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
30	6	12.6667
60	6	9.33333
120	6	6.5

Estadístico = 4.0117 Valor-P = 0.134546

Tabla A36. **Prueba de Kruskal-Wallis para Conversión por Nanopartículas**

Nanopartículas	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
NP	9	5.55556
NPS	9	13.4444

Estadístico = 9.82651 Valor-P = 0.00171941

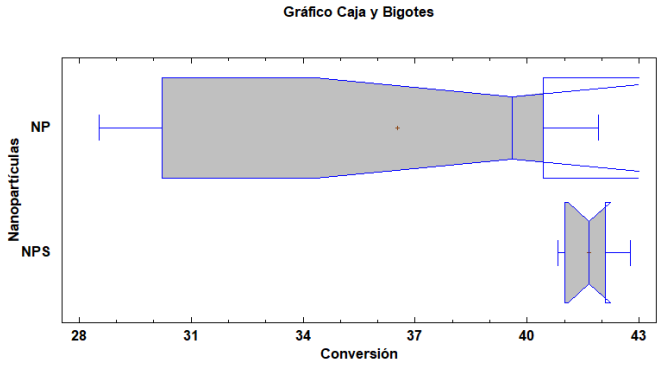


Tabla A37. **Prueba de Kruskal-Wallis para Conversión por Concentración**

Concentración	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
30	6	9.66667
60	6	8.5
120	6	10.3333

Estadístico = 0.362573 Valor-P = 0.834196

Tabla A38. **Prueba de Kruskal-Wallis para Remoción DQO por Nanopartículas**

Nanopartículas	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
NP	9	13.4444
NPS	9	5.55556

Estadístico = 9.83666 Valor-P = 0.00170995

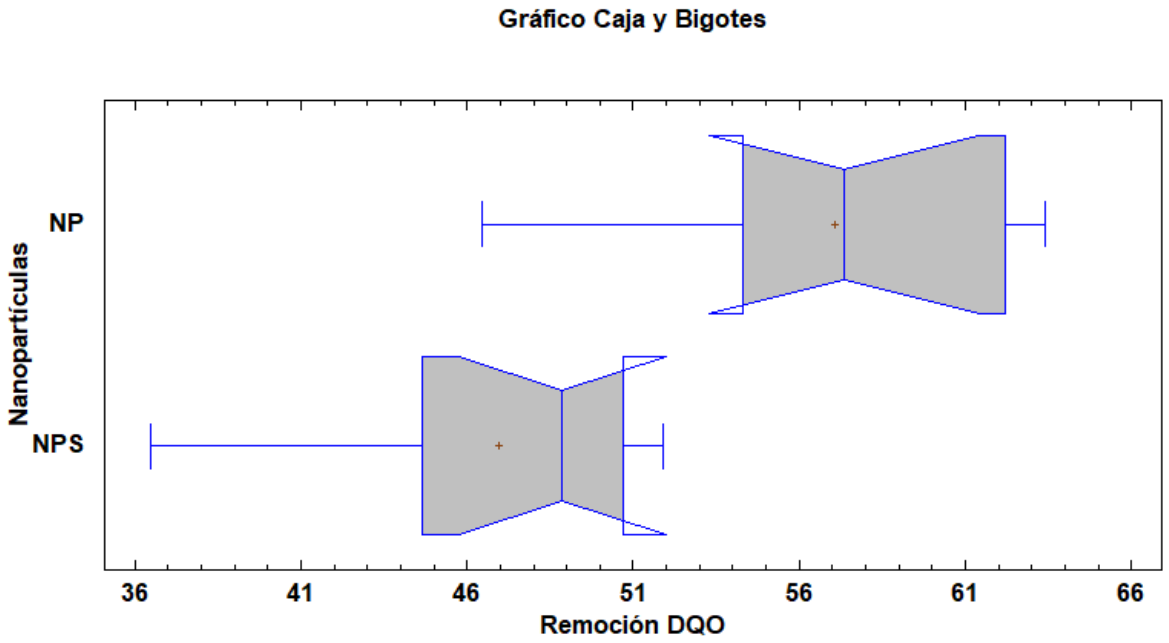


Tabla A39. **Prueba de Kruskal-Wallis para Remoción DQO por Concentración**

Concentración	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
30	6	9.0
60	6	9.91667
120	6	9.58333

Estadístico = 0.0907369 Valor-P = 0.955645

Tabla A40. **Prueba de Kruskal-Wallis para Remoción SV por Nanopartículas**

Nanopartículas	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
NP	9	9.33333
NPS	9	9.66667

Estadístico = 0.0175439 Valor-P = 0.894626

Tabla A41. **Prueba de Kruskal-Wallis para Remoción SV por Concentración**

Concentración	*Tamaño Muestra*	*Rango Promedio*
30	6	8.0
60	6	8.33333
120	6	12.1667

Estadístico = 2.25731 Valor-P = 0.323468

Anexo 2

Figura B1. Producción de biogás acumulado del experimento 1.

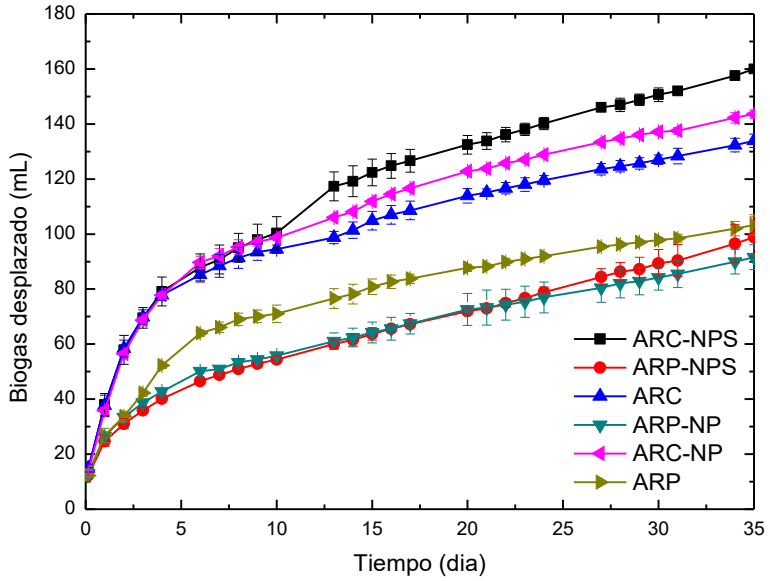


Figura B2. Producción del metano acumulado del experimento 1.

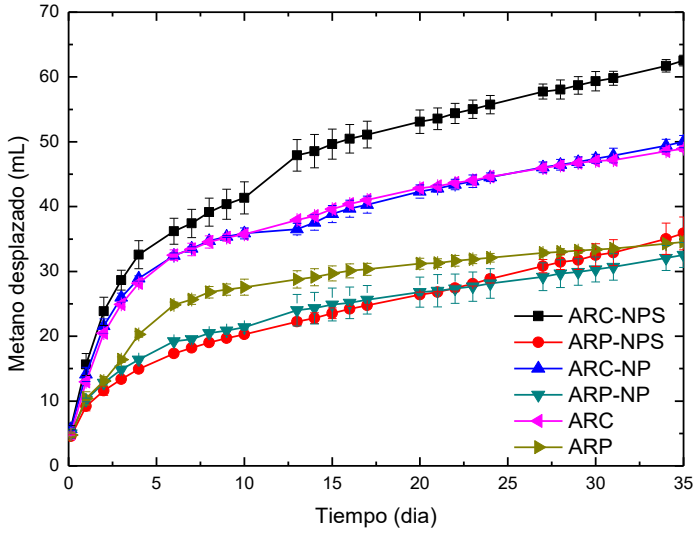
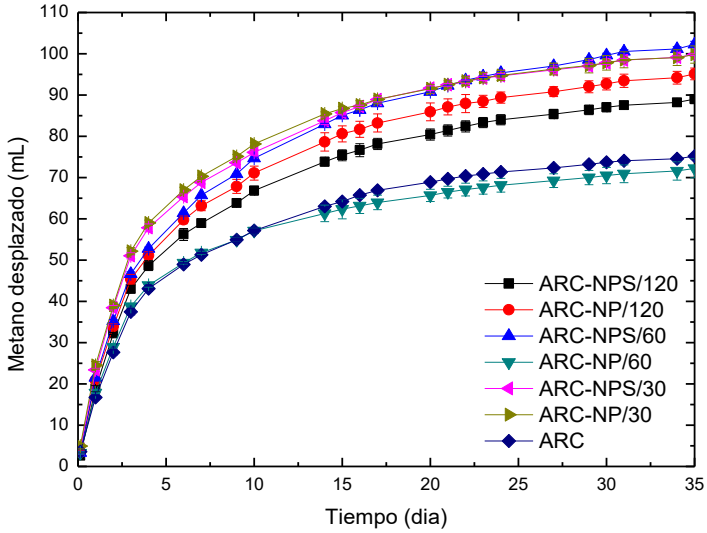


Figura B3. Producción del metano acumulado del experimento 2.



Anexo 3

Equipos empleados para la síntesis de NP de óxido de hierro con y sin soporte.

- Plancha térmica *"Thermo Scientific"*

Energía consumida por el tiempo de uso (2 horas) es: 0.048 kWh.

Figura C1. Detalles técnicos de la plancha térmica.

Ceramic Top Stirrer Specifications

Overall Dimensions	S88854100	S88854105	S88857100	S88857105	S88850100	S88850105
Width - in. (cm)	5.1 (13)	5.1 (13)	8.2 (20.8)	8.2 (20.8)	5.1 (13)	5.1 (13)
Height - in. (cm)	3.9 (9.8)	3.9 (9.8)	4.1 (10.5)	4.1 (10.5)	4.1 (10.5)	4.1 (10.5)
Depth - in. (cm)	10.2 (25.9)	10.2 (25.9)	14.2(36)	14.2(36)	17.2(43.8)	17.2(43.8)
Weight - lbs. (kg)	5.0 (2.2)	5.0 (2.2)	9.0 (4.1)	9.0 (4.1)	13.0 (5.9)	13.0 (5.9)
Top Plate Dimensions						
Width - in. (cm)	4.25 (10.8)	4.25 (10.8)	7.25 (18.4)	7.25 (18.4)	10.5 (26.7)	10.5 (26.7)
Height - in. (cm)	1.0 (2.5)	1.0 (2.5)	1.0 (2.5)	1.0 (2.5)	1.0 (2.5)	1.0 (2.5)
Depth - in. (cm)	4.25 (10.8)	4.25 (10.8)	7.25 (18.4)	7.25 (18.4)	10.5 (26.7)	10.5 (26.7)
Volts	100-120	220-240	100-120	220-240	100-120	220-240
Amps	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1
Watts	24	24	24	24	24	24
Freq.	50/60	50/60	50/60	50/60	50/60	50/60
Phase	1	1	1	1	1	1

- Mufla "*Nabertherm*" modelo LV 9/11.

Energía consumida por el tiempo de uso (3 horas) es: 1.41 kWh.

Figura C2. Detalles técnicos de la mufla.

Modelo Puerta abatible	Tmáx	Dimensiones internas en mm			Volumen	Dimensiones externas[2] en mm			Carga máx. hidrocarburos	Tasa de evaporación máxima	Potencia máxima	Conexión	Peso	Tiempo de calentamiento
	en °C[1]	anch.	prof.	alt.	en l	Anch.	Prof.	Alt.[3]	en g	g/min	en kW	eléctrica*	en kg	en min[4]
LV 3/11	1100	180	150	120	3	345	390	810	5	0,1	1,3	monofásica	20	45
LV 5/11	1100	205	170	130	5	385	415	810	10	0,2	2,6	monofásica	29	55
LV 9/11	1100	235	240	170	9	415	485	865	15	0,3	3,3	monofásica	36	70
LV 15/11	1100	230	340	170	15	415	590	865	25	0,3	3,6	monofásica	44	80

- Horno tubular "*Thermolyne*" modelo Tube Furnace 21100.

Energía consumida por el tiempo de uso (2 horas) es: 2.7 kWh.

Figura C3. Detalles técnicos del horno tubular.

Model Number	**F21135, *F21125**	**F21130, *F21120**	***F21124**	**F21130-33**
Dimensions - In. (cm)				
Overall Width Height	16 (40.6) 14.63, *14.75 (37.2, *37.5)	16 (40.6) 14.63, *14.75 (37.2, *37.5)	16 (40.6) 14.63, *14.75 (37.2, *37.5)	16 (40.6) 14.63, *14.75 (37.2, *37.5)
Chamber Width Height	12 (30.5) 1.0 & 2.0 Dia. (2.5 & 5)	12 (30.5) 1.0 & 2.0 Dia. (2.5 & 5)	12 (30.5) 1.0 & 2.0 Dia. (2.5 & 5)	12 (30.5) 1.0 & 2.0 Dia. (2.5 & 5)
Weight - lbs (Kg)	19 lbs 5 oz (8.8) *19 lbs 12 oz (9.0)	19 lbs 5 oz (8.8) *19 lbs 12 oz (9.0)	19 lbs 5 oz (8.8) *19 lbs 12 oz (9.0)	19 lbs 5 oz (8.8) *19 lbs 12 oz (9.0)
Electrical Ratings Volts Amps Watts Freq. Phase	 120 11.25 1350 50/60 1	 240 5.6 1350 50/60 1	 100 13.5 1350 50/60 1	 230 5.4 1240 50/60 1
Temperature Ratings °C	100 - 1200°C *371 - 1100°C	100 - 1200°C *371 - 1100°C	100 - 1200°C *371 - 1100°C	100 - 1200°C *371 - 1100°C

- Riostato "*Staco Energy Products*" modelo 3PN1010B.

Energía consumida por el tiempo de uso (2.5 horas) es: 0.324 kWh.

Figura C4. Detalles técnicos del riostato.

120V Single Phase Input with up to 140V Outputs

Part Number	Input Volts	PH	HZ	Output Volts	Constant Current/ Constant Impedance* Rating	Features	
1010B				0-120	10A/ 12A*		
M1010B (Motorized)	120	1	50/ 60	0-140	10A	Add 'CT' Suffix for Cased version	DETAILS
3PN1010B	120	1	50/ 60	0-140	10A	Case, Cord, Plug, Switch, Light, Fuse, Receptacle	DETAILS
1210B							
M1210B (Motorized)	120	1	60	0-120	12A/ 15A*	Add 'CT' Suffix for Cased version	DETAILS
3PN1210B	120	1	50/ 60	0-120	12A	Case, Cord, Plug, Switch, Light, Fuse, Receptacle	DETAILS

Tabla C1. Descripción de las características contempladas en cada ensayo para el balance energético.

		Primer ensayo	*Segundo ensayo*
	Unidades	***Cantidad***	***Cantidad***
NP soportadas síntetizadas	g de NPS	1.1	1.1
Consumo	kWh / g de NPS	4.075	4.075
Volumen útil	Litros	0.050	0.08
Concentración NPS	g/Litro	0.120	0.03
Cantidad por botella	g de NPS / Botella	0.006	0.002
Consumo por botella	kWh / Botella	0.024	0.010

Densidad CH_4: 0.667 g/L; calor de combustión: 50.1 kJ/g CH_4; poder calorífico inferior (PCI): 35.8 kJ/L