



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®

Instituto Tecnológico de Orizaba

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ORIZABA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“Desarrollo de biopelícula anaerobia en nanopartículas de grafeno”

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA

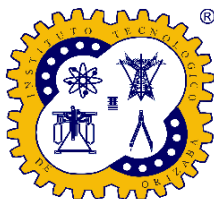
I.Q. Fernando Edilson Luis Hernández

DIRECTOR DE TESIS:

M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú

CODIRECTOR DE TESIS

Dr. Alejandro Alvarado Lassman



ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO

OCTUBRE 2024



Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 14/octubre/2024

Dependencia: División de Estudios de
Posgrado e Investigación
Asunto: Autorización de Impresión
Opción: I

C. FERNANDO EDILSON LUIS HERNÁNDEZ
CANDIDATO AL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA
PRESENTE

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

“Desarrollo de la biopelícula anaerobia en nanopartículas de grafeno”.

Comunico a usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica
CIENCIA – TÉCNICA – CULTURA ®



DRA. OFELIA LANDETA ESCAMILLA
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN CARGO

ccp. Archivo
OLE/navc



OC-13-F06





EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, **20/agosto/2024**
Asunto: Revisión de trabajo escrito

C. DRA. OFELIA LANDETA ESCAMILLA
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E.-

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del C.

FERNANDO EDILSON LUIS HERNÁNDEZ

La cual lleva el título de:

Desarrollo de biopelícula anaerobia en nanopartículas de grafeno.

Y concluyen que se acepta.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURA®

PRESIDENTE: MIQ. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTÚ


FIRMA

SECRETARIO: DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN


FIRMA

VOCAL: DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS


FIRMA

VOCAL SUP.: DR. ERIK SAMUEL ROSAS MENDOZA


FIRMA

TA-09-18



Av. Oriente 9 Núm.852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz.
Tel. 01 (272)1105360 e-mail: dir_orizaba@tecnm.mx tecnm.mx | orizaba.tecnm.mx



Declaración de originalidad y cesión de derechos

Orizaba, Veracruz, el día 30 del mes de octubre del año 2024.

El(la) que suscribe

C. Fernando Edilson Luis Hernández

Declaro que esta tesis, que tiene una extensión de 129 cuartillas, ha sido escrita por mí y constituye el registro escrito del trabajo de la tesis titulada

“Desarrollo de biopelícula anaerobia en nanopartículas de grafeno”

del programa: Maestría en Ciencias en Ingeniería Química, bajo la asesoría y dirección del (la) MIQ. Norma A. Vallejo Cantú y Dr. Alejandro Alvarado Lassman y no ha sido sometida en ninguna otra institución previamente.

Todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal y, en los casos que así lo requieran, cuento con las debidas autorizaciones de quienes poseen los derechos patrimoniales. Por lo tanto, me hago responsable de cualquier litigio o reclamación relacionada con derechos de propiedad intelectual, exonerando de toda responsabilidad al Tecnológico Nacional de México/Instituto tecnológico de Orizaba.

También declaro que, al presentar esta tesis, cedo los derechos del trabajo al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba para su difusión, con fines académicos y de investigación, bajo las regulaciones propias de la institución y que si existe algún acuerdo de confidencialidad de la información lo haré saber en forma escrita para que se omitan las secciones correspondientes.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: depi_orizaba@tecnm.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.

Fernando Edilson Luis Hernández

DEDICATORIAS

A Dios por ser infinitamente misericordioso y nunca abandonarme en este trayecto, porque sin él, la palabra ser humano pierde valor. Gracias mi Dios, por estar siempre conmigo y por tu infinita bondad.

Esta tesis va dedicada especialmente a mi madre. Sin tu apoyo querida madre, no hubiese llegado a esta instancia y a pesar de las situaciones adversas que hemos vivido, nunca me has abandonado. ¡Te amo mamá!

A mi hermano y mejor amigo Vicente Daniel, que ha estado presente en todo momento. Compañero de travesuras y aventuras, gracias hermano por ser una persona en quien puedo confiar. Esta tesis es tanto mía como tuya.

A mi hermanita pequeña Soledad. Hermanita, te prometo que no estarás sola, porque tienes a tu hermano mayor que siempre confiará en su hermana menor, no importa el camino que tomes, sé que serás una persona esplendida.

A mi abuelo Vicente y mi abuela Catalina, gracias por su apoyo y sus consejos. Dedicada también a mi tío Rodrigo y su pareja, pues sin su apoyo esto no sería posible.

A mis amigos, Benny y Martín por ser parte de una amistad inquebrantable que a lo largo de los años nuestros lazos se hacen más fuertes.

A Diana y Areli por acompañarme en esta travesía llamada maestría y por los buenos momentos dentro y fuera del laboratorio. Las risas, los chistes y las bromas no faltaron. Su amistad significa mucho para mí. También, a Leslie por ser una gran amiga y compañera en quien puedo confiar.

A mi gran amigo Berlín, por ser una persona increíble y trabajadora. Gracias por los buenos momentos y las retas de fut. Y por último y no menos importante, a Iris Jaazmin por ser mi escape de la realidad, apareciste cuando más lo necesitaba pues con tu forma de ser me ayudaste bastante. Gracias.

RECONOCIMIENTOS

Maestra Norma A. Vallejo y Dr. Alejandro, gracias por darme la oportunidad de haber trabajado con ustedes y brindarme su tiempo para desarrollar esta investigación. Sus palabras de ánimo, consejos y observaciones fueron de gran ayuda para realizar un trabajo en tiempo y forma.

De igual manera quiero reconocer el trabajo que realizó mi comité revisor. Al Dr. Erik Samuel por tomarse el tiempo de revisar el presente trabajo y señalar correcciones acertadas. De igual manera, al Dr. Juan Manuel M. por sus consejos y apoyo.

Dra. Ofelia Landeta Escamilla, gracias por el conocimiento y los consejos que me dio. Siempre ha estado dispuesta y pendiente de sus alumnos y a las personas que la necesitan, valoro mucho su trabajo. Tiene todo mi respeto y mi admiración, pues es una gran profesionista y persona.

MCIQ. Alexa Mariana Salgado por su tiempo, disponibilidad y amistad para la realización de este proyecto. Tus consejos y forma de superación son se reconocerse. Gracias.

Al Dr. Luis Antonio V. Herrera por brindarme su apoyo como maestro y amigo. Has estado presente desde mis residencias profesionales aconsejándome y guiándome para formarme mejor académicamente. Eres un excelente doctor y ser humano. Gracias por todo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme la beca, para poder lograr este grado académico.

RESUMEN

“Desarrollo de biopelícula anaerobia en nanopartículas de grafeno”

Elaborada por: I.Q Fernando Edilson Luis Hernández

Dirigida por: M.I.Q Norma Alejandra Vallejo Cantú

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

En el presente estudio, se llevó a cabo la síntesis de nanomateriales derivados de grafeno, específicamente nanoplaquetas de grafeno (NP_sG) y puntos cuánticos de grafeno (PCG), mediante la implementación de técnicas basadas en tecnologías sostenibles. Los rendimientos en la producción de los materiales sintetizados fueron del 90.5 % para NP_sG y del 67.5 % para PCG. Los nanomateriales resultantes se inmovilizaron en una matriz de fibras de nailon y se montaron en un soporte de acero inoxidable. Esta configuración se introdujo en un sistema anaerobio, con la finalidad de formar una biopelícula anaerobia que coexista con los nanomateriales empleados. El monitoreo del sistema anaerobio se dividió en tres etapas operativas en las que se retiró el inóculo en cada una (Etapa 1, 2 y 3), durante las cuales se llevaron a cabo análisis de remoción de DQO_T, DQO_S, ST, STV y pH. Se presentó un mayor índice de remoción de DQO_T, DQO_S de la FL de frutas y verduras en la etapa 1, alcanzando valores máximos de 84.69 % y 77.35 % respectivamente. Sin embargo, la etapa representativa fue la 3, debido a que la acción de la biopelícula por si sola (sin inóculo) presentó remociones de 51.42% de DQO_T, 39.68% de DQO_S, 52.7 % y 47.6 % de ST y SV respectivamente.

En las pruebas de potencial bioquímico de metano, se obtuvieron resultados favorables en las cinéticas, pues la biopelícula con NP_sG y PCG en concentraciones óptimas (1 mg/mL y 0.5 mg/mL) tuvo volúmenes de metano de 116 NmL y 126.7 NmL en comparación con la biopelícula sin nanomaterial que sólo generó 106 NmL de biometano, logrando obtener un incremento de biometano del 5.8 % y 18.9 % en las respectivas concentraciones de nanomaterial en la biopelícula. Cabe mencionar que

el biogás obtenido de las cinéticas es rico en metano pues se logró obtener un porcentaje promedio de metano de 71 % y 68.4 %, caso contrario de la biopelícula que presentó sólo el 60.9 % de contenido de metano. Cabe mencionar que se obtuvieron rendimientos de metano de 322.2 mL CH₄/gDQO_{removido} y 348.4 mL CH₄/gDQO_{removido} para la biopelícula con NP_SG₁₀₀ y PCG₅₀, los cuales son relativamente altos. Por último, se determinó el PBM_{ELEMENTAL} y el PBM_{EXP}, en donde el potencial teórico por análisis elemental fue de 523.15 mL CH₄/gSV, mientras que por parte de la biopelícula con PCG₅₀ (valor máximo de 469.2 mL CH₄/gSV) y NP_SG₁₀₀ (valor máximo de 426.6 mL CH₄/gSV) en concentraciones altas de nanomaterial, logrando así de esta manera porcentajes de biodegradabilidad de metano altos (81.5 % y 89.7 %) para cada concentración de nanomaterial en la biopelícula anaerobia.

ABSTRACT

"Development of anaerobic biofilm on graphene nanoparticles"

By: I.Q Fernando Edilson Luis Hernández

Advisor (s): M.I.Q Norma Alejandra Vallejo Cantú

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

In the present study, the synthesis of graphene-derived nanomaterials, specifically graphene nanoplatelets (NP_SG) and graphene quantum dots (PCG), was carried out by implementing techniques based on sustainable technologies. The yields in the production of the synthesized materials were 90.5 % for NP_SG and 67.5 % for PCG. The resulting nanomaterials were immobilized in a matrix of nylon fibers and mounted on a stainless steel support. This configuration was introduced into an anaerobic system, with the aim of forming an anaerobic biofilm coexisting with the nanomaterials used. The monitoring of the anaerobic system was divided into three operational stages, during which COD_T, COD_{O₅}, TSS, VSS and pH removal analyses were carried out. A higher removal rate of COD_T, COD_{O₅} in stage 1 was presented, reaching maximum values of 84.69 % and 77.35 % respectively. However, the representative stage was stage 3, because the action of the biofilm alone (without inoculum) presented removals of 51.42 % of COD_T, 39.68 % of COD_S, 52.7 % and 47.6 % of TSS and VSS, respectively.

In the biochemical methane potential tests, favorable results were obtained in the kinetics, since the biofilm with NP_SG and PCG in optimal concentrations (1 mg/mL and 0.5 mg/mL) had methane volumes of 116 NmL and 126.7 NmL in comparison with the biofilm without nanomaterial that only generated 106 NmL of biomethane, obtaining an increase in biomethane of 5.8 % and 18.9 % in the respective concentrations of nanomaterial in the biofilm. It is worth mentioning that the biogas obtained from the kinetics is rich in methane since an average methane percentage of 71 % and 68.4 % was obtained, contrary to the biofilm that presented only 60.9 % methane content. It is

worth mentioning that methane yields of 322.2 mL CH₄/gCOD_{removed} and 348.4 mL CH₄/gCOD_{removed} were obtained for the biofilm with NPsG₁₀₀ and PCG₅₀, which are relatively high. Finally, PBM_{ELEMENTAL} and PBM_{EXP} were determined, where the theoretical potential by elemental analysis was 523.15 mL CH₄/gVS, while by the biofilm with PCG₅₀ (maximum value of 469. 2 mL CH₄/gVS) and NPsG₁₀₀ (maximum value of 426. 6 mL CH₄/gVS) at high nanomaterial concentrations, thus achieving high methane biodegradability percentages (81.5 % and 89.7 %) for each nanomaterial concentration in the anaerobic biofilm.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABLAS.....	viii
NOMENCLATURA	ix
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	5
1.1 Problemática de los RSO.....	5
1.2 Digestión anaerobia	5
1.2.1 Etapas del proceso de la digestión anaerobia.....	7
1.2.2 Mecanismo de la digestión anaerobia	10
1.3 Factores que afectan a la producción de biogás.....	12
1.4 Biopelícula anaerobia	13
1.5 Potencial bioquímico de metano (PBM)	14
1.6 Nanotecnología en nuestro entorno	16
1.7 Aplicación de nanomateriales en la digestión anaerobia	17
1.8 Antecedentes sobre aplicaciones de nanomateriales en la DA	17
1.9 Nanomateriales derivados del carbono	20
1.9.2 Óxido de grafeno (OG).....	23
1.9.4 Puntos Cuánticos de carbono	26
1.9.5 Nanoplaquetas de grafeno	27

1.10 Espectroscopia.....	28
1.10.1 FTIR.....	30
1.10.2 Espectroscopía de Raman	31
1.10.3 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS)	32
1.11 Microscopía.....	32
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
2.1 Obtención y síntesis de nanoplaquetas y puntos cuánticos de grafeno.	36
2.1.1 Obtención de nanoplaquetas de grafeno.....	36
2.1.2 Obtención de puntos cuánticos de grafeno	38
2.2 Obtención de RSO y caracterización de sustrato.....	41
2.3 Obtención de inóculo	42
2.4 Determinaciones fisicoquímicas	42
2.5 Fijación de los nanomateriales al material de soporte	44
2.6 Acondicionamiento de RI	45
2.7 Etapas, monitoreo y modo de operación del RI	47
2.7.1 Etapa 1 de monitoreo	47
2.7.2 Etapa 2 de monitoreo	48
2.7.3 Etapa 3 de monitoreo	49
2.8 Pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM).	50
2.8.1 Condiciones de las Pruebas de potencial bioquímico de metano	51
2.8.2 Cuantificación de metano.....	52
2.9 Estandarización del biogás de las PBM	52

2.10	Cálculo del potencial bioquímico de metano	54
2.11	Materia volátil adherida (MVA)	56
2.12	Análisis estadístico	57
CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		59
3.1	Rendimiento de los nanomateriales	59
3.2	Caracterización de los nanomateriales.....	60
3.2.1	Caracterización por FTIR	60
3.2.1	Caracterización por UV-Vis.....	63
3.2.2	Caracterización por SEM	66
3.2.3	Caracterización por TEM.....	67
3.3	Caracterización del sustrato	68
3.4	Caracterización del material de soporte	70
3.4.1	Caracterización de las Fibras por FTIR	70
3.4.2	Caracterización de las Fibras por SEM	73
3.4.3	Análisis estadístico de la impregnación de los nanomateriales	74
3.5	Monitoreo de RI.....	76
3.5.1	Monitoreo de DQO	76
3.5.2	Monitoreo se ST y SV	78
3.5.3	Monitoreo de pH.....	79
3.5.4	Análisis estadístico del monitoreo del RI	79
3.5.5	Análisis del Inóculo en las diferentes etapas	81
3.5.6	Análisis de la biopelícula.....	82

3.6	Pruebas de potencial bioquímico de metano de la biopelícula (PBM)	84
3.6.1	Monitoreo de la generación de biogás en las cinéticas	84
3.6.2	Monitoreo de la generación de biometano en las cinéticas.....	86
3.6.3	Biodegradabilidad de la DQO	93
3.6.4	Monitoreo de pH.....	94
3.6.5	Análisis del Potencial bioquímico de metano de la biolelícula.	96
CONCLUSIONES.....		99
RECOMENDACIONES		101
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		102

LISTA DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1.1	Pasos de la digestión anaerobia (Ajay et al., 2020)	7
1.2	Mecanismo de la Transferencia directa entre especies de bacterias fermentativas y metanogénicas	11
1.3	Proceso de formación de una biopelícula	13
1.4	Estructura y propiedades del grafeno	22
1.5.	Técnicas para la síntesis y obtención de grafeno (Bhuyan et al., 2016)	22
1.6	Óxido de grafeno (Yu et al., 2020).	24
1.7	Obtención de OG a partir de grafito (Yu et al., 2020)	24
1.8	a) PCDOG y b) PCG	26
1.9	Estructura típica de puntos cuánticos con diferentes grupos funcionales en la superficie (Yadav et al., 2023)	27
1.10	Estructura del grafito y NPsG (Cataldi et al., 2018)	28
1.11	Espectro electromagnético (Carey., 2003)	29
1.12	Tipos de grupos funcionales encontrados en el espectro IR	30
2.1	Diagrama de la metodología experimental	35
2.2	Etapas para la obtención de NPsG	36
2.3	a) Equipo de explosión de vapor para la obtención de NPsG. b) Nanoplaquetas de grafeno obtenidas	37
2.4	Proceso para la obtención de puntos cuánticos de grafeno	38

Figura	Descripción	Página
2.5	Proceso de oxidación de grafito. a) Mezcla de H_2SO_4 y grafito; b. Incorporación de $KMnO_4$; c) Centrifugado y lavado de grafito oxidado	39
2.6	a) Reactivos químicos utilizados en la oxidación del grafito. b) Óxido de grafito obtenido	40
2.7	a) Autoclave de acero inoxidable. b) Mufla de marca Barnstead/Thermolyne. c) Puntos cuánticos de grafeno	41
2.8	a) Mercado Zapata de la Ciudad de Orizaba, Ver. b) Recolección y acondicionamiento de los residuos sólidos	41
2.9	a) Fibra de nailon. b) Vial de vidrio con capacidad de 35 mL	44
2.10	Fijación de nanomaterial en las fibras. a) inmersión de la fibra en viales para la sonicación. b) Sonicación para la dispersión del material y c) Pesaje de fibras secas	44
2.11	a) Dimensiones del soporte. b) Fibras con el material grafénico en el material de soporte	45
2.12	a) Medidas del RI. b) Sistema de reactor anaerobio para la generación de la biopelícula en los soportes de nailon	46
2.13	Alimentación en modo Batch del RI	
2.14	Condiciones de las pruebas de potencial bioquímico de metano	51
3.1	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier para nanoplaquetas de grafeno (NPsG), grafito explotado (GE) y grafito en polvo (GP)	60

3.2	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier para puntos cuánticos de grafeno, grafito en polvo y óxido de grafeno	62
3.3	Espectro de absorción UV-Vis de a) Grafito en polvo. b) NPsG, c) OG. d) PCG	63
3.4	a) SEM del material precursor (Gp). b) SEM de NPsG. c) SEM de PCG	66
3.5	a) Morfología cristalina de los PCG. b) Dispersión de los PCG visto desde TEM	67
3.6	Composición de frutas y verduras en la FL	68
3.7	FTIR de las Fibras con NPsG en las tres diferentes concentraciones y la Fibra sin nanomaterial (Blanco)	70
3.8	FTIR de las Fibras con PCG en las tres diferentes concentraciones y la Fibra sin nanomaterial (Blanco)	70
3.9	SEM de fibras impregnadas con nanomateriales. a) Fibra Blanco. b) Fibra NPsG ₃₀ . c) Fibra NPsG ₅₀ . d) Fibra NPsG ₁₀₀ . e) Fibra PCG ₃₀ . f) Fibra PCG ₅₀ . g) Fibra PCG ₁₀₀	73
3.10	Gráfico del monitoreo de la remoción de la DQO comprendido en tres etapas	77
3.11	Gráfico del monitoreo de la remoción de ST y SV comprendido en tres etapas	77
3.12	Gráfico del monitoreo del pH de las tres etapas	79
3.13	Modelos de regresión polinomial de cada etapa de monitoreo	81

Figura	Descripción	Página
3.14	Fibra sin nanomaterial. b) Fibra colonizada con PCG. c) Fibra colonizada con NPSG	81
3.15	Biogás acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana con NPSG	81
3.16	Biogás acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana	81
3.17	Monitoreo de biometano de la biopelícula con NPSG	87
3.18	monitoreo de biometano de la biopelícula con PCG	87
3.19	Metano acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana con NPSG	88
3.20	Metano acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana con PCG	89
3.21	Rendimientos de la biopelícula con NPSG	90
3.22	Contenido de biometano en biopelícula con NPSG	90
3.23	Rendimientos de la biopelícula con PCG	91
3.24	Contenido de biometano en biopelícula con PCG	92
3.25	Monitoreo de pH de la biopelícula con NPSG	95
3.26	Monitoreo de pH de la biopelícula con PCG	95

LISTA DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
2.1	Registro de fibras con nanomaterial impregnado	45
2.2	Condiciones de operación para la etapa 1	47
2.3	Condiciones de operación para la etapa 2	49
2.4	Condiciones de operación para la etapa 3	50
3.1	Rendimientos de los diferentes nanomateriales obtenidos	60
3.2	Análisis fisicoquímico de la FL de frutas y verduras	69
3.3	Análisis fisicoquímico de FL de frutas y verduras para las PBM.	69
3.4	Análisis fisicoquímico de la FL de frutas y verduras acondicionada para las PBM	70
3.5	ANOVA de un solo factor de las fibras con NPsG	75
3.6	ANOVA de un solo factor de las fibras con PCG	76
3.7	Caracterización fisicoquímica del inóculo en las diferentes etapas	82
3.8	Materia volátil adherida al material de soporte	83
3.9	Incremento de los valores de rendimientos de biogás y metano	93
3.10	Resultados de la biodegradabilidad en las cinéticas	94
3.11	Análisis elemental de la FL de frutas y verduras	96
3.12	Resultados de potencial bioquímico teórico por análisis elemental	97

3.13	Resultados de potencial bioquímico teórico por composición de DQO	97
------	---	----

NOMENCLATURA

Abreviación	Definición
ST	Sólidos Totales
SV	Sólidos Volátiles
DQO _T	Demanda Química de Oxígeno Total
DQO _S	Demanda Química de Oxígeno Soluble
FL	Fracción Líquida
OG	Óxido de Grafeno
NPsG	Nanoplaquetas de Grafeno
PCG	Puntos Cuánticos de Grafeno
PBM	Potencial Bioquímico de Metano
TRH	Tiempo de Residencia Hidráulico
RI	Reactor de Inoculación
RSU	Residuo Sólido Urbano
RSO	Residuo Sólido Orgánico
IET	Transferencia de Electrones entre Especies
DIET	Transferencia Directa de Electrones entre Especies
MIET	Transferencia Mediada de Electrones entre Especies
pH	Potencial de Hidrógeno
PAC	Carbón Activado en Polvo
ONG	Óxido de Nanografeno
OGR	Óxido de Grafeno Reducido
CQD	Puntos Cuánticos de carbono
PCDOG	Puntos cuánticos de Óxido de Grafeno
CVD	Deposición Química de Vapor
GP	Grafito en Polvo
GGT	Grafito de Grado Técnico
GECV	Grafito Explotado con Vapor
GE	Grafito Explotado
KHz	Kilohertz
NmL	Mililitros normalizados

INTRODUCCIÓN

El manejo de los residuos sólidos en México representa un problema a nivel mundial debido a diversos factores, tales como la falta de información básica, limitación en los recursos económicos para explorar sistemas y tecnologías para el tratamiento de residuos e insuficiencia en su recolección, entre otras. Se estima que un tercio de los alimentos producidos para el consumo humano se pierden o se desperdician, en toda la cadena de suministro, desde la producción agrícola inicial (pérdida) hasta el consumo final en los hogares (desperdicio) (Muñiz *et al.*, 2021).

Una alternativa para aprovechar los residuos generados es hacer uso de los procesos de digestión anaerobia (DA) los cuales se han convertido en uno de los procedimientos más adecuados para el tratamiento de residuales tanto líquidos como sólidos. Esta alternativa resulta una variante biotecnológica sencilla y económica que permite aprovechar el contenido de materia orgánica y los nutrientes de los desechos que posibilitan disminuir la carga contaminante del residuo y generar productos valiosos como son el sustrato orgánico, fertilizantes, remediadores de suelo y biogás (Rodríguez Silverio, 2014).

Por otro lado, la nanotecnología se ha convertido en una tecnología en crecimiento en las industrias ambiental, médica y química (Baniamerian *et al.*, 2019). Es por esto que en el ámbito de la nanotecnología en lo que se refiere a los nanomateriales y debido a las características que presentan, los científicos se han inspirado a investigar cómo influyen en el proceso de digestión anaerobia con el fin de generar energía de forma limpia y sustentable (Ajay *et al.*, 2020).

En este trabajo se realizó una evaluación del crecimiento microbiano y la producción de biogás en pruebas de potencial bioquímico de metano al adicionar nanopartículas de grafeno como lo son las NPsG y los PCG en una matriz polimérica de nailon poliéster que sirvió como material de soporte, posteriormente se desarrolló una biopelícula anaerobia que sea capaz de degradar materia orgánica en presencia de PCG y NPsG, así mismo se observó si la adición de los nanomateriales de carbono

en diferentes concentraciones benefician o inhiben el crecimiento microbiano y la producción de biogás en proceso de la Digestión anaerobia.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Realizar la evaluación del desarrollo de biopelícula anaerobia en nanoplaquetas de grafeno.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Sintetizar y caracterizar nanoplaquetas y puntos cuánticos de grafeno
- Desarrollar biopelícula anaerobia sobre soportes inertes aplicando los materiales grafénicos.
- Monitorear las eficiencias de remoción a través de cinéticas de potencial bioquímico de metano empleando nanoplaquetas y puntos cuánticos de grafeno, utilizando como sustrato la fracción líquida de frutas y verduras.
- Evaluar el potencial de producción de biogás y su contenido de metano en la digestión anaerobia

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Problemática de los RSO

En la actualidad la producción de los desechos sólidos de origen frutal y vegetal va en aumento, lo que ha desencadenado inquietudes debido a su impacto ambiental y económico. Es por eso que se deben tomar medidas para aprovechar estos desechos, pues son considerablemente altos. Si hablamos de estos residuos podemos hacernos una idea de donde se obtienen o bien en donde se desechan en mayor medida, tal es el caso de las operaciones agrícolas, supermercados y mercados locales (Orduña *et al.*, 2022).

Comúnmente, los desechos derivados de frutas y verduras son desechados con la basura común en vertederos clandestinos. Esto conlleva a la proliferación de plagas, generación de olores molestos y emisión de gases que contribuyen al efecto invernadero. Por consiguiente, los desechos de frutas y verduras presentan una opción atractiva para generar energía, ya que pueden ser empleados como material principal en la digestión anaeróbica. Adicionalmente, la producción de energía a partir de este tipo de desechos podría ser una solución beneficiosa para abastecer las crecientes necesidades energéticas en los países que generan cantidades sustanciales de residuos de frutas y verduras (Zia *et al.*, 2022).

1.2 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia (DA) es una alternativa para obtener formas de energías renovables a través del tratamiento de residuos. Esta tecnología se aplica a una amplia gama de residuos orgánicos, incluyendo desechos alimentarios, lodos y estiércol de especies que llegan a producir cantidades considerables de residuos (Barrena *et al.*, 2022). La principal ventaja del proceso de DA, es la obtención y producción de biogás, que puede ser utilizado como fuente de energía para producir electricidad (Demirel, 2016). Sin embargo, el biogás es uno de los tantos productos que se obtienen de la

DA y debe tener en cuenta que la DA genera biomasa la cual puede ser aplicada en la remediación de suelos. Por otra parte, se tiene un efluente como producto de la DA y puede ser empleado como fertilizante dependiendo de sus propiedades (Wang *et al.*, 2019).

El objetivo clave de la DA es la conversión de materia orgánica en metano. Existen cuatro etapas clave en el proceso de la DA. En la etapa primaria, las proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos se fermentan, produciendo hidrógeno, acetato, CO₂ y otros productos. Estos compuestos se convierten posteriormente en metano en etapas subsecuentes. Las reacciones que ocurren en estas etapas están interconectadas y están reguladas termodinámicamente (König *et al.*, 2022).

La digestión anaerobia se considera un proceso viable debido a su disponibilidad técnica y económica en comparación con otros métodos. En contraste con la pirólisis, torrefacción, incineración, gasificación y compostaje, la digestión anaerobia se presenta como un proceso más accesible en términos de características y aplicabilidad (Zamri *et al.*, 2021). Además, la digestión anaerobia representa una estrategia significativa y una alternativa viable para reducir emisiones que contribuyen en la contaminación del medio ambiente (Hijazi *et al.*, 2020). Para mejorar la producción de metano en la DA, se ha investigado el uso de materiales carbónicos como el biochar o el carbón activado que tienen efectos positivos en cuanto a la producción de biogás (Chiappero *et al.*, 2020). También se ha estudiado que al acondicionar (mejorar las condiciones) el sustrato, también se obtiene una mejora significativa en la producción de biogás (Li *et al.*, 2019).

1.2.1 Etapas del proceso de la digestión anaerobia

La conversión de materia orgánica a biogás involucra cuatro etapas en donde los carbohidratos complejos, grasas y proteínas son desintegrados a monómeros como lo son la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos, así como se puede ver en la figura 1.1 (Rajendran *et al.*, 2020). Gran variedad de bacterias y arqueas están involucradas en las etapas de la DA, las cuales ayudan a degradar el sustrato y a generar biogás mediante su proceso metabólico.

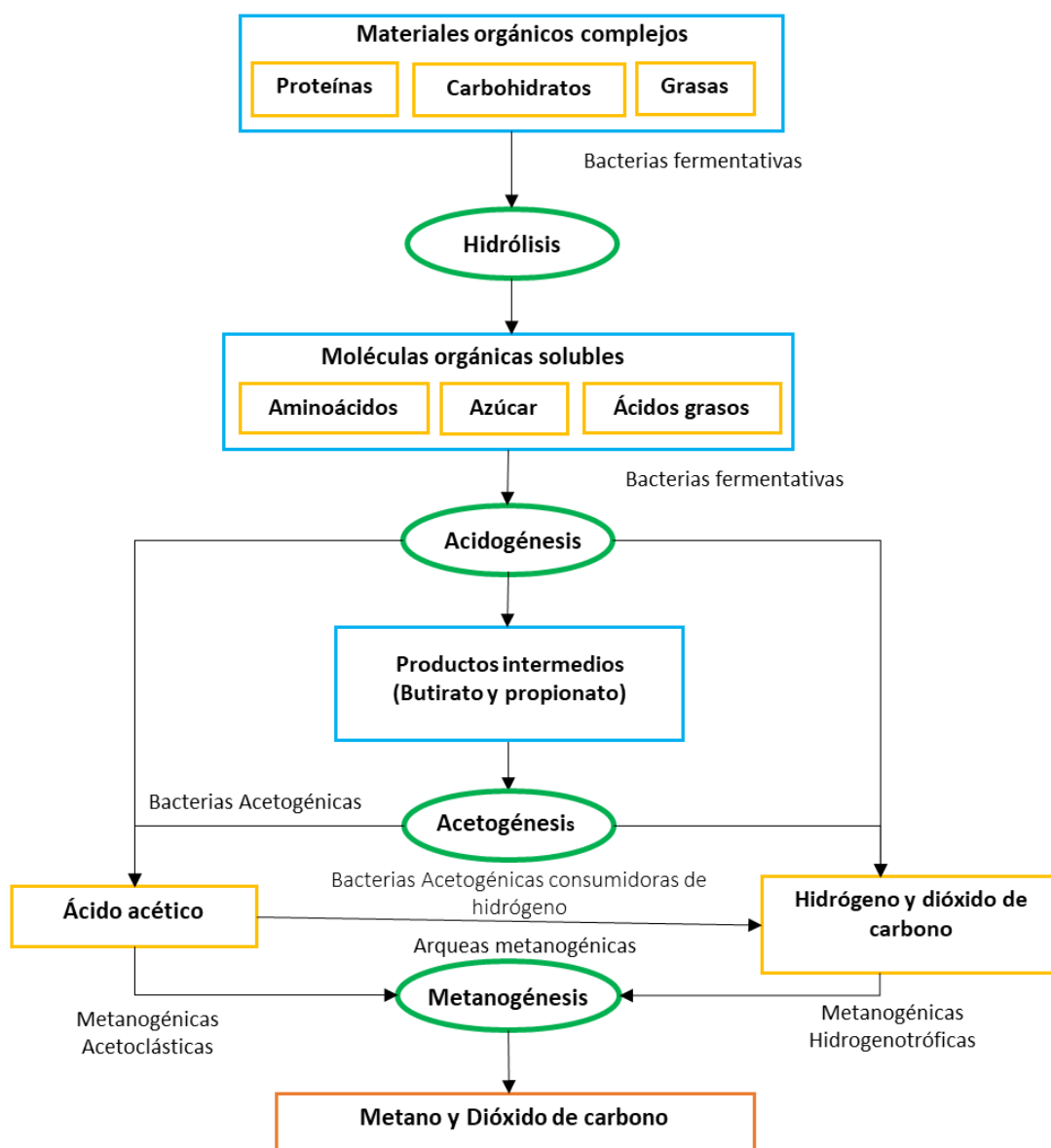
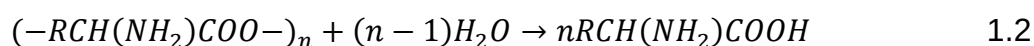
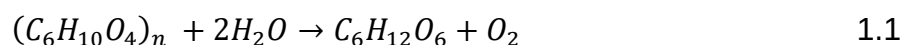


Figura 1.1. Pasos de la digestión anaerobia (Ajay *et al.*, 2020).

- **Primera etapa: Hidrolisis**

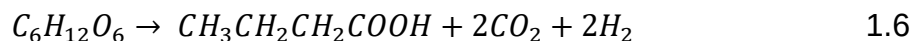
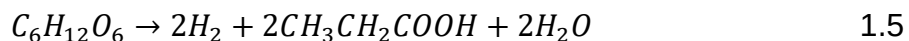
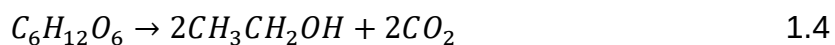
La primera etapa en el proceso de la DA es la hidrólisis, donde el sustrato experimenta la descomposición de polímeros complejos como proteínas, carbohidratos y grasas en moléculas simples y solubles con la ayuda de enzimas extracelulares. Durante esta reacción, las proteínas, lípidos y polímeros de carbohidratos se hidrolizan en aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga, respectivamente, mediante enzimas de microorganismos del género *Clostridium*, *Bateroides*, *Provetella* y *Firmicute*.

El ATP generado en esta etapa es utilizado por los microorganismos para obtener energía (Jain *et al.*, 2015). Las reacciones químicas que tienen lugar en este proceso se muestran a continuación (Hans y Kumar, 2019):



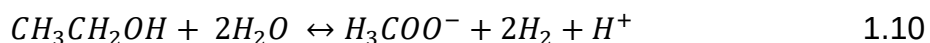
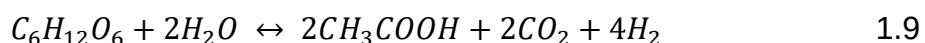
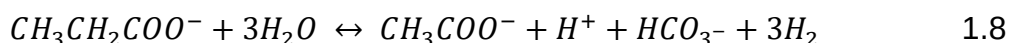
- **Segunda etapa: Acidogénesis**

En esta etapa se lleva a cabo la reducción de los componentes a una cadena corta, es decir, los ácidos grasos de cadena larga del paso anterior (hidrólisis) se reducen a componentes de cadena corta y se les denomina ácidos grasos volátiles de cadena corta, azúcares simples y otros productos en menor medida como lo es el dióxido de carbono, etanol, hidrógeno, trazas de amoníaco y ácido acético. Mediante la ruta Embden-Meyerhof se genera piruvato que es necesario para la producción de ácido propiónico, ácido acético y ácido butírico. Esta etapa se lleva a cabo con la ayuda de las bacterias del género *Clostridium*, *Bacteroides*, *Acidaminococcus*, *propionibacterium* (Hans y Kumar., 2019; Jain *et al.*, 2015).



- **Tercera etapa: Acetogénesis**

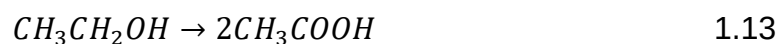
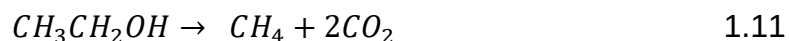
Las bacterias acetogénicas del género *Clostridium*, *Acetobacterium*, *Sporomusa*, *Megasphaera* convierten los ácidos grasos de la etapa anterior en acetato, dióxido de carbono, y/o hidrógeno los cuales se utilizan para la producción de metano (Jain *et al.*, 2015). El crecimiento de las bacterias acetogénicas es lento con un tiempo de duplicación de 1.5 a 4 días. La concentración de los productos obtenidos de esta etapa serán diferentes de acuerdo al tipo de bacteria, así como las circunstancias del entorno y pH (Pramanik *et al.*, 2019). Las reacciones en esta etapa se presentan a continuación (Hans y Kumar., 2019)



- **Cuarta etapa: Metanogénesis**

Es la etapa final de la digestión anaerobia donde una variedad de bacterias metanogénicas consumen el acetato, el CO_2 y el H_2 , dando como producto final biogás con alto contenido de metano y otros gases (Jain *et al.*, 2015). Además, los metanógenos responsables de la generación de metano pertenecen al dominio Archaea, clasificados como microorganismos de crecimiento lento y particularmente

sensible al oxígeno como *Methanobacteria*, *Methanosarcina*, *Methanococcus*, *Methanosaeta* y *Methanothrix* (Üveges *et al.*, 2023).



1.2.2 Mecanismo de la digestión anaerobia

- **Transferencia de electrones entre especies (IET)**

La transferencia de e^- entre especies, por sus siglas en inglés IET, es el principal mecanismo por el cual se obtiene metano debido a la transferencia de electrones entre especies de las bacterias fermentativas y las bacterias metanogénicas, pues en este mecanismo intervienen los microorganismos de la última etapa.

Estudios recientes han reportado que uno de los factores que influye y facilita la IET, es la adición de compuestos redox activos y materiales conductores incluyendo a los nanomateriales que mejoran la sintrofia entre las bacterias y las arqueas (König *et al.*, 2022).

La IET hace uso recurrente de hidrógeno y formiato como transportadores de electrones en el intercambio de electrones entre bacterias de tipo fermentativas y bacterias de tipo metanogénicas, así como se muestra en la Figura 1.2 (Ajay *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2021). Estos compuestos desempeñan un papel fundamental que facilita las reacciones redox y la producción de metano en el proceso de digestión anaerobia.

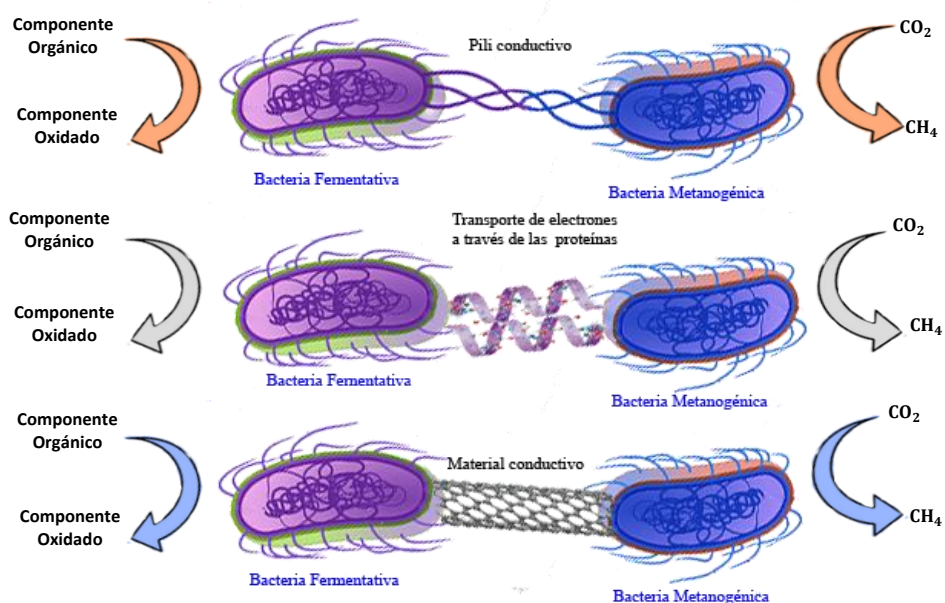


Figura 1.2. Mecanismo de la Transferencia directa entre especies de bacterias fermentativas y metanogénicas (Ajay *et al.*, 2020).

- **Transferencia Directa de e^- entre especies (DIET)**

La transferencia de electrones entre especies, por sus siglas en inglés DIET, es un mecanismo por el cual los microorganismos de tipo fermentativo y los de tipo metanogénico realizan un intercambio de electrones mediante corrientes eléctricas que circulan a través de la Pili microbiana que poseen dichos microorganismos, esta Pili microbiana funciona como un material conductor. A través de este mecanismo de interacción se degradan los ácidos grasos volátiles (Zhao *et al.*, 2021). Por lo tanto, en este proceso, diversos microorganismos en una comunidad pueden compartir equivalentes reductores de electrones para mejorar la degradación metanogénica de los sustratos orgánicos presentes durante la digestión anaerobia (König *et al.*, 2022).

Investigaciones recientes han indicado que la DIET, a través de materiales eléctricamente conductores como el hierro de cero valencia y materiales carbonosos,

resulta más ventajosa desde el punto de vista energético que la transferencia mediada por enzimas, puesto que evita los múltiples pasos enzimáticos necesarios para generar hidrógeno como portador de electrones (Baniamerian *et al.*, 2019). Además, es esencial señalar que los compuestos redox activos y los materiales conductores son factores que facilitan la transferencia de electrones entre especies, mejorando así la armonía entre las bacterias arqueas metanogénicas y permitiendo superar los límites termodinámicos (König *et al.*, 2022).

- **Transferencia de electrones entre especies mediada (MIET)**

Se basa en el intercambio de metabolitos como por ejemplo H_2 y formiato, este fenómeno sucede entre dos microorganismos, además, es uno de los primeros mecanismos descubiertos de transferencia externa de electrones. En la MIET, el microorganismo que dona los electrones reduce los protones a hidrógeno y el microorganismo que acepta los electrones oxida el hidrógeno. Es por eso que es factible sólo a concentraciones que sean lo suficientemente bajas con respecto a H_2 /formiato (metabolitos) debido a las limitaciones termodinámicas (Baniamerian *et al.*, 2019).

1.3 Factores que afectan a la producción de biogás

Los factores que afectan a la generación de biogás son diversos, por lo que es importante tenerlos presentes pues con base a estos factores se puede tener un mayor rendimiento de biogás. Es importante mantener un pH estable, sin embargo, varía dependiendo de la bacteria. La temperatura es un factor importante debido a que existen dos zonas de temperatura significativas en la digestión anaerobia de las cuales se desarrollan dos tipos de microorganismos (Mesófilos y termófilos) que intervienen en la DA. La temperatura mesófila óptima se encuentra en alrededor de $35^{\circ}C$, mientras que la temperatura termófila óptima es de alrededor de $55^{\circ}C$. Los principales nutrientes requeridos por las bacterias en el digestor son C, H_2 , O_2 , N_2 , P y S (Jain *et al.*, 2015).

La materia prima es muy importante en el proceso de digestión anaerobia, es por ello que se debe de contar con un buen sustrato que sea rico en materia orgánica degradable. La cantidad de aditivos es otro factor que se suministra en la DA, dichos aditivos pueden ser los nanomateriales (Dong *et al.*, 2019).

1.4 Biopelícula anaerobia

Las biopelículas son agrupaciones de microorganismos que se adhieren a una superficie y se integran en una matriz compuesta por diversos tipos de polímeros, como proteínas, lípidos y polisacáridos, conocidos como sustancias poliméricas extracelulares. El proceso de formación de una biopelícula se muestra en la Figura 1.3 (Zainab *et al.*, 2020).

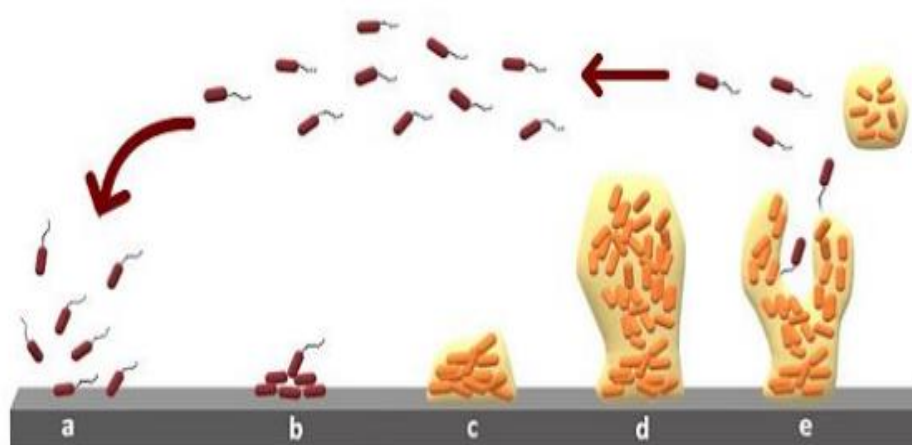


Figura 1.3. Proceso de formación de una biopelícula

El proceso inicia cuando las células bacterianas individuales se adhieren a la superficie de los materiales de soporte (a), seguido de la acumulación (b) y una formación de una monocapa celular (c), posteriormente las colonias maduran y la matriz extracelular proporciona un soporte a la biopelícula (d) para finalizar las bacterias de la biopelícula entran a una fase de dispersión para colonizar nuevas áreas (Araujo-Cuevas., 2019).

Existen varios factores severamente importantes que juegan un papel muy importante en la formación de biopelícula anaerobia, estos factores están relacionados con los

microorganismos, medio ambiente y los portadores. En lo que respecta a los factores ligados a los microorganismos, se deben tener en cuenta el ADN, las proteínas y los lípidos presentes en los microorganismos, ya que estos componentes pueden influir en su capacidad de unión al sustrato. En cuanto a los factores asociados al entorno, es fundamental considerar el pH, la temperatura, los nutrientes presentes en el bioreactor y otros parámetros ambientales. Por último, se deben considerar los parámetros relacionados con el sustrato, que abarcan la técnica de bioimpresión utilizada, la forma, porosidad y las propiedades de hidrofilia o electrofilia del material seleccionado (Chioti *et al.*, 2022).

1.5 Potencial bioquímico de metano (PBM)

El PBM es una herramienta eficaz para evaluar rápidamente la degradación adecuada de un residuo y determinar la eficiencia en la producción de metano (Sánchez-Reyes *et al.*, 2016). Las pruebas del PBM se han utilizado para caracterizar sustratos e investigar las opciones de tratamiento previas y posteriores a la digestión anaerobia. Un método sugerido para llevar a cabo el PBM implica el uso de botellas de cierta capacidad, manteniéndolas a una temperatura constante de 35 °C o 55 °C, y garantizando una mezcla continua durante un período de 30 a 60 días (Filer *et al.*, 2019). Sin embargo, hasta el momento, no se ha establecido un método estándar para determinar el PBM, por lo que varios investigadores proponen la variación en la relación sustrato: inóculo (S: I), la modificación del pH, la temperatura, el tamaño de partícula, entre otros parámetros (Sánchez-Reyes *et al.*, 2016).

1.5.1 Cálculo para el PBM

Para realizar los cálculos de PBM se deben tener en consideración variables que deban ser tomadas para los cálculos correspondientes, las variables son el volumen de metano $V_{CH_4, S, i, t}$ producido en el recipiente i que contiene sustrato e inóculo en el tiempo t , $V_{CH_4, I, j, t}$ el volumen de metano producido en el recipiente j con inóculo y

sustrato en determinado tiempo t , $M_{i, i}$ como la masa de inóculo originalmente agregado en el recipiente, también es importante la masa del sustrato en términos de sólidos volátiles (SV) originalmente agregado al recipiente $m_{VS, S, i}$, el número de réplicas de los recipientes más el sustrato (mínimo se aplican tres replicas) y por último, también se considera el número de réplicas con sólo el inóculo, se les denomina blancos, k (Hafner *et al.*, 2020).

Para llevar a cabo los cálculos del Potencial Bioquímico de Metano (PBM), se deben considerar diversas variables fundamentales. Estas incluyen:

1. Volumen de Metano ($V_{CH_4, S, i, t}$): Es el volumen de metano producido en el recipiente i que contiene tanto el sustrato como el inóculo en un tiempo específico t .
2. Volumen de Metano ($V_{CH_4, I, j, t}$): Representa el volumen de metano producido en el recipiente j con inóculo y sustrato en un tiempo determinado t .
3. Masa de Inóculo ($M_{i, i}$): Indica la masa de inóculo que se agregó inicialmente al recipiente i .
4. Masa de Sustrato en Sólidos Volátiles ($m_{VS, S, i}$): Corresponde a la masa del sustrato en términos de sólidos volátiles (SV) que se añadió originalmente al recipiente i .
5. Número de Réplicas con Sustrato (n): Es el número de réplicas de los recipientes que contienen tanto el sustrato como el inóculo. Se aplica un mínimo de tres réplicas.
6. Número de Réplicas de Blanco (k): Representa el número de réplicas que contienen solo el inóculo, conocidas como blancos.

Estas variables son esenciales para realizar los cálculos precisos del PBM y evaluar la producción de metano en relación con el sustrato y el inóculo en un contexto de digestión anaerobia (Hafner *et al.*, 2020).

Las ecuaciones serían las siguientes:

$$v_{CH_4,I,j,t} = \frac{V_{CH_4,I,j,t}}{m_{i,j}} \quad 1.14$$

$$\bar{v}_{CH_4,I,t} = \frac{\sum_{j=1}^k v_{CH_4,I,j,t}}{k} \quad 1.15$$

$$V_{CH_4,S,j,t,net} = V_{CH_4,S,i,t} - \bar{v}_{CH_4,I,t} * m_{i,j} \quad 1.16$$

$$B_{i,t} = \frac{V_{CH_4,S,j,t,net}}{m_{VS,S,i}} \quad 1.17$$

$$B_t = \frac{\sum_{i=1}^n B_{i,t}}{n} \quad 1.18$$

1.6 Nanotecnología en nuestro entorno

En la actualidad, la nanotecnología promete mucho en el cuidado y remediación del medio ambiente puesto que puede ayudar a minimizar el volumen de desechos, la reducción de contaminantes y como alternativa en el uso y provisión de energía (Rodríguez-Sartori, 2020).

La aplicación de la nanotecnología puede mejorar la eficiencia en la implementación de energías que se consideran limpias que reducen la contaminación y el impacto negativo al medio ambiente, por ejemplo, en celdas solares, energía geotérmica y el reemplazo de combustibles fósiles por energías renovables. Por otra parte, la nanotecnología y las nanopartículas tienen una gran aplicación en el tratamiento de aguas residuales debido a la interacción con varios grupos funcionales y gran capacidad para oxidar, descomponer y remover contaminantes presentes en el agua residual (Taran *et al.*, 2021).

Los nanomateriales han sido empleados en la agricultura en dosis adecuadas teniendo mejoras en los cultivos (Hao *et al.*, 2019). Sin embargo, para poder evaluar el efecto que tiene un material en el medio ambiente es necesario conocer en una primera instancia las características intrínsecas del material para posteriormente investigar las

modificaciones que podrían llevarse a cabo una vez insertado en el entorno ambiental (Rodríguez-Sartori, 2020).

1.7 Aplicación de nanomateriales en la digestión anaerobia

Los nanomateriales tienen propiedades fisicoquímicas excelentes, como el área superficial, tamaño, algunas propiedades catalíticas, solubilidad, etc. Por otra parte, los nanomateriales tienen varias propiedades que los hacen muy interesantes debido a su interacción con sistemas biológicos pues son capaces de penetrar las membranas celulares de los microorganismos propiciando una mejor interacción con el sistema inmunológico de los microorganismos (Baniamerian *et al.*, 2019). Investigaciones recientes en la digestión anaerobia han demostrado que se puede mejorar el rendimiento de la producción de biogás y metano, es decir, adicionar ciertos componentes orgánicos o inorgánicos se obtienen buenos resultados.

Los componentes orgánicos e inorgánicos que se llegan a adicionar en la DA se clasifican en macronutrientes y micro nutrientes. Los macronutrientes son fósforo, sulfuros y nitrógeno, mientras que los micronutrientes se basan en compuestos como hierro, níquel, cobalto, etc. (Ajay *et al.*, 2020). Por esta razón, la inclusión de aditivos en la DA, como el biochar, grafeno y sus derivados, resulta en una mejora notable y significativa en la producción de biogás. La producción de biogás es un parámetro importante que ayuda a verificar los efectos de los nanomateriales en la Digestión anaerobia (Barrena *et al.*, 2022; Arif *et al.*, 2018).

1.8 Antecedentes sobre aplicaciones de nanomateriales en la DA

Tian *et al.*, (2017), estudiaron tiempos cortos y tiempos prolongados con respecto a los efectos del material de carbono (nanografeno) en la etapa de la metanogénesis de la DA. Los resultados de los tiempos no prolongados revelaron que el grafeno en dosis

de 30 mg/L ejerce efectos beneficiosos en la velocidad de producción de metano. Esto se traduce en una mejora cuando se utiliza acetato y no se usa hidrógeno (H₂). Concretamente, se observó un aumento del 17.0 % y 51.4 % en la velocidad de producción de metano, lo que demuestra el impacto positivo del grafeno en este proceso. Sin embargo, los resultados de los tiempos largos de exposición de grafeno con altas concentraciones (120 mg/L) mostraron que el grafeno causa inhibición microbiana, indicando que puede existir citotoxicidad cuando se usan nanomateriales a altas concentraciones en la digestión anaerobia. Por lo tanto, el incremento para producir metano puede ser mejorado por adición de nanopartículas de grafeno y temperaturas mesófilas con un manejo moderado de los mismos.

La conductividad notable del grafeno, un derivado del carbón, tiene un impacto significativo. En el contexto de nanomateriales, muestra una mejora en el proceso de DA, favoreciendo la generación de etanol, un producto intermediario crucial. Este material fue estudiado por Lin *et al.*, (2017), observaron que al agregar grafeno en dosis de 1.0 g/L resultaba como una mejora de la producción de metano. Además, Lin *et al.*, (2017), obtuvieron una mayor degradación de etanol en un 29.1 % con la adición de grafeno en el proceso de DA. Por otro lado, desde el punto de vista microbiológico, los análisis revelaron que las especies electrogénicas de *Geobacter* y *Pseudomonas* junto con *Archea Methanobacterium* y *Methanospirillum* están involucradas en la Transferencia directa de electrones entre especies (DIET).

Kaushal *et al.*, (2018), utilizaron nanopartículas de grafeno y suspensión pretratada de hidróxido de calcio (Ca (OH)₂), esta suspensión fue mezclada con paja de trigo para mejorar la producción de biogás y metano en la digestión anaerobia. La composición óptima de nanopartículas de OG y los demás aditivos se seleccionaron con respecto a estudios previos. El rendimiento acumulado de metano tuvo valores significativos ($p < 0.05$) con las muestras pertinentes. Además, cabe destacar que se obtuvieron valores aceptables cuando se reducía el TRH.

Otro de los estudios con respecto al grafeno en la DA es el que realizaron Dong *et al.*, (2019), debido a que investigaron la aplicación e influencia del óxido de nanografeno en la producción de metano en la DA de lodos residuales activados. Los resultados obtenidos muestran que la producción de metano disminuyó con el aumento de aditivos de óxido de nanografeno y la producción acumulada de metano disminuyó en un 7.6 % y 12.6 % a las tasas de dosificación de óxido de nanografeno de 0.054 mg/mg-SV y 0.108 mg/mg-SV, respectivamente. El análisis basado en modelos indicó que el óxido de nanografeno redujo significativamente el potencial de metano bioquímico. Sin embargo, el óxido de nanografeno no tiene un efecto significativo sobre los procesos de hidrólisis y ácido génesis, pero si sobre la disminución de producción de CH₄ en la etapa de metanogénesis debido a la absorción de sustratos orgánicos por parte del OG.

En ese mismo año Hao *et al.*, (2019), investigaron los posibles efectos de nanomateriales carbónicos sobre la producción y el rendimiento de CH₄ en la DA, estos materiales fueron nanotubos de carbono de pared múltiple y fullereno. Al final, hubo una mejora en la producción de metano. Además, también se analizó el contenido de sólidos totales el cual decreció y también el pH. Por otro lado, la exposición a 50 mg/kg de nanomateriales no tuvo impacto sobre la digestión anaerobia. En cuanto a la parte microbiológica, el cambio fue evidente en la bacteria *Methanobacterium*, cuya abundancia relativa aumentó significativamente (en un 67 %, 53 % y 120 % con 50 mg/kg de fullerenos, 50 y 500 mg/kg de nanotubos de carbono de pared múltiple, respectivamente).

Wang *et al.*, (2021), realizaron un estudio en donde comparó y exploró la influencia de nanomateriales derivados del carbono como el grafito, grafeno y OG en la codigestión anaerobia que fue alimentada con lodos. Estudiaron la evolución de la comunidad microbiana y algunos genes de resistencia antibióticos. El grafeno exhibió buen comportamiento para mejorar la producción de metano y la degradación orgánica aumentó un 36,09 % y un 23,07 % respectivamente, además tuvo la mayor influencia

en la eficiencia de eliminación de blaOXA-1, genes de resistencia a macrólidos (ermF y ermB) y algunos genes de resistencia a tetraciclina (tetQ y tetX).

Claes *et al.*, (2021), investigaron el efecto de materiales conductores como el biochar y el grafeno, además la suplementación de metales traza para mejorar la producción de biogás en la DA de la cáscara de manzana. Los resultados que obtuvieron Claes *et al.*, (2021), indican que la adición de materiales carbónicos ayuda a la producción de biogás en la DA. Cuando los metales traza se mezclaron con el biochar, la producción de biogás aumento. Sin embargo, la mejora en la producción de biogás fue significativamente mayor para los reactores con grafeno (27,8 %). Se concluyó que la digestión anaerobia complementada con materiales conductores a base de carbono y metales traza es una opción viable para valorizar la cáscara de manzana.

König *et al.*, (2022), estudiaron los efectos conductivos de ciertos materiales conductivos en la AD de aguas residuales y la transferencia de electrones entre especies de los grupos microbianos involucrados en la digestión anaerobia. Los materiales que se emplearon fueron el grafeno, PAC y biochar, los cuales se adicionaron a procesos Bach de 3.5 L con 1170 mL de Inóculo de aguas residuales y posteriormente se analizó la curva de producción de grafeno. La adición de grafeno produjo un excelente de biogás del 33 %, PAC del 20 % y biochar del 8 %. En la primera experimentación, la cual fue significativa debido al primer pico de actividad (entre 70 y 120 h), el reactor con grafeno produjo la mejor calidad con un contenido de metano del 50 %, con PAC se obtuvo 49.4 % y con biochar se obtuvo 43.7 %. El grafeno también parece promover una transferencia de electrones entre especies con respecto a *Geobacter sp.* y *ca. Metanofastidiosum*.

1.9 Nanomateriales derivados del carbono

Los nanomateriales presentan nanoestructuras basadas en carbono y se hallan en diversos tipos de derivados de este elemento, por ejemplo, el grafeno, nanotubos de

carbono y nanofibras. Entre estos materiales, el diamante destaca por su elevado costo, lo que lo hace poco viable para investigaciones.

Estos nanomateriales poseen una amplia área superficial que es adecuada para la deposición de polímeros conductores y nanopartículas de metal u óxido de metal. Se caracterizan por sus reducidas dimensiones, gran estabilidad química y elevada conductividad térmica (Baniamerian *et al.*, 2019). Investigaciones recientes indican que los nanomateriales de carbono podrían tener un uso potencial en la producción de metano en la digestión anaerobia. Esto se puede lograr mediante la modificación o ajuste de arqueas y/o comunidades de bacterias, permitiendo así la obtención de biogás y agua tratada para su aplicación en la agricultura (Hao *et al.*, 2019).

A continuación, se mencionan algunos de los diferentes nanomateriales derivados del carbono y grafeno que se relacionan con la digestión anaerobia.

1.9.1 Grafeno

El grafeno es un material que se deriva del carbono, pues este material posee una capa atómica de carbonos hibridados sp^2 , además, tiene propiedades muy interesantes, por ejemplo, alta conductividad eléctrica y térmica, alta área superficial, propiedades ópticas, propiedades químicas, alto módulo de Young, etc. (Pérez *et al.*, 2022). En cuanto a su estructura, se puede apreciar de mejor manera en la Figura 1.4. Se puede ver que es una lámina con estructura 2D en la que posee un arreglo de carbonos en forma de panal o hexágonos, no presenta reactividad en los bordes, es decir, no se puede agrupar con grupos funcionales con facilidad, sin embargo, se puede modificar para que sus propiedades cambien mediante tratamientos térmicos o de oxidación mediante agentes químicos.

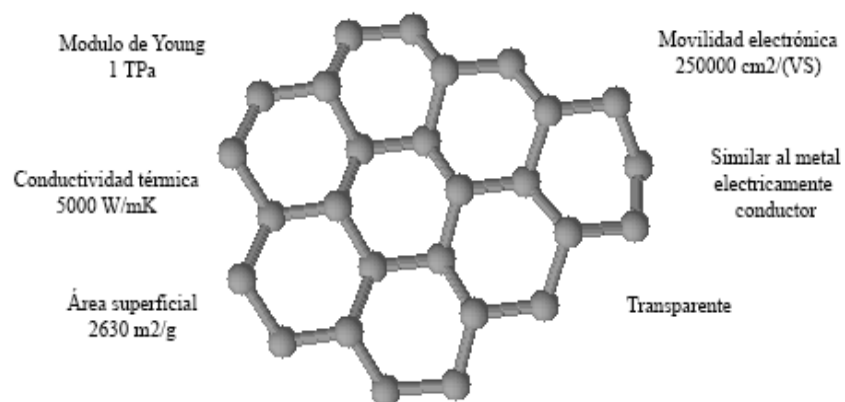
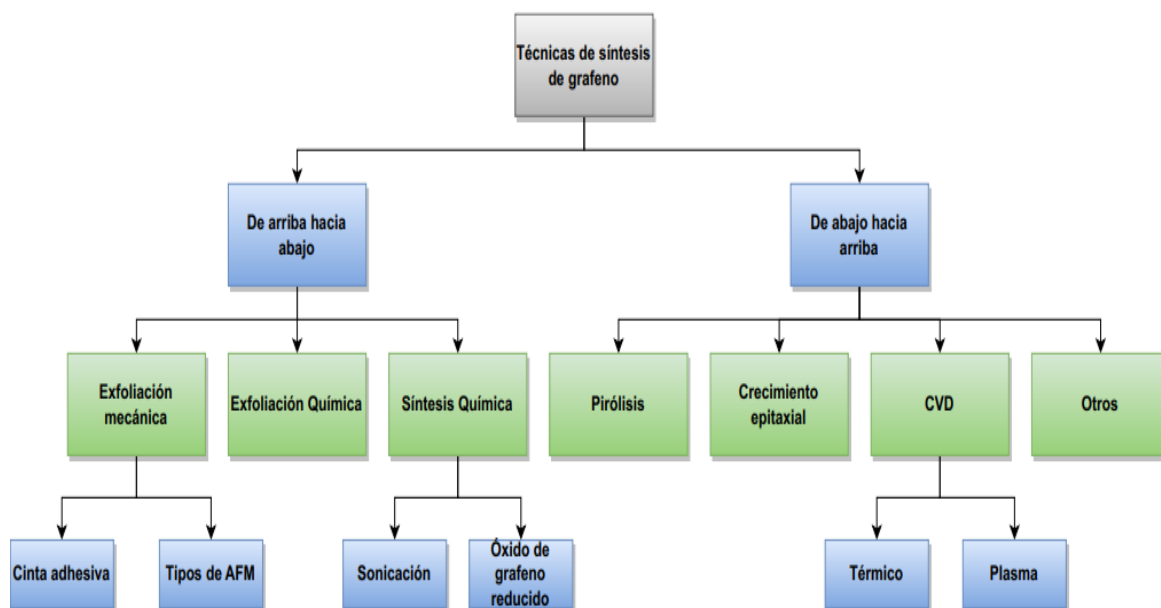


Figura 1.4. Estructura y propiedades del grafeno.

La síntesis del grafeno implica cualquier proceso destinado a fabricar o extraer grafeno. La pureza y eflorescencia del producto varían según el tamaño deseado del material. Se han investigado varias técnicas para la producción de grafeno, y estas se detallan en la Figura 1.5 (Bhuyan., 2016).

Figura 1.5. Técnicas para la síntesis y obtención de grafeno (Bhuyan *et al.*, 2016).

Se ha estudiado que el grafeno tiene propiedades antimicrobianas, sin embargo, esta propiedad se presenta en sólo algunos casos. En la actualidad se sabe poco sobre el impacto del grafeno en las comunidades microbianas anaerobias en la digestión anaerobia (Lin *et al.*, 2017). Se ha revelado que el grafeno al adherirse a la membrana de la bacteria causa estrés oxidativo y apoptosis celular. Aunque se ha investigado ampliamente el impacto de los nanomateriales en la DA, se ha prestado escasa atención a generación de biomasa producida por la DA y al proceso microbiano que involucra la interacción del grafeno con las comunidades bacterianas (Tian *et al.*, 2017).

En este sentido, se plantea que el grafeno podría ofrecer una solución para mejorar la estabilidad y la eficiencia de la DA. Se ha investigado que la implementación de grafeno como un componente conductor en la DA facilita la transferencia directa de electrones entre especies, lo que ayuda a mejorar la producción de metano (Lin *et al.*, 2017).

1.9.2 Óxido de grafeno (OG)

El OG también conocido como óxido de nanografeno (ONG) es un nanomaterial derivado del grafeno, es decir, al oxidar grafeno se adicionan grupos funcionales en las láminas grupos funcionales son hidroxilos, oxígeno, entre otros grupos oxigenados como se muestra en la Figura 1.6, por lo que se convierte en un material más complejo que el grafeno (Yu *et al.*, 2020). El método más común para su obtención es el método de Hummers, el cual parte del grafito convencional y termina en óxido de grafeno (Pei *et al.*, 2012). A continuación, se muestra de manera esquemática en la Figura 1.7.

Varias investigaciones han obtenido óxido grafeno mediante nuevas tecnologías, sin embargo, uno de los métodos más novedosos y con buenos resultados es el que realizaron Pérez *et al.*, (2022), en el cual obtuvieron OG partiendo grafito convencional

y aplicando el método de hummers modificado para posteriormente llevar un proceso de sonicación para exfoliar y separar las capas de óxido de grafito hasta obtener OG.

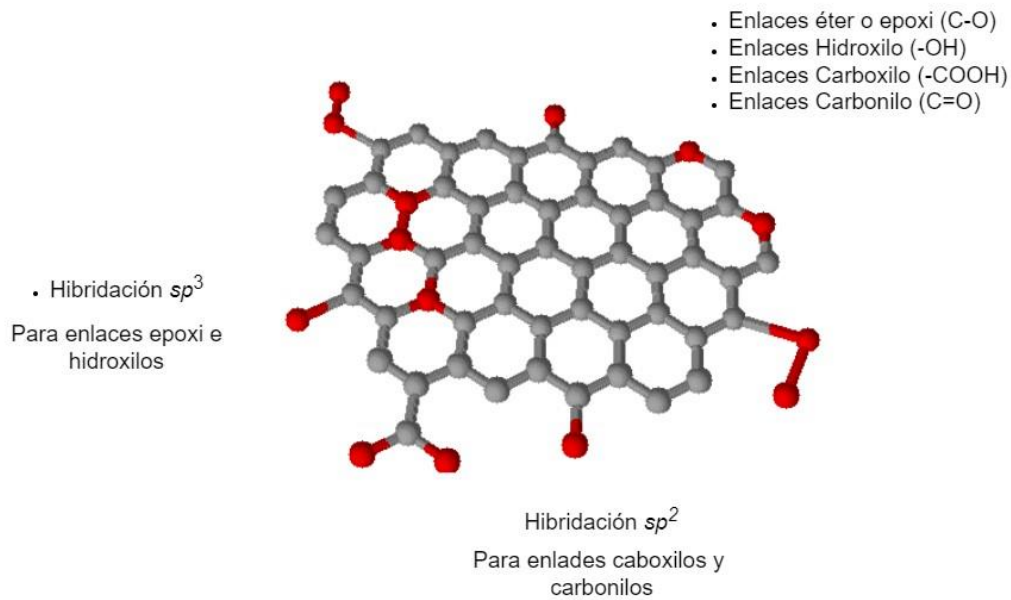


Figura 1.6. Óxido de grafeno (Yu *et al.*, 2020).

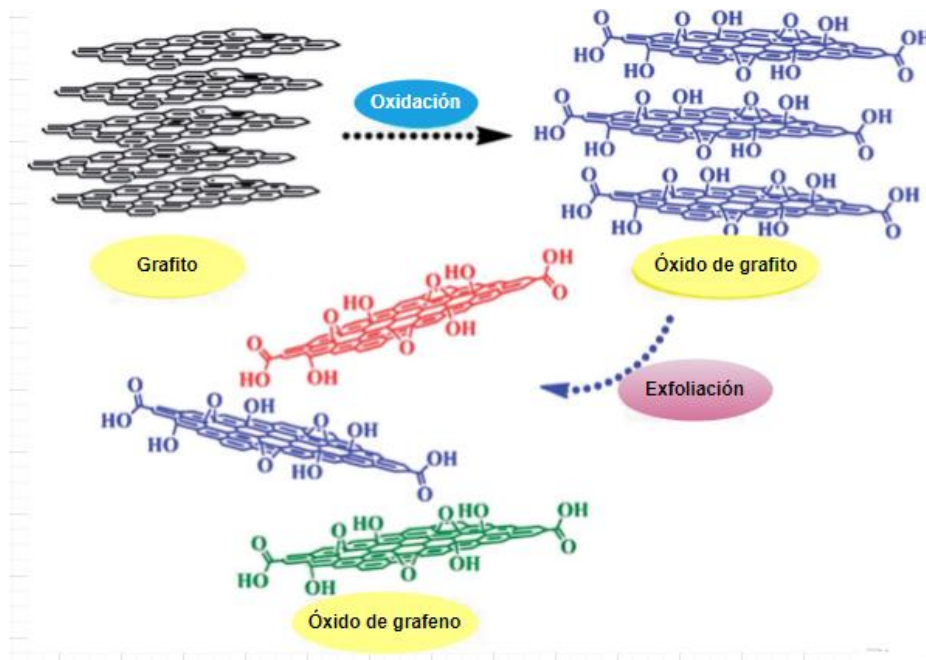


Figura 1.7. Obtención de OG a partir de grafito (Yu *et al.*, 2020).

El OG es usado ampliamente en varios procesos de fabricación por lo que inevitablemente se vierte en las plantas de tratamiento de aguas residuales y se combina con lodo activado debido a su alta capacidad de adsorción de materias orgánicas por lo que contribuye a remover sólidos.

El OG se utiliza como un paso intermedio en la obtención de grafeno reducido. Asimismo, se ha investigado que el grafeno actúa como un mediador redox en sistemas anaeróbicos, mejorando la biotransformación de compuestos persistentes. El óxido de nanografeno (ONG) tiene una estructura estratificada que contiene grupos carboxilo, epóxido e hidroxilo en su superficie y borde. Se ha demostrado que el ONG presenta interacciones interesantes con microorganismos y es compatible con el crecimiento de poblaciones bacterianas, como *Escherichia coli* (Dong *et al.*, 2019). Sin embargo, se ha observado que variar las concentraciones de ONG puede resultar en efectos antimicrobianos, inhibiendo la actividad metabólica y metanogénica de los microorganismos, ocasionando un declive de las comunidades microbianas y propiciando una baja producción de biogás durante la metanogénesis. Es relevante mencionar que la adición de ONG puede realizarse en cualquier etapa del proceso de la DA, ya sea en la materia prima o durante la metanogénesis (Lin *et al.*, 2017).

1.9.3 Óxido de grafeno reducido (OGR)

El óxido de grafeno reducido (OGR) contiene grupos funcionales que se han estudiado y analizado como mediadores en la digestión anaerobia, ya que mejora la producción de metano, dependiendo de las dosis que se empleen en el proceso de DA. La síntesis de OGR suele ser más económica en comparación con la producción de grafeno. Por esta razón, el OGR puede ser empleado en la DA para ayudar a mejorar la producción de biogás y al proceso de estabilización de la DA en sus diferentes etapas. El OGR puede actuar como un mediador en la transferencia de electrones, facilitando este proceso que interviene dentro de la DA (Muratçobanoğlu *et al.*, 2021).

1.9.4 Puntos Cuánticos de carbono

Los puntos cuánticos de carbono (CQD, también conocidos como puntos C o CDs) poseen una estructura distintiva y destacadas propiedades químicas y físicas en el contexto de la digestión anaerobia (Yadav *et al.*, 2023). Este nanomaterial está compuesto por nanocristales artificiales semiconductores con dimensiones cercanas a los 10 nanómetros, presentando una estructura bidimensional con una red de grafeno en su interior, lo que les confiere enlaces sp^2 . Una característica sobresaliente de este material es su mayor solubilidad en comparación con los nanotubos de carbono. En la Figura 1.8 se puede observar que a) PCDOG y b) PCG son estructuras diferentes debido al método de obtención de cada punto cuántico de carbono (Henna *et al.*, 2020). Además, debido a su tamaño, estos puntos cuánticos pueden penetrar fácilmente las membranas celulares de los microorganismos.

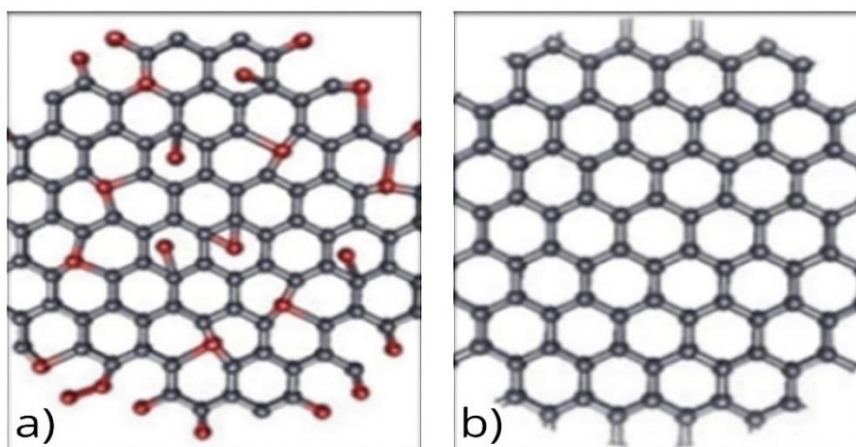


Figura 1.8. a) PCDOG y b) PCG

Se ha demostrado que los puntos cuánticos de grafeno poseen propiedades en la adsorción de colorantes y contaminantes del agua, es por eso que en los últimos años se ha utilizado este material. Así mismo, se ha analizado que los puntos cuánticos cuentan con la presencia de grupos funcionales como carboxilos, hidroxilos y amina

en su superficie (ver Figura 1.9), por lo que adquiere propiedades para unirse con iones de metales de transición (Yadav *et al.*, 2023).

Al ser un punto cuántico este posee la cualidad de considerarse cero dimensional y por lo tanto se tiene cierta facilidad al sintetizarlo debido a estas propiedades (Ying *et al.*, 2016).

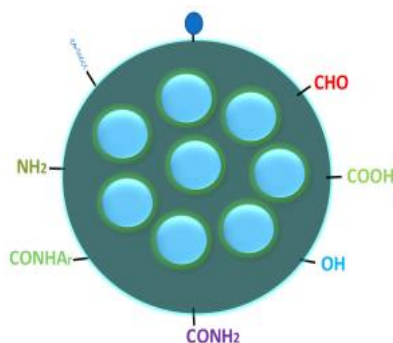


Figura 1.9. Estructura típica de puntos cuánticos con diferentes grupos funcionales en la superficie (Yadav *et al.*, 2023)

1.9.5 Nanoplaquetas de grafeno

Las nanoplaquetas de grafeno (NPSG) tienen amplias aplicaciones en los ámbitos de la medicina, la electrónica y la química. Las propiedades de este material lo vuelven atractivo, posee un peso muy ligero, buena conductividad eléctrica y térmica, dureza mecánica, entre otras cualidades (Cataldi *et al.*, 2018). Las NPSG están compuestas por una serie de capas de grafeno, como se muestra en la Figura 1.10. Estas NPSG se pueden obtener a través de varios métodos, incluyendo la exfoliación mecánica, exfoliación química, Crecimiento por deposición química de vapor (CVD) y Reducción química de óxido de grafeno.

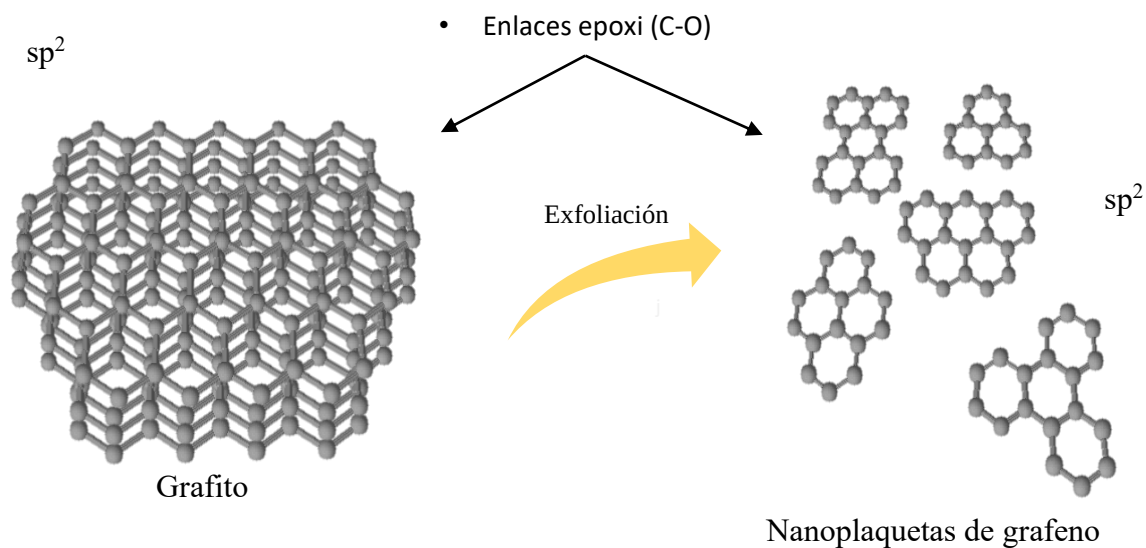


Figura 1.10. Estructura del grafito y NPsG (Cataldi *et al.*, 2018).

1.10 Espectroscopia

La espectroscopia se fundamenta en el principio de que diferentes sustancias interactúan de manera única con la radiación electromagnética según su composición y estructura molecular. Durante el análisis espectroscópico, se expone una muestra de interés a una fuente de radiación, como luz visible, ultravioleta, infrarroja o de radiofrecuencia. Posteriormente, se mide y analiza cómo la muestra absorbe, refleja o emite la radiación. La cantidad de energía se puede calcular utilizando la siguiente fórmula:

$$E = h\nu \quad 1.19$$

En donde E es la energía de un fotón, ν es la frecuencia y h es conocida como la constante de Planck que tiene un valor de $h = 6.63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$.

Se debe considerar a la radiación electromagnética que viaja a la velocidad de la luz y para calcular la frecuencia ν o la longitud de onda λ se hace uso de la siguiente formula:

$$C = \lambda \nu \quad 1.20$$

El intervalo de energías fotónicas se llama espectro electromagnético y se muestra en la Figura 1.8 (Carey, 2003)

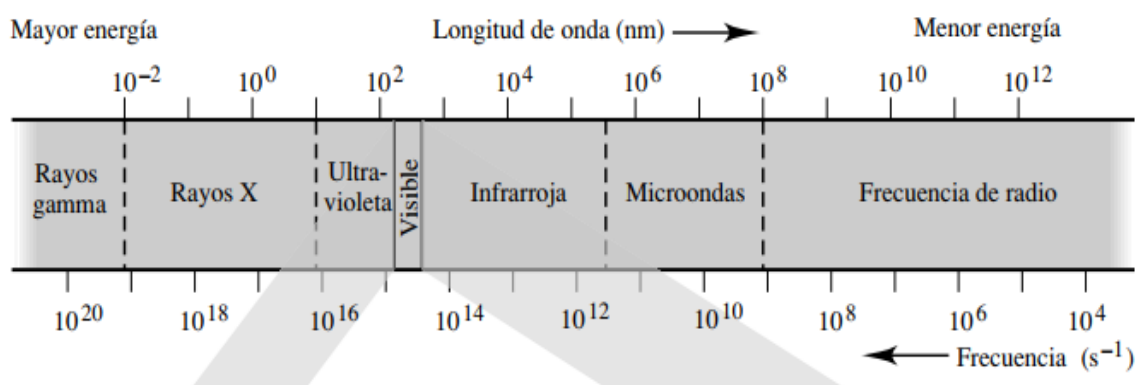


Figura 1.11. Espectro electromagnético (Carey., 2003).

Uno de los tipos más comunes de espectroscopia es la espectroscopia de absorción, que se emplea para identificar qué longitudes de onda de la luz son absorbidas por una sustancia. Esta técnica es especialmente valiosa en química analítica, ya que permite reconocer y medir la presencia de compuestos específicos en una muestra. Por ejemplo, un espectrofotómetro de absorción ultravioleta-visible puede determinar la concentración de una muestra líquida al medir la absorbancia de la luz que pasa sobre esta (Chen *et al.*, 2022).

1.10.1 FTIR

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es utilizada en química, física y otras ciencias para estudiar las propiedades espectrales de materiales. La técnica se basa en la transformada de Fourier, convierte señales en el dominio del tiempo y de la frecuencia.

Este tipo de espectroscopia estudia la interacción de la materia y la radiación electromagnética que aparece en forma de espectro. Cada molécula tiene un espectro único, es decir, es como su huella dactilar (Fadlelmoula *et al.*, 2022). La transformada de Fourier permite descomponer una señal compleja en componentes sinusoidales de diferentes frecuencias. En el contexto de la espectroscopia, se utiliza para descomponer una señal de interferencia generada por la interacción entre la radiación electromagnética (como la luz infrarroja) y una muestra (Carey., 2003).

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier es útil y utilizada para identificar los grupos funcionales que están presentes en los derivados del grafeno y otros compuestos e investigar la posible aparición de nuevas bandas en el espectro de grupos oxigenados después del proceso de exfoliación (Pérez *et al.*, 2022). Los grupos funcionales más comunes que se pueden encontrar son los grupos hidroxilo, carbonilos y oxigenados. Estos grupos oscilaran en bandas con longitud de onda de menor a 1000 (De la Cruz *et al.*, 2020), tal y como se muestra en la Figura 1.12.

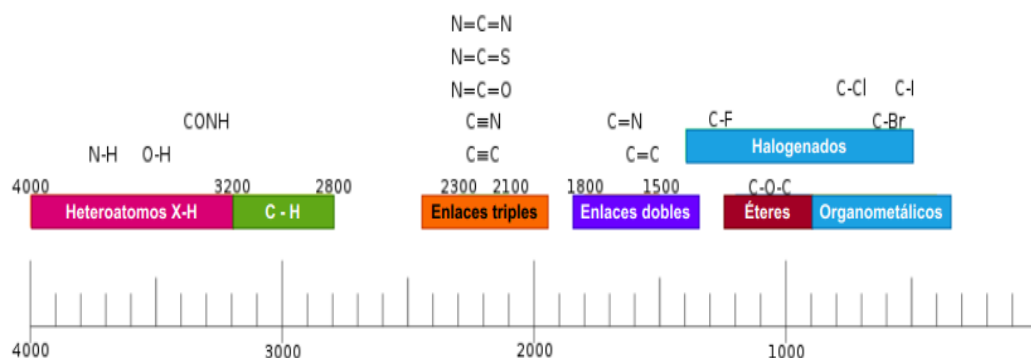


Figura 1.12. Tipos de grupos funcionales encontrados en el espectro IR.

1.10.2 Espectroscopía de Raman

La espectroscopia Raman es una técnica analítica que se utiliza para estudiar vibraciones moleculares, rotaciones y otros modos de excitación en un material. La técnica Raman se basa en la dispersión inelástica de la luz, que ocurre cuando los fotones interactúan con las moléculas y cambian su energía durante el proceso (Allakhverdiev *et al.*, 2022). Cuando la luz incide sobre una muestra, parte de la luz se dispersa de manera inelástica, lo que significa que la energía de los fotones que inciden cambia durante la interacción. Esto sucede porque las moléculas de la muestra absorben o emiten energía en forma de vibraciones y rotaciones. La diferencia entre las energías de entrada y salida se traduce en un cambio en la longitud de onda de la luz dispersada, que es característica de las vibraciones moleculares de la muestra (Carey, 2003).

Cada pico en el espectro Raman representa una vibración específica de las moléculas en la muestra. Estos picos se pueden correlacionar con vibraciones de enlaces químicos, torsiones, deformaciones y otras características estructurales de las moléculas. El análisis de estos picos puede proporcionar información sobre la composición química y la estructura molecular de la muestra (Allakhverdiev *et al.*, 2022).

La espectroscopia Raman se aplica para estudiar las propiedades vibracionales y estructurales del grafeno, así como los enlaces híbridos sp^3 y sp^2 en el proceso de exfoliación, lo que permite comprender mejor sus características y aplicaciones potenciales en diversos campos, como la electrónica, la nanotecnología y la ciencia de materiales (Pérez *et al.*, 2022).

1.10.3 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS)

UV - VIS es una técnica muy importante que pertenece a la química analítica y es usada para la caracterización de numerosas propiedades cualitativas y cuantitativas como lo son las moléculas de algún compuesto (Karmacar *et al.*, 2021). Esta técnica depende de las transiciones entre niveles de energía electrónica, esto con la finalidad de identificar sistemas de electrones π conjugados (Carey., 2003). La absorción de la luz en UV-VIS ocurre de manera diferente en cada molécula, con una longitud de onda específica para cada molécula orgánica (Passos *et al.*, 2019).

Es importante recordar que la interpretación de los datos de espectroscopia UV-Vis debe hacerse considerando la naturaleza específica de los derivados del grafeno y sus interacciones con la luz en la región UV-Vis. Además, es útil comparar los resultados con datos de referencia y estudios previos para validar y comprender mejor la información obtenida (De la luz-Asunción *et al.*, 2020; Pérez *et al.*, 2022).

1.11 Microscopía

La microscopía es una técnica esencial en la caracterización de materiales y estructuras a una escala microscópica. Existen diferentes tipos de microscopios, cada uno diseñado para proporcionar información detallada sobre diferentes propiedades y estructuras a nivel microscópico (De Robertis *et al.*, 2004). Cuando se trata de estudiar derivados del grafeno, se emplea o se hace uso de las siguientes técnicas:

1.11.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

El SEM es una herramienta que genera imágenes tridimensionales de alta resolución de la superficie de las muestras. Es una herramienta valiosa para examinar la topografía y estructura superficial de los derivados del grafeno. Esta técnica de microscopia resulta útil para observar la morfología, el tamaño de partícula y sus

cambios en los derivados del grafeno antes y después de procesos de síntesis, como la exfoliación o la funcionalización (Pérez *et al.*, 2022). De igual manera, el SEM se utiliza para ver las comunidades microbianas y su comportamiento al variar las condiciones óptimas de las mismas causadas por la adición de OGR o algún otro derivado del grafeno. Esta técnica es muy útil para observar las estructuras extracelulares de polisacáridos de los microorganismos y las consecuencias de la transferencia de electrones entre especies (Muratçobanoğlu *et al.*, 2021). De ante mano, se pueden observar derivados del carbono tal como el biochar que puede ser empleado como material de soporte y Zeolita (König *et al.*, 2022).

1.11.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

El TEM utiliza haces de electrones en lugar de luz visible para visualizar estructuras a una escala extremadamente pequeña, incluso a nivel atómico. Proporciona imágenes detalladas de estructuras internas de células, materiales a escala atómica y otros objetos microscópicos, lo que permite un mejor entendimiento y análisis a nivel submicroscópico por lo que es muy útil para observar la morfología, tamaño, forma y estructura cristalina de los derivados del grafeno.

Entre las aplicaciones que se le ha dado es el análisis de microorganismos y su comportamiento cuando se le adiciona nanomateriales derivados de carbono, tal como es el uso de nanotubos de carbono con múltiples paredes y carbono 60 (C₆₀) (Hao *et al.*, 2019). Además, el TEM se aplica para observar la morfología de Puntos cuánticos de grafeno (Ying *et al.*, 2016), nanoplaquetas de grafeno, entre otros nanomateriales de carbono (Pérez *et al.*, 2022).

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología llevada a cabo en este proyecto se muestra en la Figura 2.1, la cual consistió en seis etapas principales.

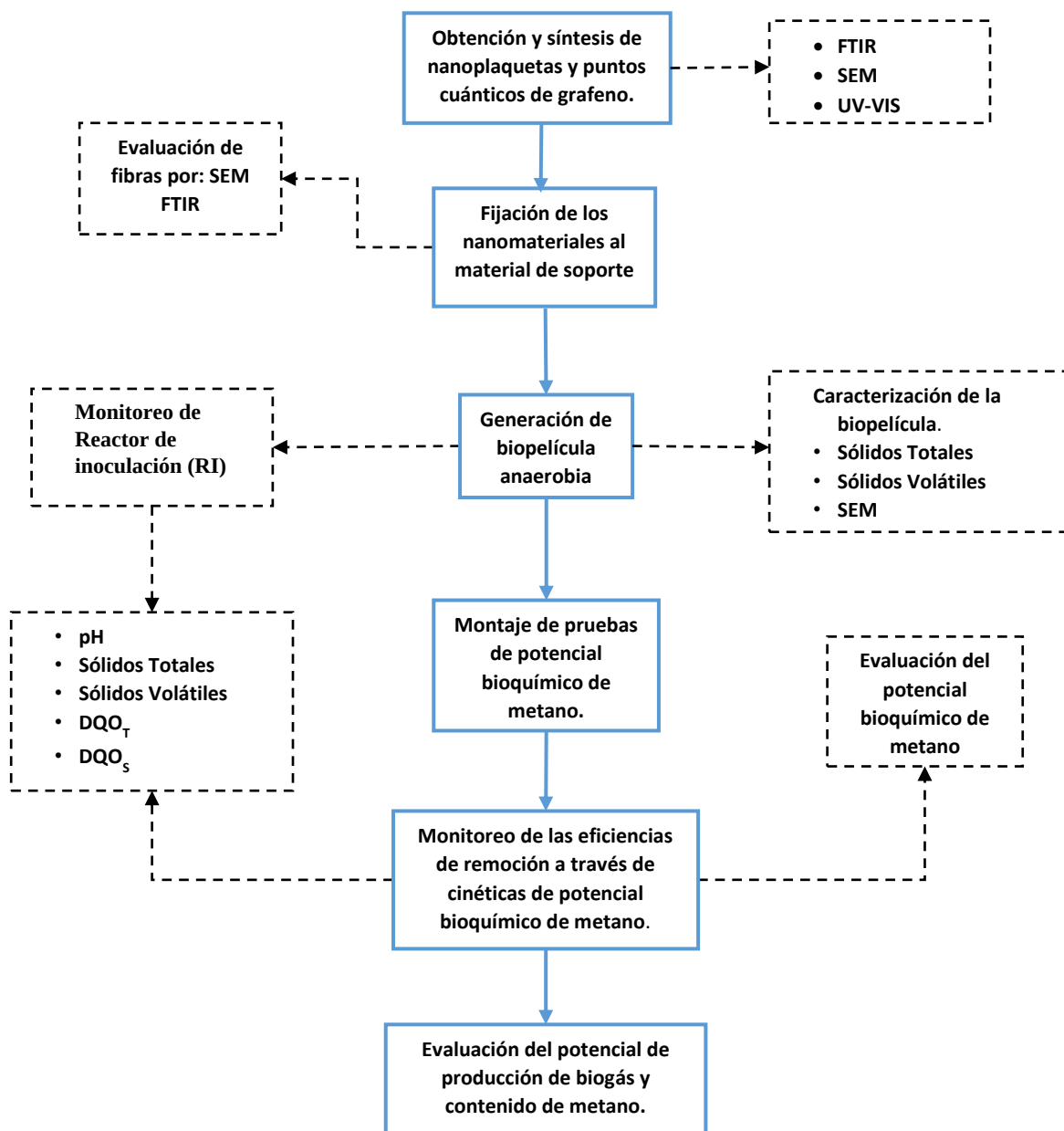


Figura 2.1. Diagrama de la metodología experimental.

2.1 Obtención y síntesis de nanoplaquetas y puntos cuánticos de grafeno.

Para la síntesis de puntos cuánticos y NPsG, se empleó como material precursor polvo de grafito de grado técnico (GGT) de marca REACTIVOS QUÍMICA MEYER, MÉX.

2.1.1 Obtención de nanoplaquetas de grafeno

Para la obtención de NPsG se llevó a cabo por método físico el cual consistió en explosión de vapor y exfoliación ultrasónica, por lo que para realización de esta síntesis se empleó agua destilada sin ningún tipo de agente químico. El proceso para la obtención de nanoplaquetas se puede resumir en la Figura 2.2 que se muestra a continuación.

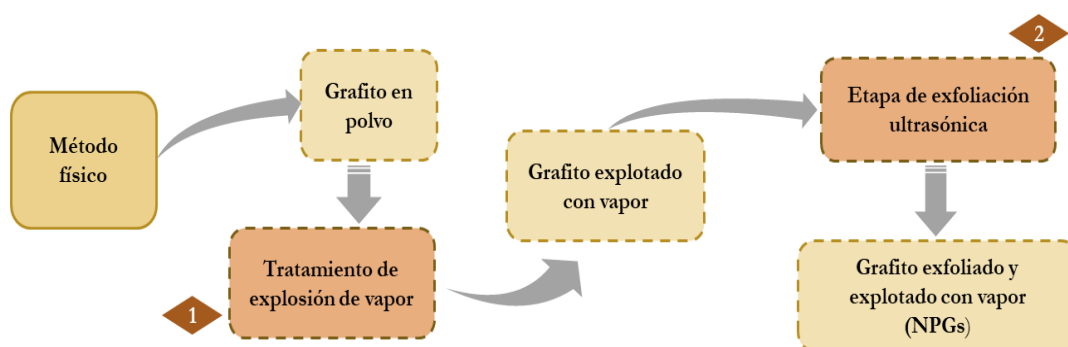


Figura 2.2 Etapas para la obtención de NPsG.

El proceso para la obtención de nanoplaquetas de grafeno consta de dos etapas principales las cuales consisten en:

Etapas 1. Explosión por vapor del grafito en polvo (Gp)

Se empleó un dispositivo de explosión de vapor, como se muestra en la Figura 2.3a. En este equipo, se introdujeron de manera precisa 500 g de Gp y 4000 mL de agua destilada. Luego, se llevó a cabo un monitoreo constante de las condiciones operativas. Estas condiciones para la explosión mediante vapor incluyeron una temperatura de 170 °C y una presión de 130 PSI. La explosión se prolongó durante 45

minutos. Posteriormente, se despresurizó el equipo y se decantó la mezcla para eliminar el exceso de agua. Después, el sólido resultante de la explosión se secó a 70 °C. En conclusión, el polvo seco obtenido al final del proceso es grafito explotado con vapor (GECV).

Etapla 2. Exfoliación ultrasónica del GECV

El grafito explotado con vapor obtenido en la etapa 1 se sometió a un proceso de exfoliación. Se emplearon 500 mg de este material, que se mezclaron con 50 ml de agua destilada. Para llevar a cabo la exfoliación de la mezcla, se utilizó una punta ultrasónica con las siguientes especificaciones (Procesador ultrasónico CP750) con una potencia de 750 W, una frecuencia de 20 kHz y una amplitud del 50 %, durante un período de 80 minutos. Posteriormente, la dispersión resultante se secó a 70 °C para obtener grafito exfoliado y explotado con vapor, también conocido como NPsG (Figura 2.3b).

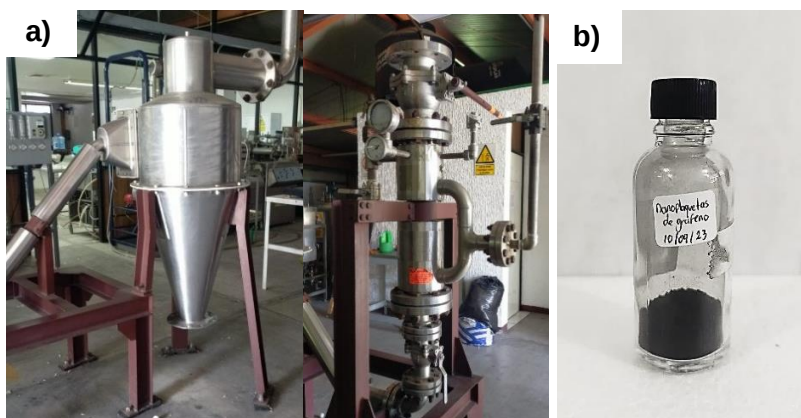


Figura 2.3. a) Equipo de explosión de vapor para la obtención de NPsG. b) Nanoplaquetas de grafeno obtenidas.

2.1.2 Obtención de puntos cuánticos de grafeno

Para la obtención de los puntos cuánticos de grafeno se realizó mediante la metodología reportada por Rajender *et al.*, (2017); De la Luz-Asunción *et al.*, (2020). Dicha metodología parte del grafito de grado técnico, se oxida para tener óxido de grafito y después se sónica hasta llegar al óxido de grafeno para que posteriormente mediante una reacción química se obtengan puntos cuánticos de grafeno, así como se muestra en la Figura 2.4.



Figura 2.4. Proceso para la obtención de puntos cuánticos de grafeno.

A continuación, se explica la metodología que se siguió para oxidar el grafito que sirve como paso inicial para la obtención de óxido de grafeno, mismo que posteriormente se utilizó mediante una reacción endotérmica y adición de ciertos reactivos químicos para la obtención de los puntos cuánticos de grafeno.

Etapas 1. Oxidación de grafito de grado técnico (GGT)

Para producir grafito oxidado, se siguió el procedimiento modificado de Hummers basado en la metodología descrita por De la Luz-Asunción *et al.*, 2020. Se comenzó colocando 46 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 99 % Meyer) en un vaso precipitado. A continuación, el ácido sulfúrico fue enfriado a 0 °C en un baño de hielo como se ilustra en la Figura 2.5 a. Una vez que se alcanzó esta temperatura, se añadieron 2.0 g de GGT con agitación constante. Después de agregar el GGT, se incorporaron 6.0 g de

permanganato de potasio (KMnO_4 , 99 % Meyer), como se muestra en la Figura 2.5 b. Seguidamente, la mezcla resultante se calentó en un baño de agua hasta alcanzar los $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, manteniendo esta temperatura constante durante 2 horas con agitación magnética continua. Después, a la mezcla se le agregó 92 mL de agua destilada y se agitó durante 15 minutos hasta un cambio de color marrón oscuro. La temperatura de la reacción aumento rápidamente hasta llegar a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$. Durante el proceso de la síntesis del óxido de grafito (OG) se añadió una solución de 10 mL de peróxido de Hidrógeno (H_2O_2 , 30 %, Meyer) en 270 mL de agua destilada, es decir 280 mL de la solución y se agitó durante 10 minutos. Finalmente se agregan otros 280 ml de una solución que consiste en 10 mL de ácido clorhídrico HCL, 37 %, Meyer) y 270 mL de agua, esta última solución tiene como objetivo eliminar el exceso de sal de manganeso. La solución o mezcla obtenida químicos se centrifugo (ver Figura 2.5c) en una centrifuga marca HERMLEZ y el precipitado de OG se lavó con agua destilada para eliminar las sales residuales y los ácidos hasta alcanzar un pH neutro. El OG obtenido se secó en una estufa a 60°C durante 24 horas, posteriormente se almaceno para su uso. Los reactivos usados se muestran en la Figura 2.6 a y el óxido de grafito en la Figura 2.6 b.

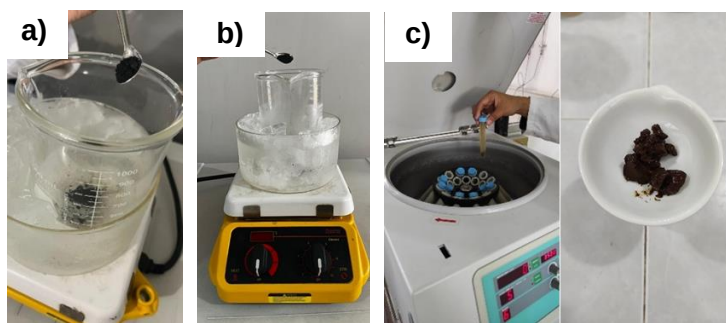


Figura 2.5. Proceso de oxidación de grafito. a) Mezcla de H_2SO_4 y grafito; b. Incorporación de KMnO_4 ; c) Centrifugado y lavado de grafito oxidado.



Figura 2.6. a) Reactivos químicos utilizados en la oxidación del grafito. b) Óxido de grafito obtenido.

Etapas 2. Obtención de Óxido de grafeno (OG)

En esta etapa se utiliza el OG de la etapa anterior, se dispersó en agua (10 mg/mL) y se exfolio por ultrasonido utilizando un baño de limpieza por ultrasonidos (VEVOR JPS-A, 40 KHz) durante 3 horas, para obtener el óxido de grafeno (OG). Posteriormente el OG se secó en la estufa marca Riossa durante 24 h a 60 °C.

Etapas 3. Obtención de puntos cuánticos de grafeno

Se tomaron 100 mg de óxido de grafeno obtenido de la etapa anterior y se mezcló con 12 mL de N, N-Dimetilformamida (DMF). Posteriormente, la solución se sonicó en baño de ultrasonidos por 15 min de manera inmediata se agregó la mezcla a una autoclave (100 mL de acero inoxidable revestido de teflón) cuyas partes se muestran en la Figura 2.7a, el auto clave se calentó en una mufla de marca Barnstead/Thermolyne modelo Furnace 1300 a 200 °C y se mantuvo a temperatura constante por 8 h (Figura 2.7b). Transcurrido el tiempo de reacción, la solución se filtró en un embudo Buchner y se lavó con agua destilada hasta obtener un pH neutro. El sólido se secó durante 4 ha 65 °C. El polvo obtenido corresponde a los puntos cuánticos de grafeno, así como se muestra en la Figura 2.7 c.



Figura 2.7. a) Autoclave de acero inoxidable. b) Mufla de marca Barnstead/Thermolyne. c) Puntos cuánticos de grafeno.

2.2 Obtención de RSO y caracterización de sustrato

Los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) se obtuvieron del mercado “Emiliano Zapata” ubicado en la ciudad de Orizaba Ver. (Figura 2.8a), estos residuos estuvieron compuestos principalmente de frutas y verduras. De manera manual, los residuos de frutas y verduras se separaron por especie, así como se muestra en la Figura 2.8b. Así mismo, se acondicionó el sustrato mediante molienda y filtración, obteniendo el sustrato (fracción líquida) que se empleó para el desarrollo de esta investigación.



Figura 2.8. a) Mercado Zapata de la Ciudad de Orizaba, Ver. b) Recolección y acondicionamiento de los residuos sólidos.

El sustrato se caracterizó mediante determinaciones fisicoquímicas como pH, DQO_T , DQO_S , ST y STV, que se llevaron a cabo en el laboratorio de ingeniería ambiental 1 (LA1).

2.3 Obtención de inóculo

El inóculo empleado para la fase de la generación de la biopelícula se obtuvo de un reactor estabilizado en fase de hidrólisis anaerobia que está ubicado en la planta piloto de aprovechamiento de Residuos Sólidos, en las instalaciones del TecNM / Instituto Tecnológico de Orizaba (Orduña-Gaytán *et al.*, 2021).

2.4 Determinaciones fisicoquímicas

- **Potencial de Hidrogeno (pH)**

El principio básico de la del pH es la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medición potenciométrica usando un electrodo de hidrógeno estándar y un electrodo de referencia. Es por eso que se determinó el pH con método potenciométrico 4500_H⁺ B Standard Methods empleando un potenciómetro OAKTON Ph 700.

- **Determinación de DQO_T y DQO_S**

Para determinar DQO_T, se acondicionó la muestra previamente con diluciones respectivas y se empleó K₂Cr₂O₇ en medio ácido (H₂SO₄) como agente oxidante, en presencia de Ag₂SO₄ y HgSO₄ como catalizadores. El proceso para digestión se llevó a cabo durante 120 min, con una temperatura de 150 °C en una placa digestora marca HACH.

Con respecto a DQO_S, Se tomó una porción de muestra y se colocó en una centrifuga marca HERMLE Z383 a 3500 rpm durante 5 minutos, se tomó el sobrenadante y se realizaron las diluciones respectivas del sobrenadante. Las concentraciones de DQO_T y DQO_S se analizaron en un fotómetro CHEMetrics A-7325.

$$DQO \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{L * Fd}{1000} \quad 2.1$$

L = lectura registrada en el fotómetro CHEMetrics A-7325

Fd = Factor de dilución de la muestra

Estas determinaciones se efectuaron mediante el método colorimétrico 5220 D Standard Methods donde se calculó el porcentaje de remoción como lo marca la siguiente ecuación

$$\% \text{ Remoción DQO} = \frac{\text{DQO}_{\text{entrada}} - \text{DQO}_{\text{salida}}}{\text{DQO}_{\text{entrada}}} * 100 \quad 2.2$$

- **Determinación de ST y STV**

Se determinaron Sólidos Totales (ST) y Sólidos Totales Volátiles (STV) por el método gravimétrico 2540 G Standar Methods de acuerdo a la Norma NMX-AA-034-SCFI-2001, los porcentajes de remoción de ST y STV se calcularán con las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Remoción ST} = \frac{\text{ST}_{\text{entrada}} - \text{ST}_{\text{salida}}}{\text{ST}_{\text{entrada}}} * 100 \quad 2.3$$

$$\% \text{ Remoción STV} = \frac{\text{STV}_{\text{entrada}} - \text{STV}_{\text{salida}}}{\text{STV}_{\text{entrada}}} * 100 \quad 2.4$$

El proceso consistió en secados mediante la estufa RIOSA. Para ST, se tomaron 2 mL de muestra y se colocaron en crisoles a peso constante y se sometieron a una temperatura de 105 °C durante 24 horas. Para los SV, los crisoles con muestra de los ST se calcinaron en una mufla MARLA con temperatura de 550 °C en un tiempo de 2 horas. Los crisoles con muestra de cada determinación se pesaron en una balanza digital Ohaus Adventurer.

2.5 Fijación de los nanomateriales al material de soporte

Se utilizaron fibras de nailon poliéster con dimensiones de 1x1x5 cm (Figura 2.9 a), se secaron previamente con la finalidad de eliminar la humedad presente en ellas, la temperatura de secado fue de 65 °C por 24 horas. Posteriormente se pesaron 30 mg de puntos cuánticos de grafeno y se disolvieron en 100 mL en agua destilada en un vial de vidrio de 35 ml y se sonicó en un baño de ultrasonidos (VEVOR JPS-A, 40 KHz) por 30 min, esta metodología se aplicó tanto para 50 mg y 100 mg. A continuación, se sumergieron las fibras en los viales con las diferentes concentraciones de nanomaterial y se sonicaron utilizando un baño de ultrasonido para una mejor dispersión del nanomaterial en la fibra. Finalmente se secaron a 65 °C por 24 horas y se pesaron (ver Figura 2.10) El procedimiento anterior para fijar el nanomaterial se llevó a cabo tanto para puntos cuánticos de grafeno como para nanoplaquetas de grafeno.

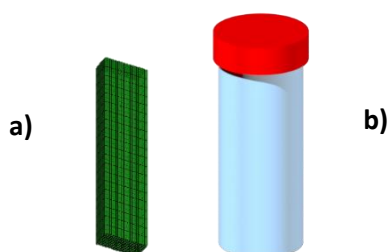


Figura 2.9 a) Fibra de nailon. b) Vial de vidrio con capacidad de 35 mL.

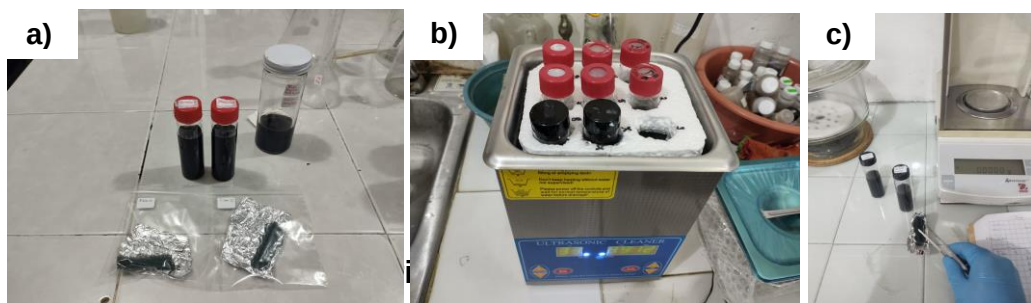


Figura 2.10. Fijación de nanomaterial en las fibras. a) inmersión de la fibra en viales para la sonicación. b) Sonicación para la dispersión del material y c) Pesaje de fibras secas.

Se utilizó un soporte de acero inoxidable de dimensiones 6.5 cm de largo, 6.5 cm de profundidad, 13.5 cm de altura y diámetro de 0.5 cm, dicho soporte se aprecia en la Figura 2.11 a.

En la Figura 2.11 b. se puede ver el soporte en el cuál colocaron las fibras impregnadas, se empleó alambre de acero inoxidable calibre 12 para fijar la fibra al soporte. El registro de las fibras se muestra en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Registro de fibras con nanomaterial impregnado

Nanomaterial	Número de fibras	Concentración	Color
NPsG	4	0.3 mg/mL	Verde
NPsG	4	0.5 mg/mL	Verde
NPsG	4	1 mg/mL	Verde
PCG	4	0.3 mg/mL	Rojo
PCG	4	0.5 mg/mL	Rojo
PCG	4	1 mg/mL	Rojo
Ninguno (Blanco)	1	0 mg/mL	Blanco

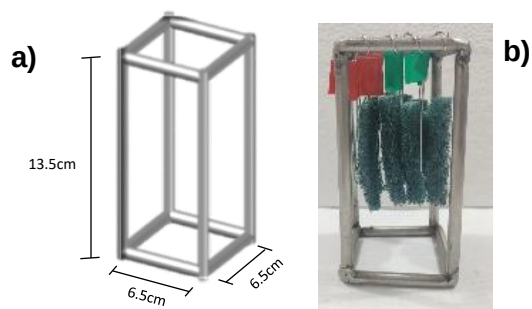


Figura 2.11. a) Dimensiones del soporte. b) Fibras con el material gráfénico en el material de soporte

2.6 Acondicionamiento de RI

Se utilizó un reactor de vidrio con $V_t = 2.0$ L, $V_u = 1.5$ L, $D = 13$ cm, $H = 29.4$ cm, $H_i = 15.5$ cm y con 3 boquillas esmeriladas de $D_e = 3.3$ cm, $D_i = 2.1$ cm, $H_b = 3.2$ cm así como se muestra en la Figura 2.12 a. El reactor utilizado se denominó Reactor de

inoculación (RI) debido a que en esta fase se buscó colonizar (generación de biopelícula anaerobia) las fibras impregnadas con nanomaterial grafénico.

El sistema del RI consistió en tres partes fundamentales, las cuales comprenden de la bomba de alimentación, el sistema anaerobio y el sistema de captura de biogás. Se empleó una bomba peristáltica marca K KAMOER con un motor de 12V y potencia de 12W, un sistema de captura de biogás mediante desplazamiento de agua invertido, es importante mencionar que el agua debe estar previamente acidificada para evitar que el CO₂ contenido en el biogás se disuelva en el agua. El pH con el que se trabajó fue de 5.5 (Rosas-Mendoza *et al.*, 2018). En la Figura 2.12 b. se aprecia las vías de entradas y salidas del efluente y biogás que presenta el reactor.

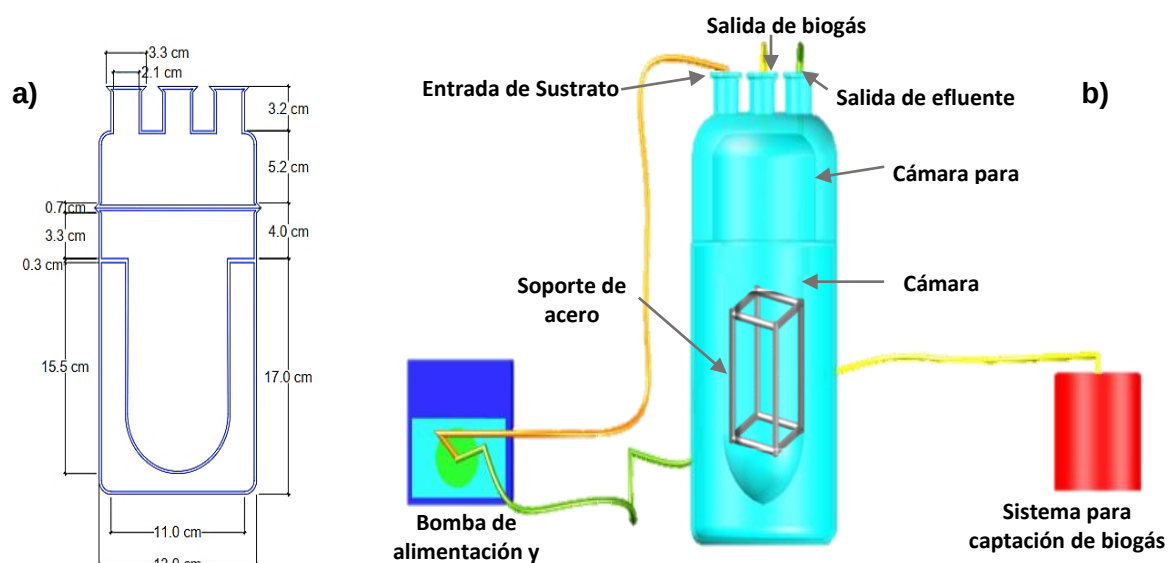


Figura 2.12. a) Medidas del RI. b) Sistema de reactor anaerobio para la generación de la biopelícula en los soportes de nailon.

• Cálculo para la concentración

Se realizó el cálculo de la carga orgánica con la finalidad de ajustar la alimentación ingresada al RI. El cálculo empleado se realizó de acuerdo a la siguiente ecuación

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \quad 2.5$$

C_1 = Concentración para ajustar

V_1 = Volumen de la alimentación

C_2 = Concentración total del sustrato

V_2 = Volumen final (Volumen de sustrato)

2.7 Etapas, monitoreo y modo de operación del RI

Las condiciones de operación que se llevaron a cabo en el RI son similares a las de la metodología descrita por Rosas-Mendoza *et al.*, 2018; Orduña-Gaytán *et al.*, 2021

2.7.1 Etapa 1 de monitoreo

La primera etapa consistió en la estabilización del proceso anaerobio que tuvo duración de 54 días en el que se operó bajo las condiciones descritas en la tabla 2.2 que se muestra a continuación:

Tabla 2.2. Condiciones de operación para la etapa 1

Variable	Valor	Unidades
DQO _{T,entrada}	5	g/L
Volumen útil	1.5	L
Inóculo	100	mL
Volumen de alimentación	700	mL
Volumen de salida (efluente)	700	mL
pH	6.5 ± 1	-
Recirculación	30	Minutos
Tiempo de Residencia Hidráulico	24	Horas
Temperatura de operación	36 ± 1	°C

En esta etapa se alimentó inicialmente con 1400 mL de sustrato (5 gDQO/L) y 100 mL inóculo previamente caracterizado, se neutralizó la alimentación a un pH de 7.5 ± 1 con NaOH 3M, esto con la finalidad de favorecer la digestión y degradación del sustrato por parte de los microorganismos hidrolíticos, arqueas y metanogénicos. El tiempo de residencia hidráulico (TRH) fue de 24 h, por lo que cada alimentación después de la

primera consistió en retirar 700 mL de efluente e ingresar 700 mL de FL de frutas y verduras con una concentración de 5 gDQO/L previamente acondicionado.

El contenido del RI se recirculó después de cada alimentación, con un flujo de recirculación de 40 mL/min en un periodo total de 30 min dividido en 3 etapas al día. Se trabajó a una temperatura de 36 ± 1 °C (Alvarado-Lassman *et al.*, 2010; Orduña-Gaytán *et al.*, 2021; Rosas-Mendoza *et al.*, 2018). El modo de trabajo se ilustra en la Figura 2.13. Se llevó a cabo un análisis de las características fisicoquímicas del efluente del reactor, es decir, pH, ST, STV, DQO_T, DQO_S.



Figura 2.13. Alimentación en modo Batch del RI.

2.7.2 Etapa 2 de monitoreo

Durante la segunda etapa de operación para la generación de biopelícula en las fibras se retiró la biomasa generada en la primera etapa bajo condiciones anaerobias de modo que no se altere la composición microbiana de la biomasa. Una vez retirada la biomasa se cuantificó la cantidad de la misma y se reincorporó la mitad de biomasa, esto con la finalidad de coadyuvar a la biopelícula generada en las fibras de nailon a degradar el sustrato y producir biogás por sí mismas. La biomasa que se retiró se caracterizó mediante análisis fisicoquímico.

Tabla 2.3. Condiciones de operación para la etapa 2.

Variable	Valor	Unidades
DQO _{T,entrada}	5	g/L
Volumen útil	1.5	L
Inóculo	69.5	mL
Volumen de alimentación	715.25	mL
Volumen de salida (efluente)	715.25	mL
pH	6.5 ± 1	-
Recirculación	30	Minutos
Tiempo de Residencia Hidráulico	24	Horas
Temperatura de operación	36 ± 1	°C

El periodo de operación de la segunda etapa duró aproximadamente 09 días bajo las siguientes condiciones de operación descritas en la tabla 2.3.

Es importante destacar que no se empleó la misma proporción de inóculo, debido que la biomasa incorporada fue la mitad de la generada en su totalidad. Se recalculó la cantidad de alimentación y se utilizó la misma metodología de monitoreo y modo de operación de la etapa 1.

2.7.3 Etapa 3 de monitoreo

En condiciones anaerobias se retiró la totalidad de la biomasa generada durante los días de operación de la etapa 2, y se le realizó un análisis fisicoquímico a la biomasa que se retiró.

Una vez retirada la biomasa con el efluente, se incorporó dentro del RI 1500 mL de FL de frutas y verduras, esto con la finalidad de cubrir el volumen útil de RI. Se realizó el procedimiento mencionado anteriormente para que la biopelícula que estaba presente en las fibras de nailon poliéster degrade por sí misma la materia orgánica presente en el sustrato.

Tabla 2.4. Condiciones de operación para la etapa 3.

Variable	Valor	Unidades
DQO _{T,entrada}	5	g/L
Volumen útil	1.5	L
Inóculo	0	mL
Volumen de alimentación	750	mL
Volumen de salida (efluente)	750	mL
pH	7.5 ± 1	
Recirculación	30	Minutos
Tiempo de Residencia Hidráulico	24	Horas
Temperatura de operación	36 ± 1	°C

Las condiciones de operación mostradas en la tabla 2.4 no variaron con respecto a las etapas anteriores, sin embargo, se tomó en cuenta que la estabilización juega un papel crucial en esta etapa, por lo que se trabajó con variaciones de pH. Por último, se llevó a cabo un análisis de las características fisicoquímicas del efluente del reactor.

2.8 Pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM).

Se realizó un montaje de bioreactores de vidrio por triplicado basándose en lo descrito por Holliger *et al.*, 2016. Los bioreactores tenían capacidad de $V_t = 120$ mL y un $V_u = 75$ mL para la parte de la digestión anaerobia. Se empleó como sustrato la FL de frutas y verduras, y dentro del mismo sistema se introdujo la matriz polimérica en presencia de biopelícula anaerobia formada en la etapa de inoculación, cada uno con su respectiva cantidad de material grafénico impregnado y su prueba por triplicado, además, realizó un blanco, es decir, una fibra con biopelícula anaerobia sin nanomaterial, así como se ilustra en la Figura 2.14. La finalidad de estas pruebas es ver y monitorear el potencial de las fibras con biopelícula anaerobia en presencia de materiales grafénicos para producir biogás.

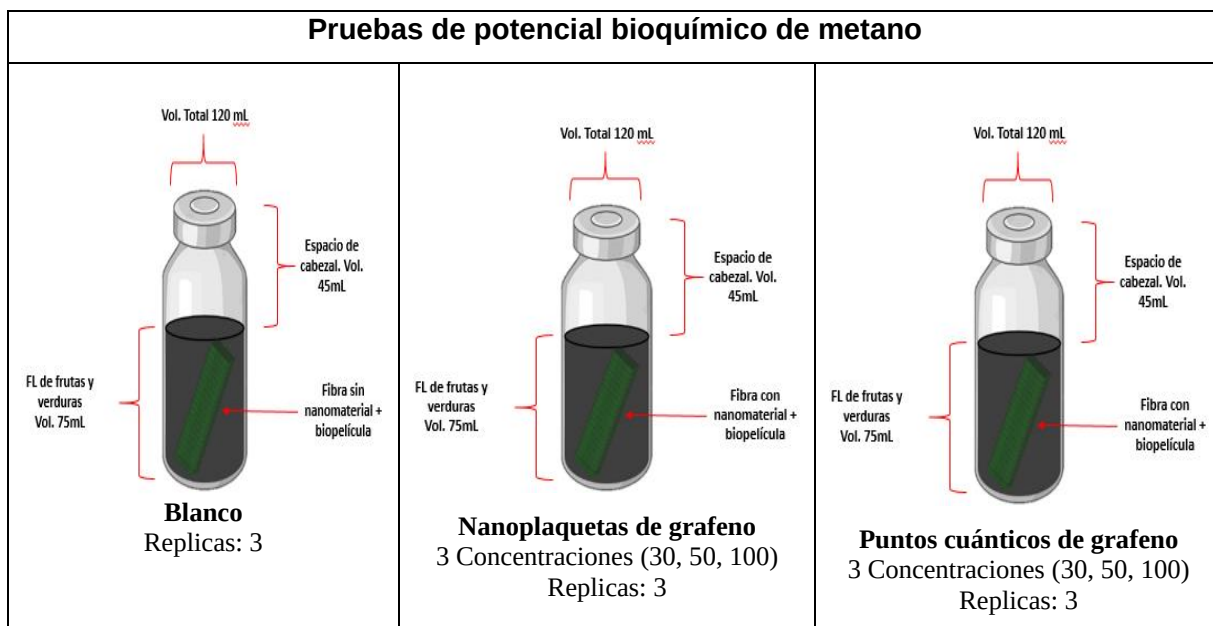


Figura 2.14 Condiciones de las pruebas de potencial bioquímico de metano

2.8.1 Condiciones de las Pruebas de potencial bioquímico de metano

Se realizó un ajuste de pH, debido a que el sustrato utilizado presentó un pH ácido. La finalidad de ajustar el pH es garantizar la actividad metabólica de las Arqueas metanogénicas (Ağdağ y Sponza., 2007).

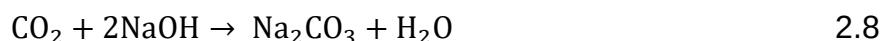
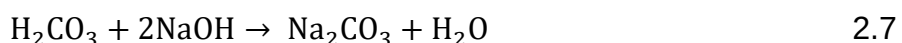
El sistema anaerobio de cada biorreactor se purgó con un gas inerte ((Strönberg *et al.*, 2014), se utilizó Nitrógeno marca Praxair México S. de R.L. de C.V., para purgar y dejar en óptimas condiciones anaerobias el sistema durante un periodo de barrido de 3 minutos. Los biorreactores se incubaron a una temperatura de 36 °C hasta que la producción diaria de metano durante tres días consecutivos fue <1% del volumen acumulado, los biorreactores se agitaron de diariamente de manera manual en un periodo de 60 segundos (Cárdenas-Cleves *et al.*, 2016).

Se llevó a cabo la medición periódica del biogás generado hasta que se observó el agotamiento del biogás. Se utilizaron jeringas de 3 a 60 mL para las mediciones y tomas de muestra para la cuantificación de biometano.

2.8.2 Cuantificación de metano

Para la cuantificación de biometano se utilizó una trampa de medio alcalino, hidróxido de sodio 3M con un pH de 12.23, esto con la finalidad de capturar el CO₂ presente en el biogás y contabilizar el metano presente en cada prueba (Strönberg *et al.*, 2014), posteriormente, por desplazamiento, el biometano se contabilizó mediante una jeringa graduada de 3 mL. Se empleó esta concentración debido a que en comparación a concentraciones de 1M, 2M y 3M, la que tiene mejor rendimiento con respecto a la retención de CO₂ es la solución de mayor concentración (Maile *et al.*, 2017). Las mediciones se realizaron a condiciones de 36°C, y presión atmosférica de 1013 Kpa.

Las reacciones que se dan cuando se mezcla el biogás con el medio alcalino se describen a continuación



Como producto final se obtiene agua (H₂O) con una precipitación de Carbonato de calcio en el medio (Na₂CO₃) (Aquino *et al.*, 2007).

De igual manera, se llevó a cabo un monitoreo y toma de muestra para pH, ST, STV, DQO_T, DQO_S, siguiendo el esquema que describe Angelidaki *et al.*, 2004, para tomar una muestra de las PBM.

2.9 Estandarización del biogás de las PBM

Se realizó la estandarización del biogás partiendo de los cálculos que se muestran a continuación (Briseño-Arsiniaga., 2017; Hafner *et al.*, 2020)

$$F = \frac{(p - p_{\text{H}_2\text{O}}) \cdot T_0}{(T_{\text{gas}} + 273.15) \cdot P_0} \quad 2.9$$

$T_0 = 273.15 \text{ K}$ (Temperatura estándar)

$t =$ Temperatura del gas $^{\circ}\text{C}$

$P_0 = 1013.25 \text{ mbar}$ (Presión estándar)

$p =$ Presión del aire (Presión registrada diario en mbar)

$p_{\text{H}_2\text{O}} = p_{\text{vap}} =$ Presión de vapor de agua en mbar

Partiendo de la ecuación 2.9, para obtener el valor de la presión de vapor de agua, se usó la ecuación de Antoine para calcular la presión de vapor en sustancias puras (Strömberg *et al.*, 2014)

$$p_{\text{vap}} = 10^{A - \frac{B}{T_{\text{gas}} - C}} \quad 2.10$$

$A = 8.1962$

$B = 1730.63$

$C = 39.724$

$T_{\text{gas}} =$ Temperatura del gas en K

Se substituyó la ecuación 2.10 en la ecuación 2.9 para obtener un valor número que posteriormente se utilizó para calcular el volumen diario de biogás o bien, volumen normalizado de biogás, tal como se muestra en la siguiente ecuación

$$V_{op} = V_p * F \quad 2.11$$

$V_{op} =$ Volumen de biogas normalizado en NmL

$V_p =$ Volumen diario de biogás (mL)

Posteriormente, después de haber calculado el volumen estandarizado de biogás, lo que se realizó fue calcular la cantidad de metano en la prueba de potencial bioquímico de metano. Se empleó la siguiente ecuación

$$CH_{4p} = V_{op} * \frac{C_{PCH_4}}{C_{PCH_4} + C_{PCO_2}} \quad 2.12$$

CH_{4p} = Cantidad de metano en la prueba en NL

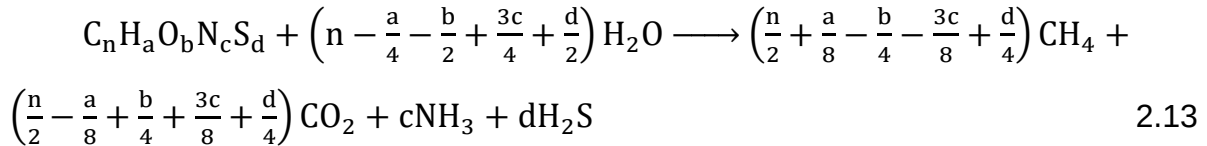
V_{op} = Cantidad de gas en prueba en NL

C_{PCH_4} = Medición de la concentración de CH_4 en el biogás de la prueba en %

C_{PCO_2} = Medición de la concentración de CO_2 en el biogás de la prueba en %

2.10 Cálculo del potencial bioquímico de metano

De acuerdo con la metodología seguida, se empleó la ecuación de Buswell (Ecuación 2.13) que toma en cuenta la composición elemental del sustrato para calcular el Potencial bioquímico de metano teórico (Casallas-Ojeda *et al.*, 2020). Las proteínas y amoníaco se consideran en la ecuación de Boyles, ecuación 2.14 (Nielfa *et al.*, 2015).



$$PBM_{Teórico} (mL CH_4 g^{-1} SV^{-1}) = \frac{22.4 \left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} + \frac{d}{4} \right) * 1000}{12n + a + 16b + 14c + 32d} \quad 2.14$$

n = Número de moles de carbono

a = Número de moles de hidrógeno

b = Número de moles de oxígeno

c = Número de moles de nitrógeno

d = Número de moles de azufre

22.4 = Volumen (L) ocupado por un gas ideal a 273K y 1 atm

1000: Factor de conversión (L a mL)

12,1,16,14,32: Peso molecular del C, N, O, N, S (Cárdenas-Cleves *et al.*, 2016)

El potencial bioquímico de metano también se calculó con base a la concentración de DQO del sustrato, utilizando la ecuación 2.15 que se muestra a continuación (Yasim *et al.*, 2023)

$$PBM_{\text{TeóricoDQO}} = \frac{n_{\text{CH}_4} RT}{p \text{ gSV}} \quad 2.15$$

$$n_{\text{CH}_4} = \frac{DQO}{64 \text{ (g/mol)}}$$

R = Constante de los gases $\left(R = 0.082 \frac{\text{atm L}}{\text{mol K}}\right)$

T = Temperatura de la botella de gas (308 K)

p = Presión atmosférica (1 atm)

g SV = Gramos de sólidos volátiles del sustrato utilizado

n_{CH_4} = Cantidad molar de metano (mol)

Cabe mencionar que también se calculó la biodegradabilidad experimental (BD_{exp}) de las pruebas de potencial químico de metano y el error relativo, para la BD_{exp} se utilizó la ecuación descrita por Nielfa *et al.*, 2015, en donde se empleó la DQO para realizar el cálculo.

$$BD_{\text{expDQO}}(\%) = \left(\frac{(DQO_0 - DQO_f)}{DQO_0} \right) * 100 \quad 2.16$$

En donde DQO_0 es la DQO inicial de las PBM y DQO_f es la DQO que se tiene al final de la PBM.

$$\text{error} = \frac{PBM_{\text{Experimental}} - PBM_{\text{Teórico}}}{PBM_{\text{Experimental}}} \quad 2.17$$

Para el cálculo del potencial bioquímico de metano experimental se utilizó la siguiente formula

$$PBM_{Experimental} = \frac{V_{CH_4}}{g\ SV} \quad 2.18$$

V_{CH_4} = Volumen de total de biometano producido

$g\ SV$ = Gramos de sólidos volátiles del sustrato utilizado

El índice de biodegradabilidad (IB) se empleó para saber la eficiencia del proceso llevado a cabo, por lo que para calcularlo se empleó la siguiente ecuación

$$IB\ (\%) = \frac{PBM_{Experimental}}{PBM_{Teórico}} * 100 \quad 2.19$$

2.11 Materia volátil adherida (MVA)

Al final de las pruebas de potencial se determinó la cantidad de biomasa presente en cada una de las fibras mediante la técnica gravimétrica de sólidos volátiles. Se tomó una fibra con biomasa correspondiente a cada concentración y se depositó en un frasco de 100 mL de capacidad con 50 mL de agua destilada, una vez cubierta la fibra de agua destilada, se agitó el contenido y se tomó 3 gramos de muestra que se sometió a un secado previo de 105 °C y posteriormente se calcinó a 550°C en la mufla. Este proceso se repitió tres veces para cada una de las fibras colonizada con sus respectivas concentraciones de nanomaterial.

2.12 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor con un intervalo de confianza de 95 % ($\alpha = 0.05$) a la impregnación de las fibras con nanomaterial adherido después del tratamiento de sonicación y para las PBM, para ello se empleó la herramienta estadística SigmaPlot 15.0. Por otra parte, se realizó una modelación estadística (Regresión polinomial) del comportamiento de la degradabilidad en la etapa de inoculación mediante el monitoreo de DQO_T , STV y SV, con el lenguaje de programación de Python mediante el programa Spider 5.0.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Rendimiento de los nanomateriales

Se puede ver en la Tabla 3.1 que hubo una reducción de peso del material obtenido con respecto al material precursor, esto se debe a la purificación con solución acuosa de agua destilada, pues al filtrar la solución que tenía PCG, estos se quedaron adheridos en el poro del embudo. El lavado tiene la finalidad de remover el exceso de ácido y algunos iones salinos en la solución acuosa de DMF y PCG. Se sabe que para los puntos cuánticos de grafeno se tiene un rendimiento que oscila de $70 \pm 5\%$ en rendimiento, por lo que lo que se obtuvo en este trabajo está dentro de ese valor teórico, pues la pérdida de material se debe a los lavados. Shin *et al.* (2014), obtuvieron un rendimiento de 68.5% de PCG empleando microondas bajas de irradiación para la obtención del material deseado, de igual manera Abbas *et al.* (2020) obtuvieron rendimientos de 5-84.5%, sin embargo, utilizaron microondas con potencia de 500 y 900 W, en tiempos prolongados para obtener rendimientos altos, por lo que genera un gasto energético y costos mayores con respecto a este trabajo.

Por otra parte, el rendimiento obtenido de las NPsG fue aceptable, pues al ser un material que no paso por un proceso de purificación, el rendimiento es más alto. La pérdida de material se debe a que el material se quedó adherido en el recipiente en el que se realizó la explotación con vapor y la exfoliación con ultrasonido. En la tabla 3.1 se muestra el rendimiento alcanzado en el presente trabajo, dicho rendimiento es alto comparado con algunos autores, por ejemplo, Amiri *et al.*, (2017), obtuvieron rendimientos de 61%, 30%, 14% en sus diferentes procesos de obtención al utilizar como material precursor al grafito de grado prístino y distintos solventes como etanol, metanol, éter etílico, acetona y alcohol isopropílico. Si bien tuvieron buenos rendimientos, no se compara con lo que se obtuvo en el presente trabajo. La metodología empleada en este trabajo se basó en la que utilizó Pérez-Ramírez *et al.*, (2022), sin embargo, ellos obtuvieron rendimientos del 80% con respecto a la producción de NPsG empleando grafito comercial.

Tabla 3.1 Rendimientos de los diferentes nanomateriales obtenidos

Material precursor	Peso (g)	Material obtenido	Peso (g)	%Rendimiento
Grafito	200	NPsG	181 g	90.5
Óxido de Grafeno	200	PCG	135.4 mg	67.7

3.2 Caracterización de los nanomateriales

3.2.1 Caracterización por FTIR

A continuación, se muestra la caracterización mediante la técnica de espectroscopia infrarroja (IR) en un espectrómetro FT-IR Bruker Vector 33 (cm^{-1}).

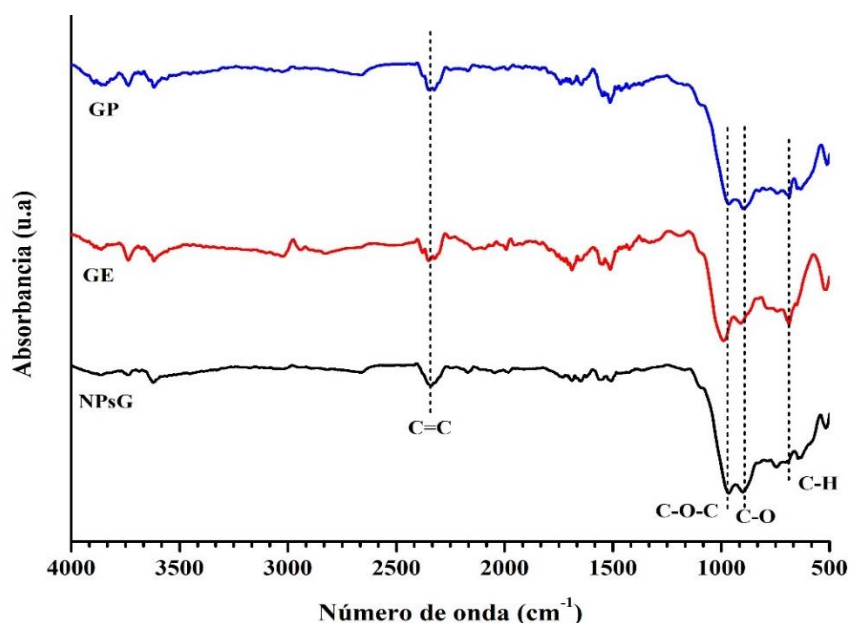


Figura 3.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier para nanoplaquetas de grafeno (NPsG), grafito explotado (GE) y grafito en polvo (GP).

En la Figura 3.1 se puede observar los resultados que se obtuvieron de la caracterización y los grupos funcionales presentes en las nanoplaquetas de grafeno, así como el grafeno explotado con vapor y el grafito en polvo. El espectro NPsG muestra la presencia de dos bandas alrededor de 905 cm^{-1} de C-O y 968 cm^{-1} de grupo

C-O-C pertenecientes al grupo epoxi. Esto indicó que en la generación de grupos oxigenados no hay influencia de la presión, tiempo de explosión y temperatura durante la etapa de explosión del vapor, considerando al GP como material de partida. Los enlaces de cada lectura mostro que los grupos funcionales presentan vibraciones en sus enlaces del tipo tensión en C-O y C-O-C.

Por otro lado, en la región de 2232 cm^{-1} se ubicó el grupo C=C cuya característica principal es su hibridación sp^2 , este grupo está presente en las NPsG, sin embargo, la banda no es tan pronunciada debido a que las vibraciones simétricas presentes en las NPsG cambiaron al romper determinados enlaces al momento de exfoliar el grafito explotado. De igual manera, se observa que las bandas de los tres componentes son muy similares, esto se debe a que no se alteró la composición elemental del grafeno que compone cada estructura del material porque no se agregaron o aparecieron grupos funcionales debido a que la técnica o metodología siguió un proceso físico y no químico. Por último, se ubicó el grupo C-H en la región del espectro con un valor de 690 cm^{-1} con una hibridación del tipo sp^3 con un tipo de vibración de deformación debido a la longitud de onda que interactúa con este tipo de enlace.

Pérez-Ramírez *et al.*, (2022), trabajaron bajo las mismas condiciones para la obtención de NPsG, por lo que sus resultados del espectro de NPsG con los grupos funcionales de carbono son similares, pues obtuvieron bandas que oscilan alrededor de 903 cm^{-1} son pertenecientes al grupo de C-O y 963 cm^{-1} al grupo C-O-C o bien también conocido como grupo epoxi, lo cual representa que en ambas metodologías se obtuvo nanoplaquetas de grafeno.

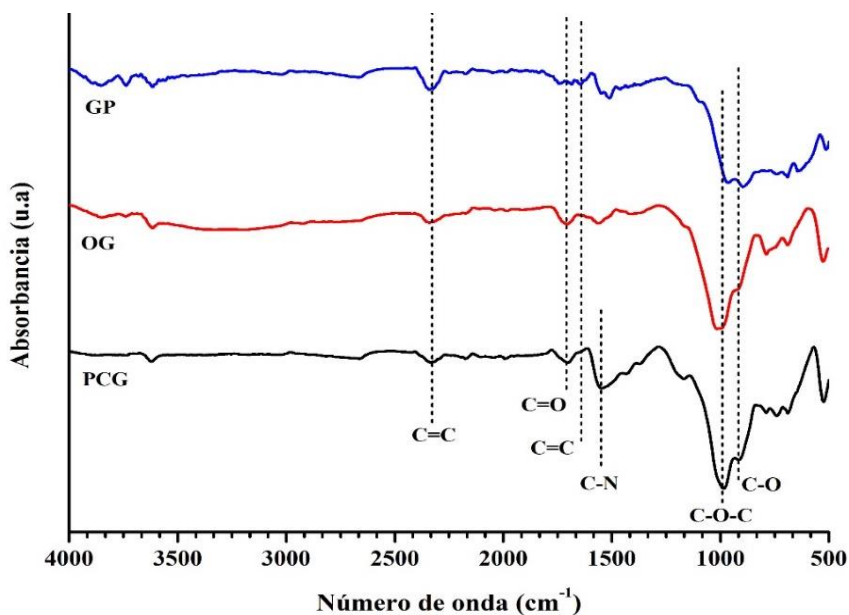


Figura 3.2. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier para puntos cuánticos de grafeno, grafito en polvo y óxido de grafeno

En la Figura 3.2 se presenta el espectro de los puntos cuánticos de grafeno (PCG), el grafito en polvo (GP) y el óxido de grafeno puro (OG). El espectro del OG presenta bandas alrededor de 1716 cm^{-1} y 1614 cm^{-1} correspondiente al grupo C=O por la hibridación sp^2 y la adición de grupos oxigenados, además de presentar una banda en la región de 1082 cm^{-1} en el grupo C-O. Por otra parte, las bandas que presentó el espectro PCG fueron 1702 cm^{-1} y 1606 cm^{-1} correspondientes al grupo C=O y para el grupo de C-O la banda fue de 979 cm^{-1} debido a la pérdida de los grupos oxigenados, especialmente de los grupos hidroxilo por el tratamiento térmico con DMF al que se somete el óxido de grafeno al momento de formarse los PCG. También se presentó un pico en la región de 2330 cm^{-1} correspondiente al grupo C=C y un pico en 1545 cm^{-1} correspondiente al grupo C-N, esto debido a que se adhirieron grupos amino por parte de la DMF en los bordes de los PCG, adicionando un grupo amino al conjunto de grupos funcionales estructurales.

De la Luz-asunción *et al.*, (2020), reportaron longitudes de banda que oscilan en la región del espectro IR de 1974 cm^{-1} y 904 cm^{-1} del grupo oxigenado C-O

correspondiente al grafito. El espectro de óxido de grafeno que reportaron se encontró en la región de 1719 cm^{-1} y 1620 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones de estiramiento por parte de los enlaces pertenecientes a los grupos carbonilos $\text{C}=\text{O}$. Yuan *et al.*, (2014), reportaron bandas de 1750 cm^{-1} y 1627 cm^{-1} del grupo $\text{C}=\text{O}$, mientras que para el grupo $\text{C}-\text{N}$ obtuvieron una lectura de 1571 cm^{-1} para los puntos cuánticos de carbono que obtuvieron por medio de DMF y peróxido de hidrogeno mediante un método hidrotermal (Bottom-up).

3.2.1 Caracterización por UV-Vis

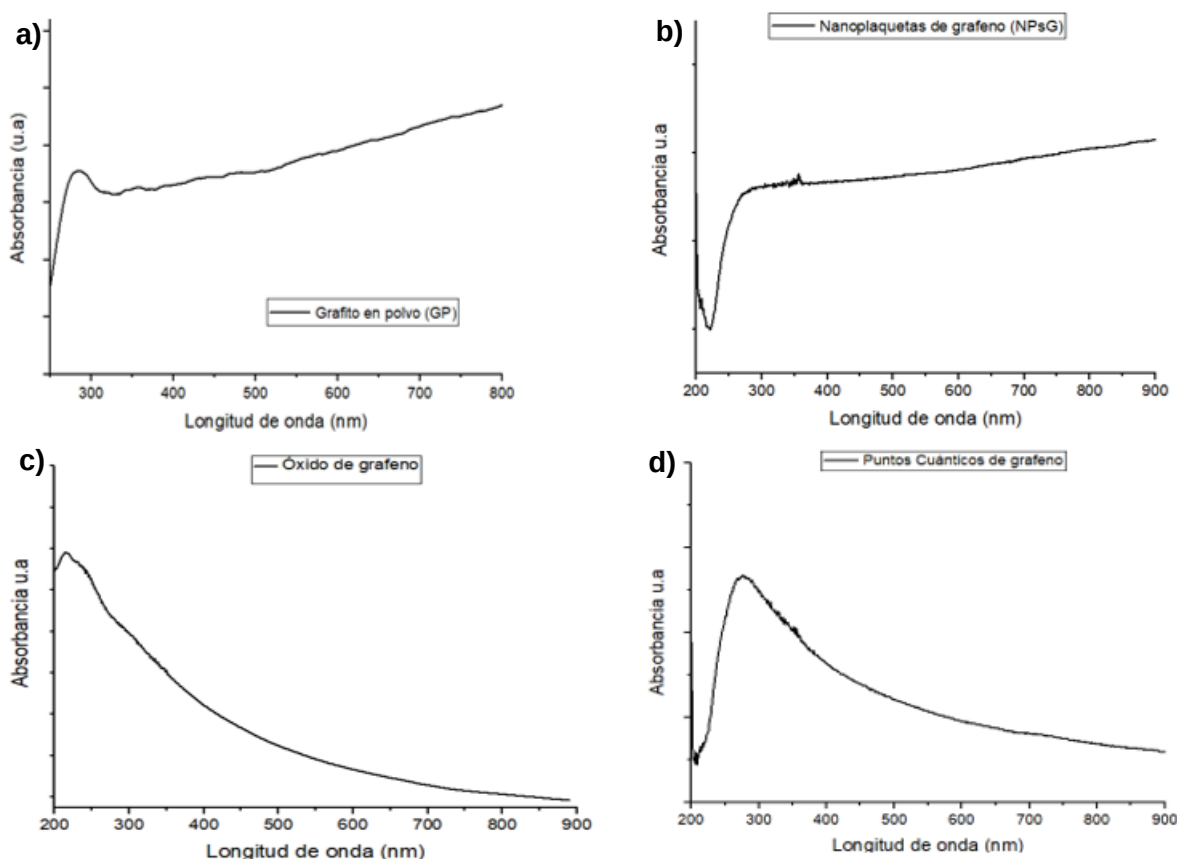


Figura 3.3. Espectro de absorción UV-Vis de a) Grafito en polvo. b) NPsG, c) OG. d) PCG

El espectro UV-Vis correspondiente al grafito se muestra en la Figura 3.3 a. en la que se puede observar un pico en la banda de absorción que oscila alrededor de 270

nm debido a los enlaces que presentan los enlaces que conforman el grafito son del tipo sp^2 y sp^3 , por lo que el pico de absorbancia se desplaza en zonas altas, teniendo como resultado una transición electrónica antienlazante $n \rightarrow \pi^*$ de enlaces como C=O, C-O. Khan *et al.*, (2023), registraron un máximo de absorbancia de 254.86 nm, mientras que Senthil *et al.*, (2017) registraron un pico ubicado en 275 nm. Existen diferencias en las lecturas, sin embargo, son mínimas, esto es debido a la pureza del grafito empleado.

La caracterización por UV-Vis de las NPsG se muestra en la Figura 3.3 b. en donde se puede observar un máximo en de longitud de onda en la región de 276 nm, lo que indica que los enlaces de carbono son del tipo sp^2 . Si bien, no existe presencia de grupos funcionales o grupos oxigenados en la composición elemental de las NPsG, existen enlaces del tipo C=C. La característica principal de las NPsG es la cualidad de poseer un gran número de átomos de carbono en su estructura, lo que le confiere una longitud de onda parecida a la del grafito (~ 275) y el grafeno (~ 270). Alawi *et al.*, (2021), caracterizaron nanoplaquetas comerciales, obteniendo como resultado, una longitud de onda en el espectro UV-Vis de aproximadamente 283 nm.

En la Figura 3.3 c. se aprecia el espectro UV-Vis correspondiente al Óxido de grafeno, el cual fue sintetizado por el método de Hummers, dicho material presenta un pico en banda de absorción de 226 nm, el cuál es característico de este compuesto debido a que indica la presencia de un cromóforo de tipo sp^2 cuya transición plasmónica entre sus orbitales es del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (no enlazante), esto se debe al enlazamiento de sus unidades cromóforas que conforman enlaces dentro del grupo de carbonos que posee el óxido de grafeno, es decir, enlaces C=O, C-O y C=C. De igual manera, en el espectro se puede apreciar la presencia de un hombro en la región de 300 nm aproximadamente cuya transición es del tipo $n \rightarrow \pi^*$. Ortiz-Francisco, (2022), realizó la síntesis de OG empleando el método de Hummers, obteniendo una banda de absorción de 228 nm, lo cual indica que en ambos casos se obtuvo OG. De igual manera Shahriary y Athawale, (2014), obtuvieron valores similares en las bandas que

se mencionan en este trabajo, pues el pico de la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ se ubicó en aproximadamente 237 y el hombro del espectro correspondiente a la transición electrónica $n \rightarrow \pi^*$ fue de 300 aproximadamente.

Generalmente el OG posee dos bandas de adsorción en la región visible, dichos valores oscilan en regiones cercanas de 280 nm y 350 nm. Así mismo, en la Figura 3.3 d. que corresponde al espectro UV-Vis de los PCG se puede observar una banda de absorbancia prominente en la región de 276 nm correspondiente a la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ (no enlazante) que hace referencia a la hibridación de los enlaces del carbono de los PCG que son del tipo sp^2 , dichos enlaces que se forman en la unión del carbono y grupos oxigenados son del tipo C=O. La segunda banda de absorbancia que se presenta en el espectro de UV-Vis se ubica en la región en donde la transición electrónica es del tipo anti enlazante $n \rightarrow \pi^*$, con un valor de 355 nm. Los grupos funcionales presentes en los bordes de los PCG son los que les dan propiedades características que propicia la adición de cromóforos en los enlaces de carbono, por lo que las bandas de absorbancia tienen valores altos.

Ahirwar *et al.*, (2017), sintetizaron PCG a partir de láminas de grafito mediante exfoliación electroquímica en un medio alcalino, obteniendo como resultados de su caracterización de UV-Vis un pico de banda en la región de 279 nm y el segundo en 370 nm. Aguilera-Huertas, (2020), realizó la síntesis de puntos cuánticos empleando grafeno y mediante exfoliación electroquímica obteniendo PCG, los resultados de su estudio muestran una banda de absorbancia prominente en la región de 260 nm, mientras que Ortiz-Francisco, (2022) obtuvo PCG mediante una síntesis hidrotérmica, y al caracterizar por UV-Vis tuvo como resultado una banda de absorbancia ubicada en la región de 275 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$) y 380 correspondiente a la segunda banda de absorbancia $n \rightarrow \pi^*$.

3.2.2 Caracterización por SEM

La caracterización del nanomaterial se llevó a cabo en colaboración con el Instituto Tecnológico de Querétaro, por lo que el modelo y la marca del equipo que dan protegidos por dicha institución. A continuación, se presentan las nanoplaquetas vistas desde el microscopio electrónico de barrido con un aumento de 500x

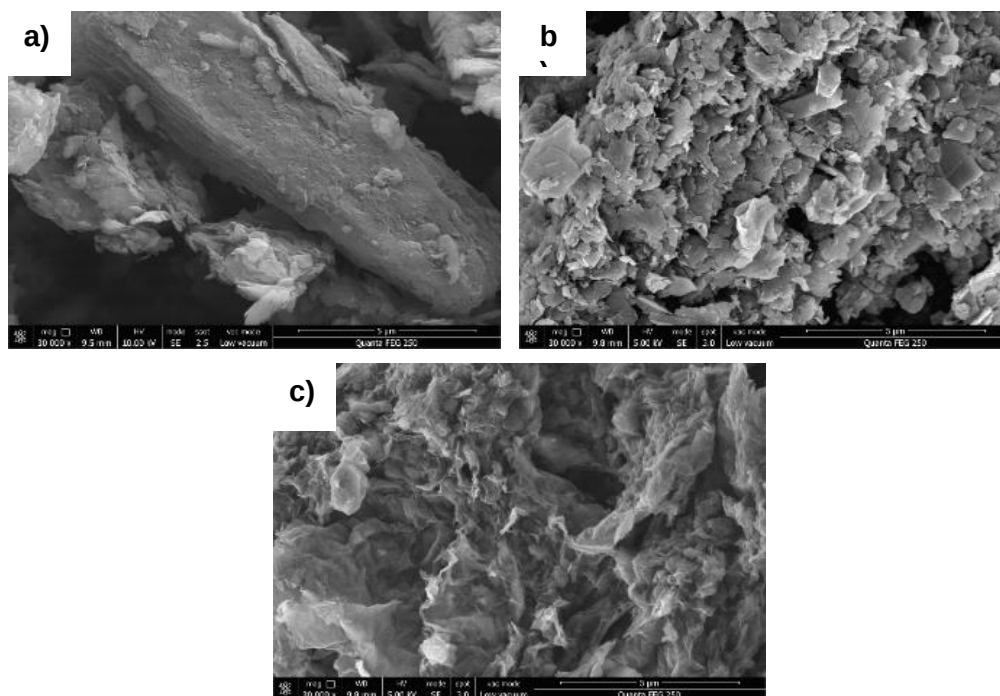


Figura 3.4. a) SEM del material precursor (Gp). b) SEM de NPsG. c) SEM de PCG

En la Figura 3.4 a. se observa la morfología del grafito a un aumento de 30,000 x, el cual consta de una serie de láminas de grafeno apiladas de manera que la agrupación de estas conforma un bloque sólido, mientras que en la Figura 3.4 b. se muestran las NPsG obtenidas por medio de explotación con vapor y sonicación, se puede ver que las láminas de grafeno que conforman su estructura son más pequeñas que las del material precursor, además, de que la forma de las NPsG vistas desde SEM poseen una estructura en forma de pétalos (Manorathne *et al.*, 2017) es decir, las láminas de grafeno que son más pequeñas están aglomeradas y son más amorfas que llegan a

poseer forma de dicha forma anteriormente mencionada. Por último, en la Figura 3.4 c. se aprecian los PCG obtenidos después de la reacción hidrotermal con dimetilformida, los cuales se presentan en forma de láminas amorfas y en los bordes de estas laminas se puede ver que son afilados en comparación con el material precursor que solo destaca la aglomeración de las láminas de grafeno.

3.2.3 Caracterización por TEM

Los resultados del análisis morfológico que se presentan en la Figura 3.5 a. muestran una estructura cristalina de los PCG con bordes irregulares y características amorfas. En la Figura 3.5 b. se muestra la excelente dispersión de las nanoestructuras, las cuales tienen la propiedad de ser cuasi-esféricas debido al confinamiento cuántico y efectos de borde que están presentes en el plano basal, así como grupos oxigenados en los bordes que ayudan a disminuir las arrugas y suavizar la superficie. Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los que reportó Ying *et al.*, (2016), pues ellos obtuvieron PCG con características similares, sin embargo, el proceso para la obtención de este material en su trabajo conlleva a procesos prolongados y el uso considerable de agentes químicos mientras que De la Luz-asunción *et al.*, (2020), reportaron PCG con un tamaño promedio de 24 nm, por lo que se asume que en esta investigación se obtuvieron PCG con un tamaño similar debido a la metodología seguida.

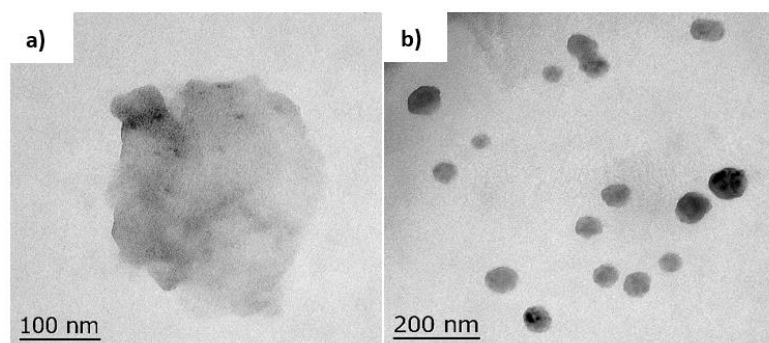


Figura 3.5. a) Morfología cristalina de los PCG. b) Dispersión de los PCG visto desde TEM

3.3 Caracterización del sustrato

La composición de la FL se compone principalmente por jitomate, debido a que es el residuo que se genera en mayor cantidad en el mercado Emiliano Zapata, seguido de lechuga y naranja. Los porcentajes de la composición de la fracción líquida se muestran en la Figura 3.6.

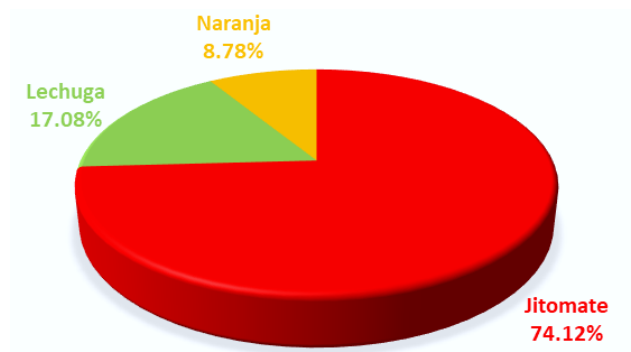


Figura 3.6. Composición de frutas y verduras en la FL

Los resultados de la caracterización fisicoquímica de la FL, compuesta por los RSO utilizada para la alimentación de las tres etapas, que comprendió la generación de la biopelícula anaerobia en las fibras con nanomaterial grafénico se muestran en la Tabla 3.2, en donde se presenta una DQO_T considerablemente alta, debido a la alta carga orgánica de los RSU. Presentó un pH ácido debido a que el pH del jitomate tiene un valor de 4.7 (Alfaro, 2016), el cual está presente en mayor proporción, sin embargo, se tiene que tomar en cuenta que es una mezcla de residuos, por lo que el pH varía con respecto a la composición. Orduña *et al.*, (2022), trabajaron con fracción líquida de frutas y verduras de la misma región y reportaron valores de DQO_T de 44 g/L, DQO_S de 32 g/L y un pH de 3.8, son valores similares por lo que se debe tomar en cuenta el tipo de pretratamiento que se le dio al sustrato, además se deben considerar las formulaciones que se emplearon para realizar el sustrato.

Tabla 3.2. Análisis fisicoquímico de la FL de frutas y verduras

Parámetro	Resultado	Unidades
DQO _T	36.78	g/L
DQO _S	27.89	g/L
pH	4.01	---
ST	1.55	%
SV	75.81	%
Humedad	98.43	%
Cenizas	24.20	%
Densidad	1.063	g/mL

En la Tabla 3.3 se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica de la FL de frutas y verduras que se empleó en las PBM. Los valores obtenidos en comparación con los que se describen en la parte de la generación de la biopelícula son diferentes debido a que la caracterización fisicoquímica que se describe en la tabla 5 se llevó a cabo mediante un proceso de filtrado diferente, pues se empleó un tamaño de poro ligeramente más grande con respecto al proceso de filtración en la preparación de la FL que se empleó para la parte de generación de la biopelícula, es por eso que en la Tabla 3.3, describe valores mucho más altos con respecto al contenido de materia orgánica, así como un pH ligeramente más alcalino y mayor contenido de ST y SV.

Tabla 3.3. Análisis fisicoquímico de FL de frutas y verduras para las PBM.

Parámetro	Resultado	Unidades
DQO _T	54.13	g/L
DQO _S	48.4	g/L
pH	4.5	---
ST	2.42	%
SV	85.07	%
Humedad	97.57	%
Cenizas	14.92	%
Densidad	1.081	g/mL

Por último, en la Tabla 3.4 se muestran los resultados de la caracterización del sustrato acondicionado para las pruebas de potencial bioquímico. Como se puede apreciar en la tabla 3.4, la caracterización físico química varía con respecto a las mostradas anteriormente debido a que la variable que se fijó fue la DQO_T.

Tabla 3.4. Análisis fisicoquímico de la FL de frutas y verduras acondicionada para las PBM.

Parámetro	Resultado	Unidades
DQO _T	5.025	g/L
DQO _S	4.33	g/L
pH	7.32	---
ST	0.232	%
SV	64.17	%
Humedad	99.76	%
Cenizas	35.82	%
Densidad	1.02	g/mL

3.4 Caracterización del material de soporte

A continuación, se presenta la caracterización de las fibras impregnadas con nanomaterial y sin nanomaterial, mediante la técnica de FTIR, SEM y un análisis estadístico.

3.4.1 Caracterización de las Fibras por FTIR

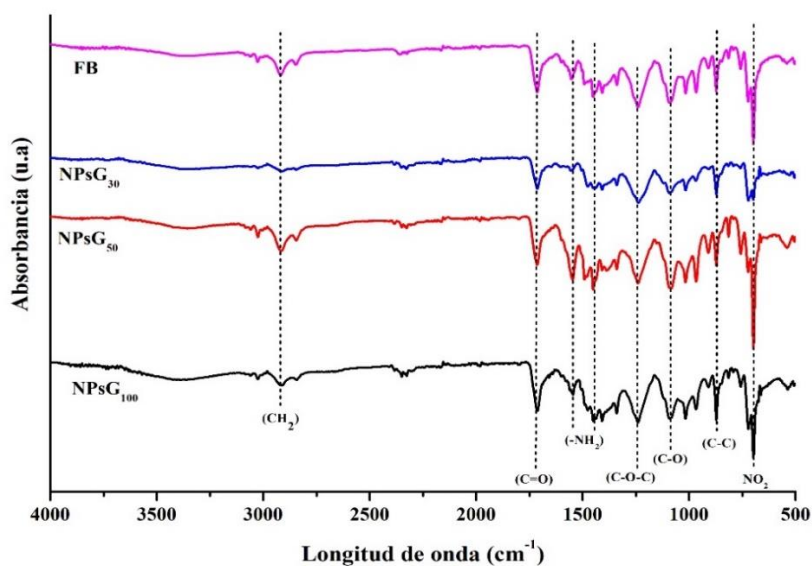


Figura 3.7. FTIR de las Fibras con NPsG en las tres diferentes concentraciones y la Fibra sin nanomaterial (Blanco).

En la Figura 3.7 se presenta el espectro infrarrojo de la fibra de nailon poliéster sin nanomaterial (FB) que indica la presencia de grupos funcionales de tipo epoxi,

carbonilo, carboxilo, etc. En la banda de 2920 cm^{-1} se ubicó el grupo funcional C-H correspondiente a la hibridación sp^3 del carbono, como se pudo observar, el pico de banda es más pronunciado cuando se adhiere las NPSG en las tres concentraciones realizadas a la fibra de nylon poliéster, esto es debido a la composición del nanomaterial. Otro de los picos que aparecieron en la determinación, fue en la banda de 1712 cm^{-1} correspondiente al grupo funcional C=O, el cual tiene un modo de vibración de estiramiento. De igual manera, las bandas en la región del espectro son más pronunciadas debido a la aglomeración del nanomaterial, es decir, la adherencia del nanomaterial en la fibra de nylon. Por otro lado, se ubicó el grupo funcional -NH_2 (amina) en la región de 1560 cm^{-1} y 1450 cm^{-1} , que es característico debido a la composición estructural de las fibras de nylon poliéster. Y, por último, en la región de huella dactilar de carbono se ubicaron las bandas de 1240 cm^{-1} con vibración en los enlaces sp^3 de desdoblamiento, 1089 cm^{-1} con un modo de vibración en sus enlaces de tensión simétrica (estiramiento) y 868 cm^{-1} con una vibración de tensión, correspondientes a los grupos funcionales C-O-C, C-O y C-C respectivamente.

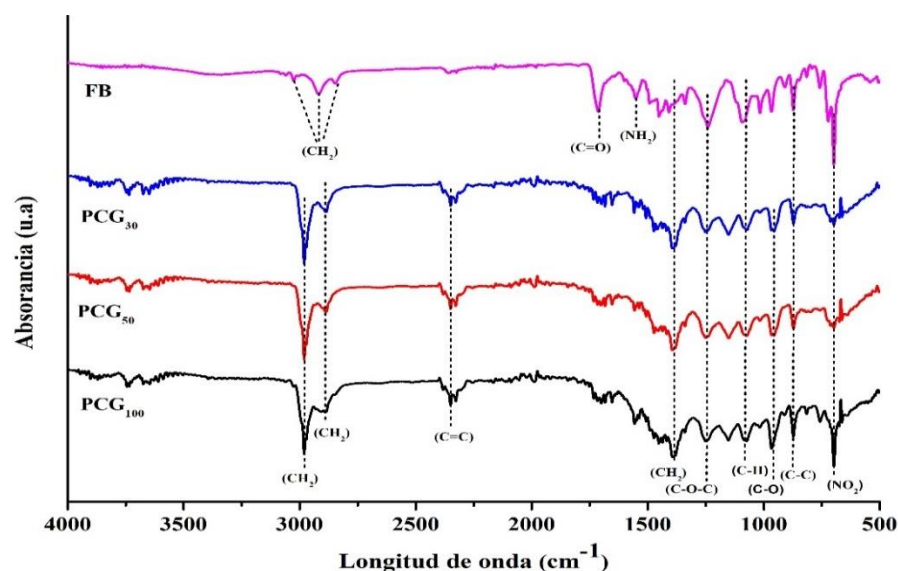


Figura 3.8. FTIR de las Fibras con PCG en las tres diferentes concentraciones y la Fibra sin nanomaterial (Blanco).

En la Figura 3.8 se observan los espectros de las fibras de nailon poliéster con nanomaterial impregnado en diferentes concentraciones (30 mg, 50 mg y 100 mg) de PCG, además de la fibra sin la presencia de PCG (FB). Se encontró un pico de banda de 2920 cm^{-1} correspondiente al grupo funcional C-H, sin embargo, cuando se añadió PCG el pico se desplazó a un valor de 2978 cm^{-1} esto se debe a las vibraciones que presentan los enlaces C-H, los cuales son del tipo de estiramiento simétrico, por lo que puede tomar valores diferentes dentro de la región del espectro IR, además de que los picos pertenecientes al grupo C-H son más pronunciados cuando se añade los PCG, esto se debe a que la agrupación de los enlaces carbono se solapan entre la fibra y el nanomaterial. Así mismo se ubicó otro pico de banda en la región de 1388 cm^{-1} que corresponde al grupo C-H pero con el tipo de tensión asimétrica en su enlace. Por otro lado, en las fibras con PCG contó con la aparición de un pico de banda en la región de 2325 cm^{-1} que corresponde al enlace C=C perteneciente a la hibridación sp^2 , cabe mencionar que este pico es propio de los PCG, pues la banda de enlace C=C en los PCG corresponde a 2330 cm^{-1} , es decir, los dobles enlaces del carbono que son propios de los PCG permanecieron en las fibras de nailon. De igual manera, se ubicó el grupo C-O-C en la región de 1240 cm^{-1} con vibración de desdoblamiento, sin embargo, la pronunciación de la banda de FB con respecto a las Fibras de PCG es mayor debido al contenido de oxígeno presente antes del tratamiento de sonicación, además de que el contenido de grupos oxigenados es menor en los PCG. Por último, se encontraron los enlaces C-O y C-C en las regiones de 1089 cm^{-1} y 868 cm^{-1} respectivamente. Se puede observar que los picos de banda de las fibras con PCG correspondientes a los enlaces ubicados en la huella dactilar son poco pronunciados con respecto a la fibra en la que no hay presencia de nanomaterial debido al desdoblamiento de enlaces en el tratamiento por ultrasonido.

Parvinzadeh *et al.*, (2011), realizaron un análisis por FTIR a las fibras de nailon poliéster en el que obtuvieron valores de banda alrededor de 2966.5 cm^{-1} y 871 cm^{-1} correspondientes a los enlaces C-H y C-C propios de los anillos de benceno que poseen las fibras de nailon, además, reportaron que los enlaces de C=O se ubicaron

en el pico de banda con valor de 1709 cm^{-1} . Por lo tanto, el análisis de las fibras de nailon en la presente investigación es similar a lo reportado en investigaciones previas y la modificación o adición de grupos funcionales es debido al nanomaterial impregnado en las fibras.

3.4.2 Caracterización de las Fibras por SEM

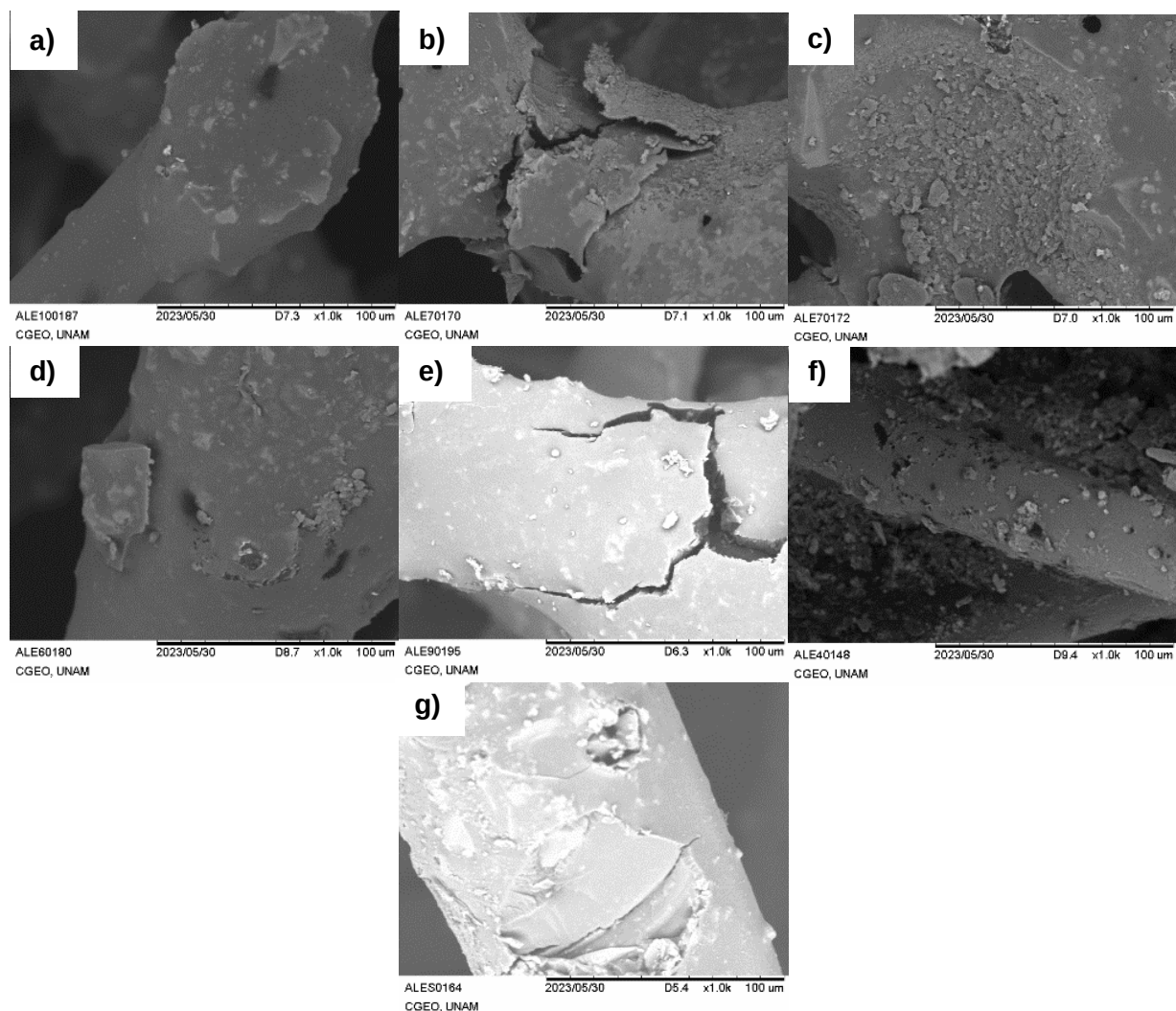


Figura 3.9. SEM de fibras impregnadas con nanomateriales. a) Fibra Blanco. b) Fibra NPsG₃₀. c) Fibra NPsG₅₀. d) Fibra NPsG₁₀₀. e) Fibra PCG₃₀. f) Fibra PCG₅₀. g) Fibra PCG₁₀₀.

En la Figura 3.9 a. se puede observar la magnificación de 1000x de la fibra de nailon poliéster, la cual posee una superficie rugosa, sin embargo, no cuenta con la presencia de nanomaterial. Por otro lado, en las Figuras 3.9 b, c y d. se muestran las micrografías de las fibras impregnadas con NPsG en las tres concentraciones mencionadas con anterioridad. Como se puede observar, en las fibras de nailon con NPsG, la superficie de la fibra es mucho más rugosa, además de contar con trozos amorfos de nanomaterial, por lo tanto, a medida que incrementa la concentración de la disolución, la presencia de nanomaterial es más notoria y abundante. Lo mismo ocurre con fibras impregnadas con PCG que se muestran en las Figuras 3.8 e, f. y g. en donde, la presencia de nanomaterial es mayor a medida que aumenta la concentración de las disoluciones, sin embargo, el tamaño de granulo de los PCG es menor que en el caso de las NPsG.

3.4.3 Análisis estadístico de la impregnación de los nanomateriales

En la Tabla 3.5 se muestra el ANOVA de un factor realizado en el software SigmaPlot 15.0 con un solo factor y con un nivel de significancia de 0.05 ($\alpha=0.05$), en este caso el factor que se fijó fue la concentración de NPsG y como respuesta los gramos de NPsG adheridos a la fibra de nailon poliéster. Los resultados indicaron que se rechazó H_0 debido a las diferencias entre los grupos, es decir, se obtuvo un valor estadístico de F ($F=69.44$) mayor que el valor crítico ($F_{0.05, 2, 9}=4.26$) por lo que se aceptó H_1 y se determinó que existen diferencias entre las concentraciones de nanomaterial impregnadas en la fibra de nailon poliéster. De acuerdo con el test de Tukey, se obtuvo diferencias significativas ($P<0.05$) en las medias de las concentraciones de 30 y 50 mg en 100 mL con respecto a la media de la concentración de 100 mg /100 mL (1 mg/mL), lo que resultó en el rechazo de la hipótesis nula y la aceptación de la hipótesis alterna. Por otro lado, utilizar concentraciones de 30 y 50 mg en 100 mL no influye en la cantidad de NPsG impregnado en la fibra, pues la media de cada uno es similar y el valor de P es mayor a 0.05, por lo que no hay diferencia significativa entre cada concentración y la respuesta (g de NPsG).

Tabla 3.5. ANOVA de un solo factor de las fibras con NPsG

Data source: ANOVA – Impregnation NPsG					
Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.145)					
Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.574)					
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
30	4	0	2.200	0.337	0.168
50	4	0	2.625	0.206	0.103
100	4	0	6.000	0.770	0.385
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	34.682	17.341	69.440	<0.001
Residual (intra)	9	2.248	0.250		
Total	11	36.929			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparisons for factor:					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
100 vs. 30	3.800	3	15.208	<0.001	Yes
100 vs. 50	3.375	3	13.508	<0.001	Yes
50 vs. 30	0.425	3	1.701	0.481	No
Resumen del modelo					
S	R cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	PRESS	R-cuadrado (pred)	
0.499722	93.91%	92.56%	3.99556	89.18%	

También se realizó un ANOVA de un factor para los PCG como se muestra en la Tabla 3.6, en donde se aplicó un criterio similar al de las NPsG. Los resultados muestran que hay diferencias en las medias del peso cuando se usan las tres concentraciones, pues el valor de F ($F=8.308$) es mayor al valor crítico ($F_{0.05, 2, 9}=4.26$) por lo que se rechazó la H_0 y se aceptó H_1 , en otras palabras, las medias son estadísticamente diferentes. Para la prueba de pares de Tukey, los resultados resaltan que la concentración de 100 mg con respecto a la de 30 mg posee diferencias ($P<0.05$) en la cantidad de PCG adherido a la fibra de nailon poliéster. Sin embargo, las demás comparaciones no muestran diferencias en las medias, por lo que se asume que a medida que aumenta la concentración, la cantidad adherida de PCG en la fibra es mayor.

Tabla 3.6. ANOVA de un solo factor de las fibras con PCG

Data source: ANOVA – Impregnation PCG					
Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.064)					
Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.199)					
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
30	4	0	1.800	0.141	0.0707
50	4	0	2.150	0.191	0.0957
100	4	0	2.975	0.685	0.342
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	2.912	1.456	8.306	0.009
Residual	9	1.577	0.175		
Total	11	4.489			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparisons for factor:					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
100 vs. 30	1.175	3	5.613	0.008	Yes
100 vs. 50	0.825	3	3.941	0.051	No
50 vs. 30	0.350	3	1.672	0.492	No
Resumen del modelo					
S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)		R-cuadrado (pred)	
0.418662	64.86%	57.05%		37.53%	

3.5 Monitoreo de RI

En esta sección se describen los resultados obtenidos del monitoreo del sistema anaerobio para la generación de la biopelícula bacteriana con la presencia de nanomaterial en el material de soporte.

3.5.1 Monitoreo de DQO

Con respecto al seguimiento del sistema anaerobio para la generación de la biopelícula, en la primera etapa, tal como se muestra en la Figura 3.10, tuvo una duración de 54 días con un pH constante de 7 ± 0.5 , se alcanzaron valores máximos de remoción de 84.64% para la DQO_T y 77.35% para DQO_S . La segunda etapa tuvo un periodo más corto de operación pues con 9 días se obtuvieron valores de remoción de 56.19% con respecto a la QQO_T y 54.36% para la DQO_S . Finalmente, en la tercera

etapa que se desarrolló durante 15 días, se obtuvieron remociones máximas de 51.42% de DQO_T y 39.68% de DQO_S . Siendo la tercera etapa en donde la acción completa de la biopelícula para remover la materia orgánica se desarrolló en un tiempo más corto comparado con las dos etapas iniciales debido a que la biopelícula poseía una estabilización completa con el nanomaterial confiriéndole la capacidad de adaptarse al cambio de las cargas y descargas de sustrato (Kumar *et al.*, 2021).

Al inicio de la etapa 1 se tuvieron perturbaciones en las remociones de la DQO esto es debido a que, en los días iniciales, las bacterias comenzaron a adaptarse al nanomaterial y con el tiempo se familiarizaron al efecto del nanomaterial lo que provocó que los microorganismos fueran capaces de degradar la materia orgánica en el medio. Cabe señalar que en la primera etapa se generó la biopelícula en el material de soporte y a partir del día 25 se observó la acumulación de biomasa sobre las fibras de nailon poliéster.

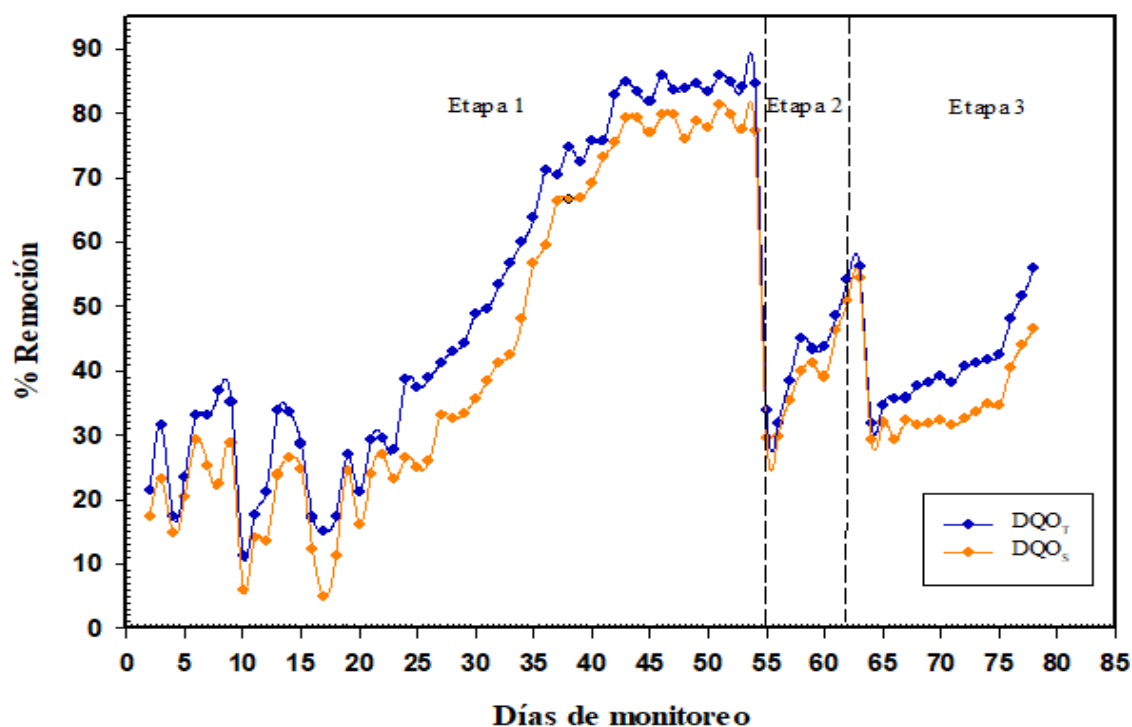


Figura 3.10. Gráfico del monitoreo de la remoción de la DQO comprendido en tres etapas.

3.5.2 Monitoreo de ST y SV

En la Figura 3.11. se observa el monitoreo de los sólidos totales y sólidos totales volátiles en las tres etapas llevadas a cabo durante la experimentación. La primera etapa comprendió de un periodo de estabilización de 24 días en los que hubo fluctuaciones en la remoción de la ST y SV, logrando terminar en remociones máximas de 75.5% de ST y 61.2% remoción para SV, teniendo una relación significativa con la DQO debido a la cantidad de materia orgánica presente en el proceso de la digestión anaerobia. En la segunda etapa que comprendió un periodo más corto debido a la rápida adaptación de la biopelícula al medio, por lo que obtuvieron remociones de ST del 65 % y 52.2 % para SV. Y en la última etapa se alcanzaron valores de 52.7 % y 47.6 % de ST y SV respectivamente. Los resultados son similares a los que reportaron König *et al.*, (2022), en donde emplearon un panel que sirvió como soporte para la generación de una biopelícula en un reactor anaerobio en condiciones batch.

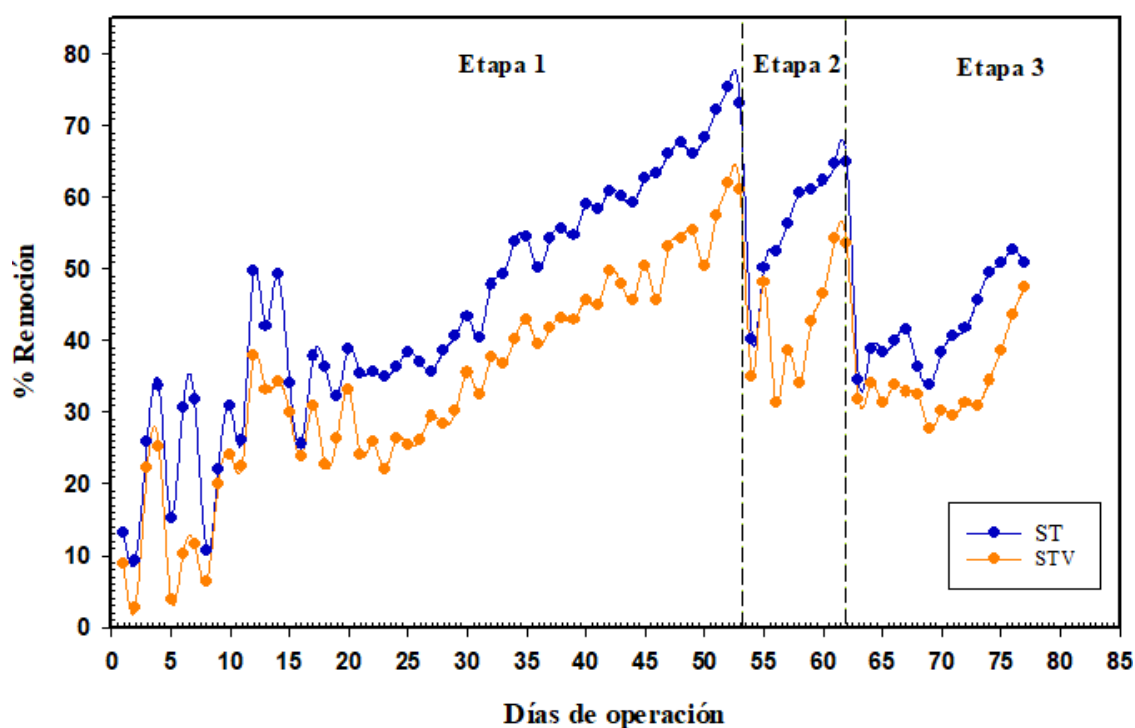


Figura 3.11. Gráfico del monitoreo de la remoción de ST y SV comprendido en tres etapas

3.5.3 Monitoreo de pH

Los resultados del monitoreo del pH se ilustran en la Figura 3.12. Como se puede observar, en cada etapa, el pH se mantuvo en un rango neutro (7 ± 0.5) a excepción de los días de arranque de cada etapa. Al inicio de cada etapa estan marcadas algunas perturbaciones en el sistema, esto es debido a la presencia de ácidos grasos volátiles que se generan en la etapa de la hidrolisis y al periodo de estabilización de la biopelícula. Al avanzar los días se puede observar que la biopelícula reduce la acidez en el sistema logrando mantener un pH estable. Cabe mencionar que la salida del efluente mantuvo valores de entre 7 y 6.8 cuando el proceso llegaba a ser estable con respecto al pH, tanto en la etapa 1, 2 y 3.

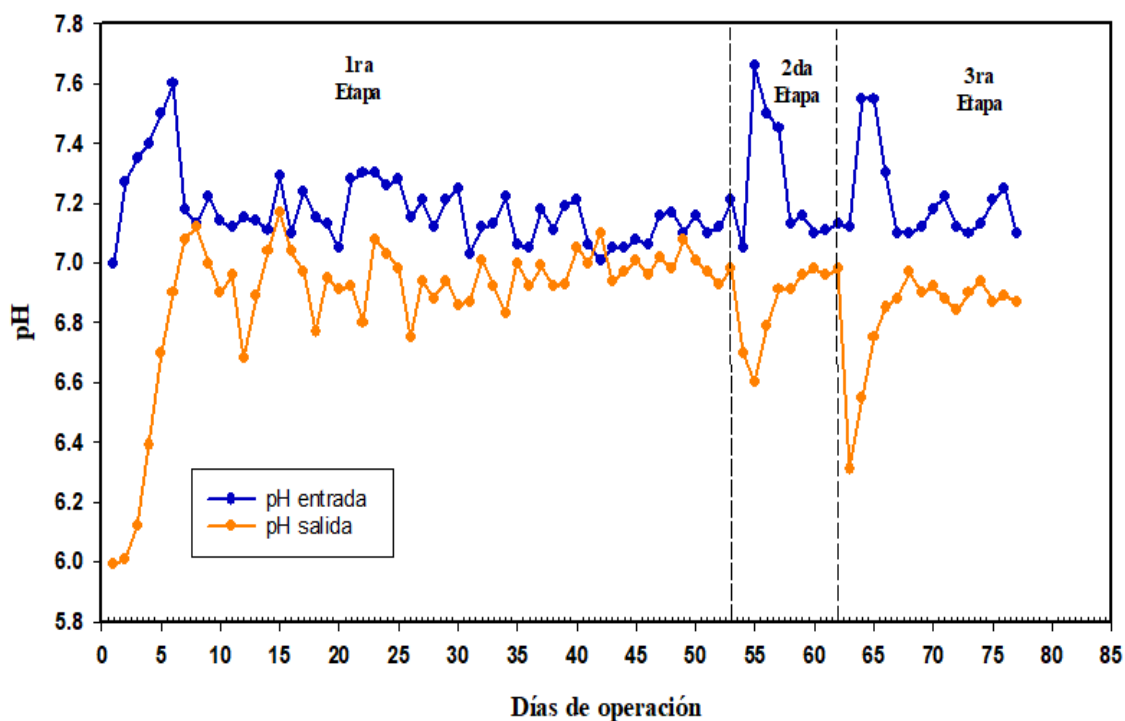


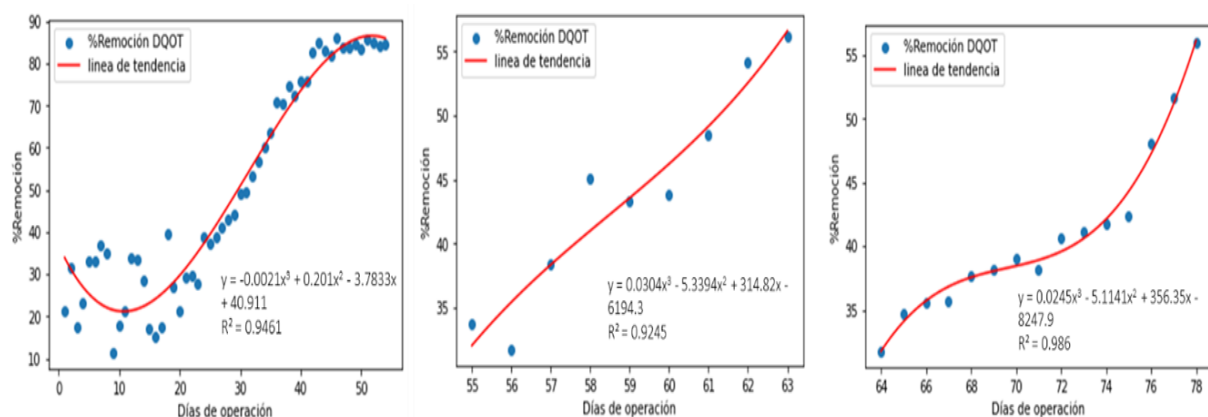
Figura 3.12. Gráfico del monitoreo del pH de las tres etapas.

3.5.4 Análisis estadístico del monitoreo del RI

Mediante el software de python se realizaron regresiones polinomiales para hallar el modelo matemático que describa el comportamiento de la tendencia de %Remoción

de DQO_T , ST y SV de cada etapa. Se realizó un código que consistió en un ciclo para encontrar los mejores ajustes matemáticos, del cual sólo se seleccionaron tres modelos que siguen la tendencia de cada etapa descrita en el proceso anaerobio del RI.

Los resultados se muestran en la Figura 3.13, siendo el ajuste de tercer orden el que se ajusta mejor a los datos. La R^2 de los modelos de la remoción se ajustan en un rango mayor a 0.9 por lo que la remoción de la DQO_T es representativa en el proceso. Por otra parte, el ajuste del modelo de tercer orden se acopló de manera adecuada en el comportamiento de la remoción de los ST, teniendo un ajuste con una R^2 en un rango mayor a 0.8, sin embargo, en la segunda etapa tuvo un ajuste mayor al 0.9 debido al contenido de materia orgánica presente después de retirar la mitad de inóculo. Por último, el modelo de los SV tuvo ajustes que variaron bastante con cada etapa, por ejemplo, en la segunda etapa el modelo tuvo una R^2 de 0.63, lo cual representa que hubo oscilaciones en el comportamiento de los SV debido a la presencia de nanomaterial que se desprendió de la biopelícula y se midió como si fuera un parte de los SV. En la tercera etapa el nanomaterial fue asimilado y envuelto por la biopelícula, por lo que no se desprendió y se tuvo una R^2 por encima de 0.9.



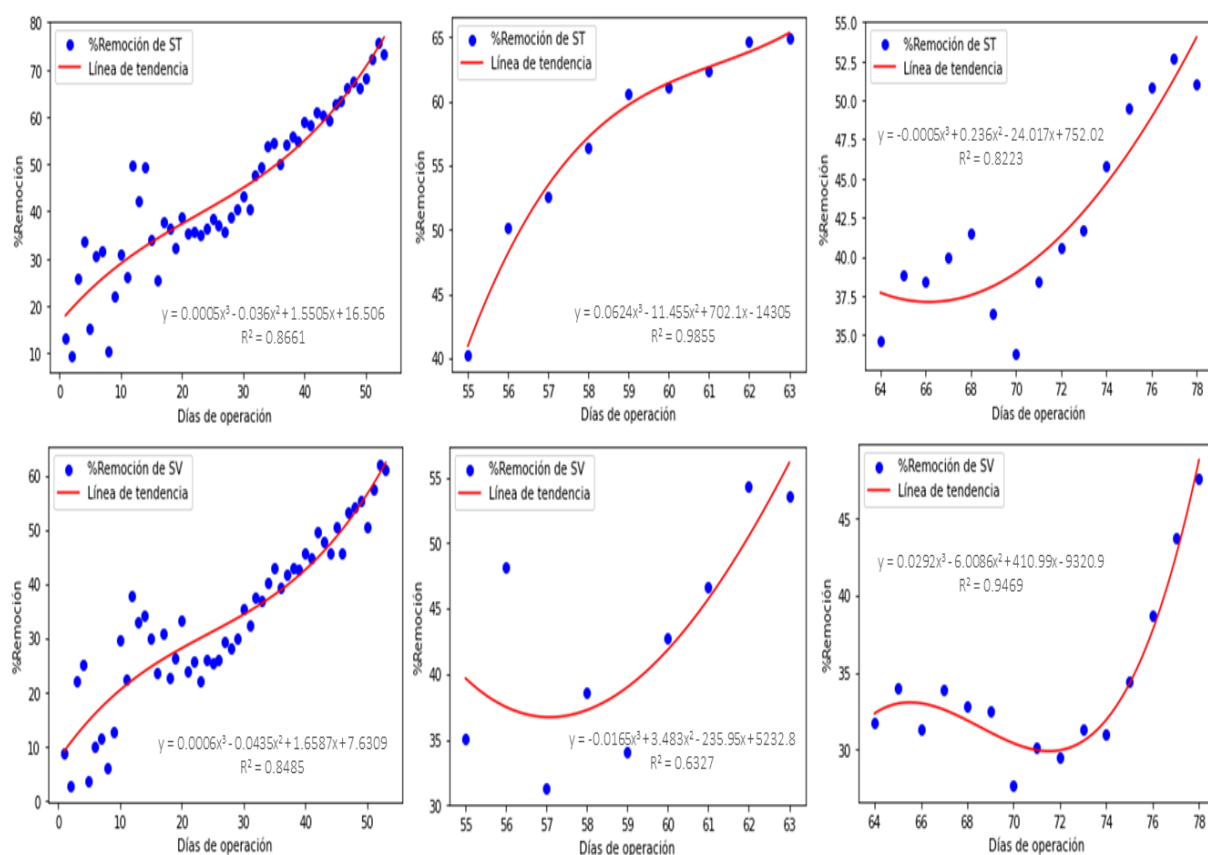


Figura 3.13. Modelos de regresión polinomial de cada etapa de monitoreo.

3.5.5 Análisis del Inóculo en las diferentes etapas

Se realizó un análisis fisicoquímico del inóculo en cada una de las etapas de la digestión anaerobia y formación de biopelícula. Los resultados de los análisis se muestran en la Tabla 3.7, en donde los valores de la DQO_T y DQO_S disminuyen en cada etapa, por ejemplo, la DQO_T del inóculo inicial tuvo un valor de 84.2 g/L y al finalizar la etapa 2 se obtuvo un inóculo digerido con un valor de 3 g/L. El inicio de la etapa 2 comprende el final de la etapa 1, por lo que los resultados de los SV del inóculo en esta sección aumentaron debido al uso de $NaHCO_3$ como agente neutralizante en el sustrato que se alimentaba diariamente. Así mismo, en el final de la etapa 2, se obtuvo un resultado de SV cercano al que se presentó al inicio de la etapa anteriormente mencionada. Por último, el pH del inóculo permaneció dentro del rango

de 8 a excepción de la etapa final, en donde el valor del pH decreció debido a que el sistema se estaba adaptando al sustrato y que el periodo de estabilización no se logró con respecto al pH.

Tabla 3.7. Caracterización fisicoquímica del Inóculo en las diferentes etapas

Parámetro	Inóculo inicial		Inóculo final 1era etapa		Inóculo final 2da etapa	
DQO _T	84.2	g/L	46.325	g/L	3.6	g/L
DQO _s	68.0	g/L	34.2	g/L	2.9	g/L
pH	8.93	-	8.02	-	6.92	-
SV	41.51	%	74.11	%	69.0	%
ST	4.49	%	2.604	%	1.57	%

3.5.6 Análisis de la biopelícula

Para observar el comportamiento de las colonias bacterianas con el nanomaterial en la biopelícula sobre el material de soporte, se realizó un análisis por microscopia electrónica de barrido (SEM). Los resultados del análisis se muestran en la Figura 3.14. Es importante mencionar que se realizó una comparativa de la fibra sin colonizar y las fibras colonizadas con presencia del nanomaterial, es decir, la formación de la biopelícula. La Figura 3.14 a. muestra la fibra sin colonizar y sin presencia de nanomaterial (Fibra en blanco).

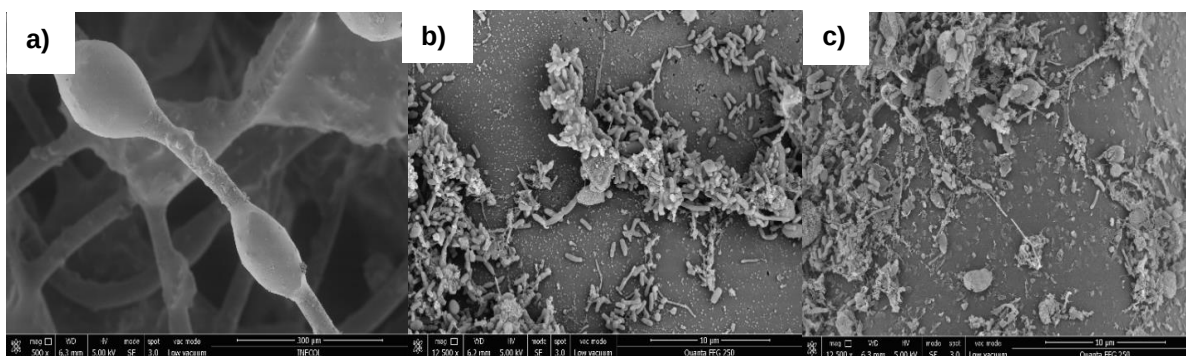


Figura 3.14. a) Fibra sin nanomaterial. b) Fibra colonizada con PCG. c) Fibra colonizada con NP₅G.

En la Figura 3.14 b. se reportan los resultados de la microscopia tomada a la biopelícula generada en presencia de PCG, en la micrografía se puede observar la presencia colonias bacterianas como las arqueas metanogénicas, *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, entre otras de acuerdo con lo reportado por Kumar *et al.*, (2021). Mientras que en la Figura 3.14 c., se muestra la toma de la biopelícula en presencia de NP_sG, de igual manera se puede ver la presencia de microorganismos interactuando con el nanomaterial, los microorganismos que se pueden encontrar dentro de este consorcio son arqueas metanogénicas hidrogenotróficas, *Methanosarcina barkeri*, *G.Metallireducens*, *Geobacter* sp, etc. con respecto a lo mencionado por Lin *et al.*, (2018), que trabajaron con grafeno y reportaron la presencia de las bacterias y arqueas anteriormente mencionadas en los sistemas anaerobios que trabajaron.

Otra parte fundamental del análisis de la biopelícula comprende la cantidad de biomasa presente en el material de soporte, por lo que los resultados de materia volátil se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3.8. Materia volátil adherida al material de soporte.

Fibra	g SV de la biomasa	g ST de la biomasa
Blanco	0.0102	0.0135
PCG ₃₀	0.0134	0.0144
PCG ₅₀	0.014	0.0158
PCG ₁₀₀	0.0298	0.0306
NP _s G ₃₀	0.0135	0.012
NP _s G ₅₀	0.0124	0.0142
NP _s G ₁₀₀	0.0182	0.0228

Los resultados de la MVA que se presentan en la Tabla 3.8, muestran que la cantidad de biomasa en la fibra aumenta considerablemente a medida que aumenta la cantidad de nanomaterial adherido, es decir, en concentraciones bajas de nanomaterial, la cantidad de biomasa es similar a la que obtuvo sin añadir nanomaterial (fibra en blanco). Sin embargo, pasa lo contrario cuando hay una concentración mayor de nanomaterial pues la cantidad de ST y SV de biomasa aumenta considerablemente

debido a que el nanomaterial empleado tiene cierta biocompatibilidad con el consorcio de bacterias y arqueas presentes en el sistema.

Si se compara los PCG y las NP_sG con respecto a la cantidad de MVA, los resultados muestran que los PCG obtuvieron mayor cantidad de SV y ST en las tres diferentes concentraciones con respecto a las NP_sG, esto se debe a la afinidad de los PCG y reactividad en los bordes de los mismos para agruparse con los grupos funcionales presentes en las membranas bacterianas, es decir, son más biocompatibles con el sistema anaerobio (Yadav *et al.*, 2023).

3.6 Pruebas de potencial bioquímico de metano de la biopelícula (PBM)

Los resultados de las pruebas de potencial bioquímico de metano comprendieron la generación de metano, el rendimiento por gramo de DQO removida, así como la acumulación de biogás a lo largo de la experimentación, las eficiencias de remoción y la biodegradabilidad del sustrato en presencia de la biopelícula con nanomaterial. Estos y más resultados se presentan a continuación.

3.6.1 Monitoreo de la generación de biogás en las cinéticas

El monitoreo de las cinéticas tuvo una duración de 28 días, en donde la producción de metano fue considerable. Los resultados del monitoreo de las cinéticas de la biopelícula con NP_sG se muestran en la Figura 3.15. Se puede ver que la producción de biogás no tiene un aumento considerable cuando se varía la concentración de nanoplaquetas, mientras que la biopelícula sin nanomaterial tiene valores altos de producción de biogás, siendo este el valor de 166.7 NmL. De igual modo, los valores que produjeron la biopelícula en las diferentes concentraciones de nanoplaquetas fueron de 154.18 NmL, 160 NmL y 152.4 NmL de biogás acumulado por NP_sG₃₀, NP_sG₅₀ y NP_sG₁₀₀ respectivamente. Siendo la biopelícula con concentración intermedia (NP_sG₅₀), la que obtuvo un valor cercano al producido por el blanco.

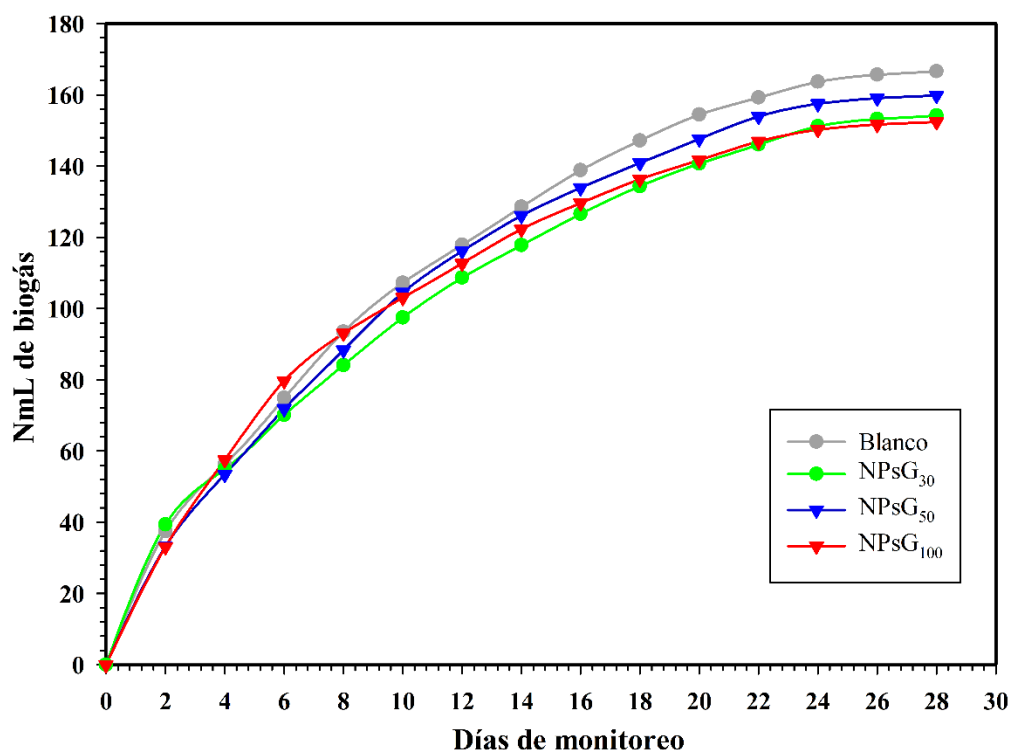


Figura 3.15. Biogás acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana con NPSG

Los resultados de la producción de biogás acumulado de los PCG se presentan en la Figura 3.16. La cantidad de biogás acumulado en las cinéticas aumentó en presencia de la biopelícula con puntos cuánticos de grafeno, siendo la cantidad de 166.7 NmL de biogás acumulado por la biopelícula sin presencia de nanomaterial. Mientras que en la biopelícula con concentraciones de PCG se obtuvieron valores de 171.4 NmL, 172.55 NmL, y 166.8 NmL de biogás acumulado para cada una respectivamente (PCG₃₀, PCG₅₀, PCG₁₀₀). El comportamiento de la tendencia de la producción de biogás es no muy remarcado, sin embargo, la biopelícula sin PCG fue la que obtuvo menor producción de biogás. Los resultados mencionados anteriormente describen que el aumento de biogás se debe a la presencia de los puntos cuánticos de grafeno en la biopelícula bacteriana.

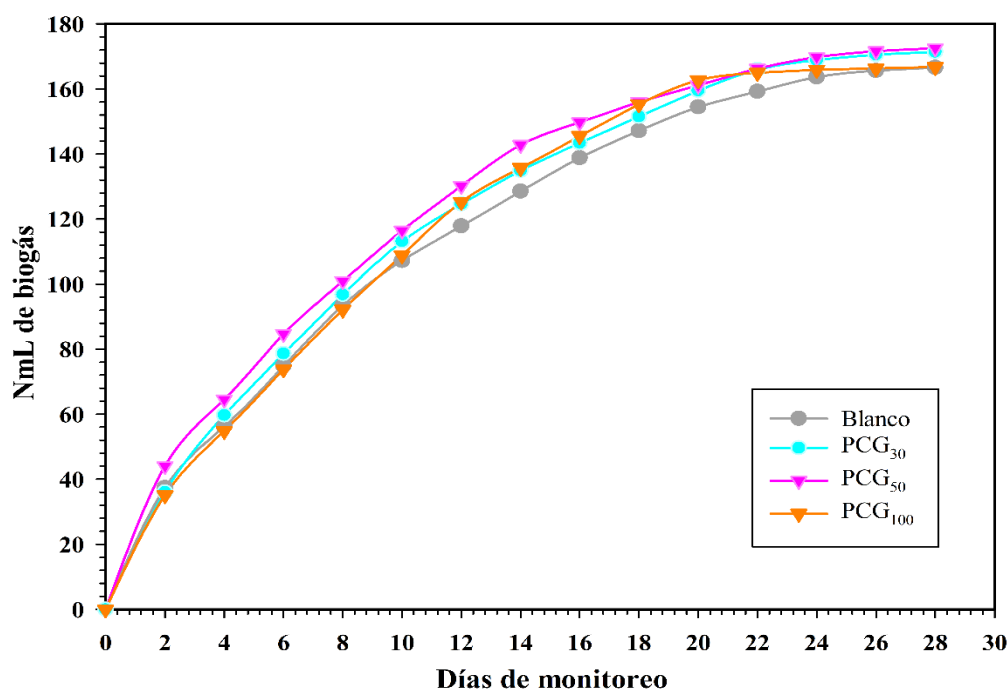


Figura 3.16. Biogás acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana

3.6.2 Monitoreo de la generación de biometano en las cinéticas

El monitoreo del biometano de la biopelícula con NP_sG y PCG comprendió de un periodo de 28 días, tal como se muestra en la Figura 3.17 y 3.18 respectivamente. En las gráficas se aprecia el comportamiento con respecto a los días y como la producción fue de más a menos producción. Por otro lado, en la Figura 3.19 se muestra el comportamiento del metano acumulado en las PBM producido por la biopelícula con NP_sG. En la gráfica se aprecia un comportamiento destacado por parte de la biopelícula con NP_sG, pues se obtuvo un volumen de metano acumulado de 108.6 NmL, 109.7 NmL y 116 NmL en las concentraciones de 100, 50 y 30 mg de NP_sG respectivamente en la biopelícula. Mientras que la biopelícula sin NP_sG obtuvo la cantidad de 106.5 NmL de metano acumulado.

La adición de la cantidad de NP_sG en menor concentración no tiene significancia en el biometano obtenido comparado con la biopelícula sin adición de nanomaterial, caso

contrario a lo que se reporta cuando se añade una dosis mayor de NP_sG, pues aumenta la producción de biometano.

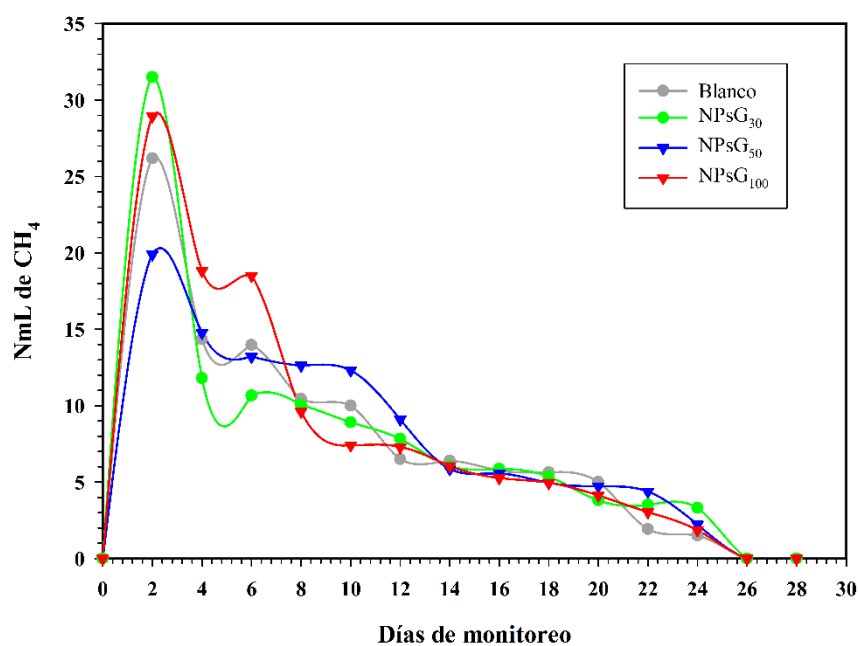


Figura 3.17 monitoreo de biometano de la biopelícula con NP_sG.

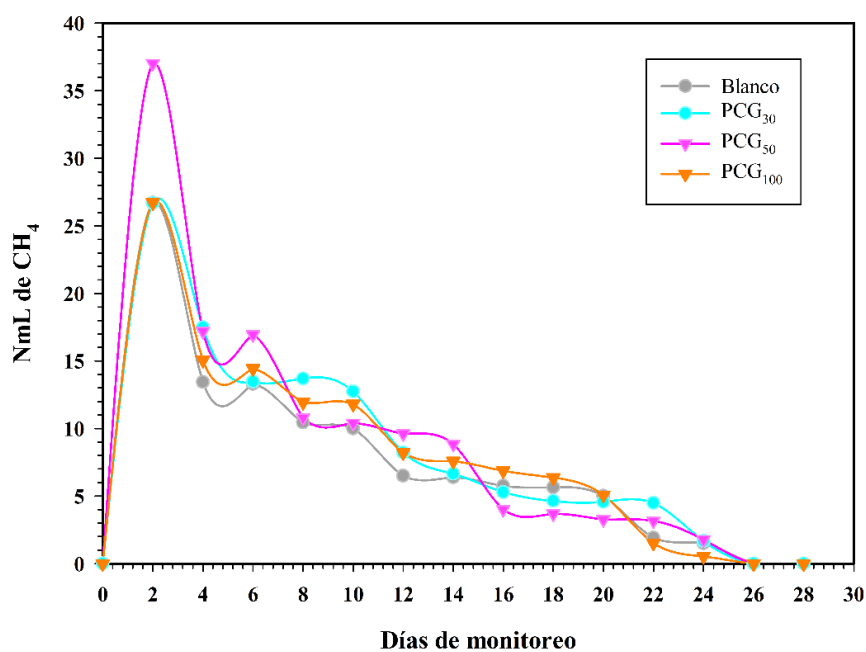


Figura 3.18 monitoreo de biometano de la biopelícula con PCG.

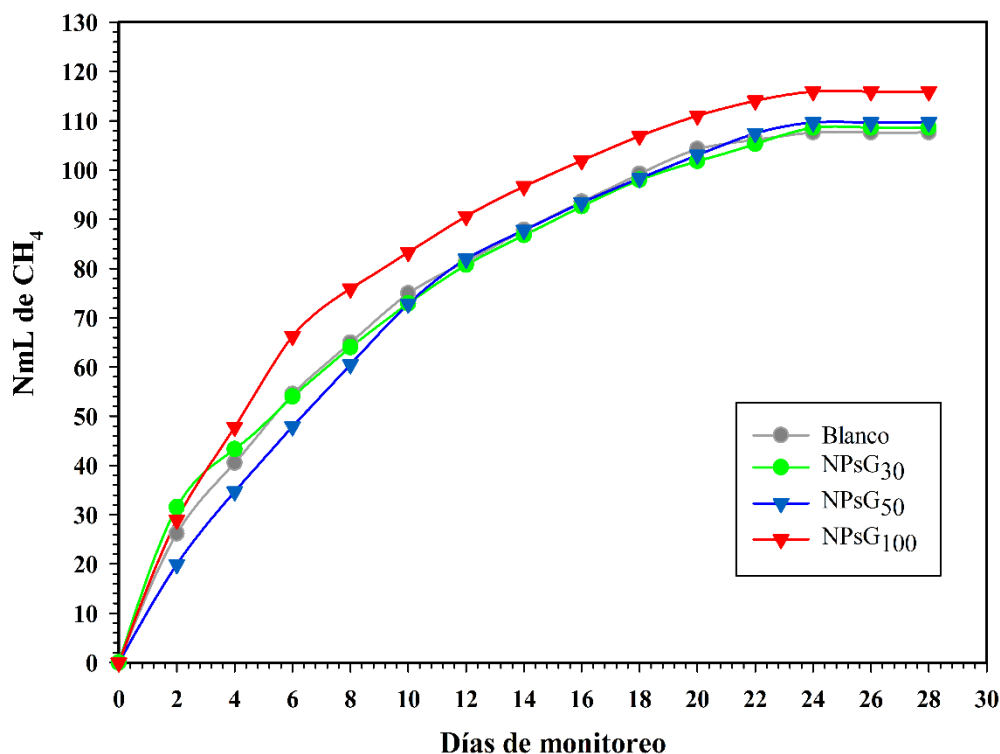


Figura 3.19. Metano acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana con NPsG.

Los resultados del metano acumulado para los PCG se presentan en la Figura 3.20, los cuales indican que se obtuvo una mayor cantidad de biometano en la biopelícula con las tres concentraciones de PCG (PCG₁₀₀, PCG₅₀, PCG₃₀) con respecto al blanco, es decir, se obtuvieron valores por arriba de 119.5 NmL, 126.7 NmL y 116.1 mL de biometano acumulado respectivamente, mientras que el biometano producido por la biopelícula sin PCG obtuvo un volumen de 106 NmL de biometano acumulado.

Teniendo en cuenta los valores obtenidos, se puede apreciar que la biopelícula con concentración de 0.5 mg/mL (50 mg/100 mL) obtuvo un valor de biometano alto comparado con las demás concentraciones. Mientras que la concentración de 1 mg/mL fue la que presentó un valor menor de biometano, debido al incremento de nanomaterial que es contraproducente con el medio en dosis considerablemente altas (Li et al., 2021).

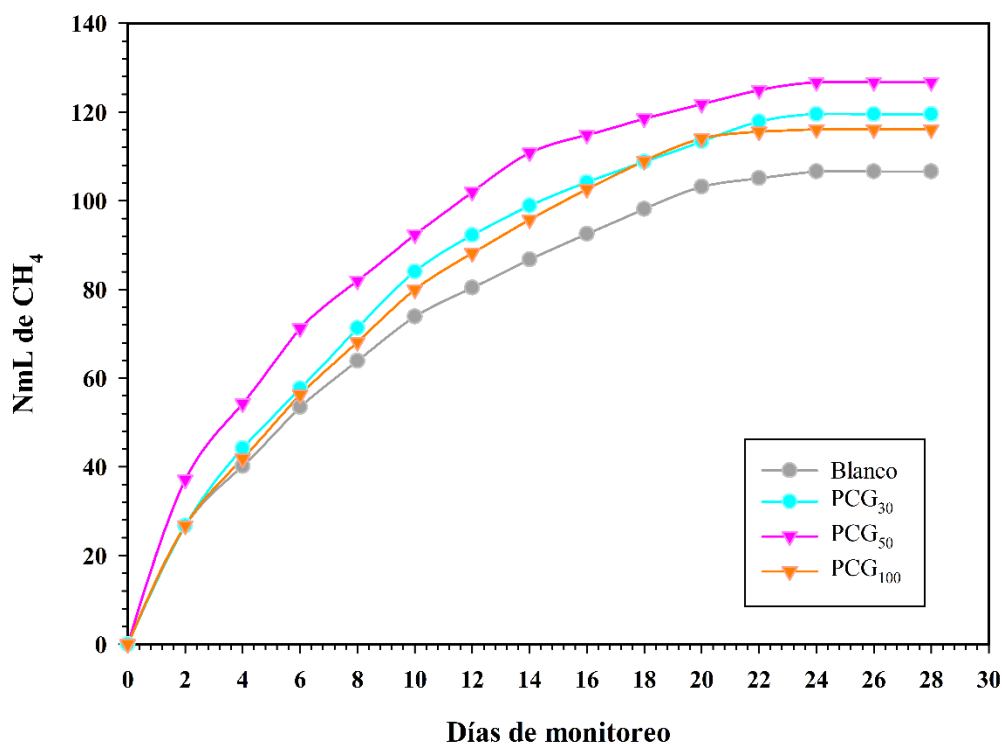


Figura 3.20. Metano acumulado producido por la acción de la biopelícula bacteriana con PCG

Un parámetro importante dentro del monitoreo de biometano producido por la biopelícula en las cinéticas es el rendimiento de metano que se obtiene por el balance entre los flujos de carbono orgánico del catabolismo y anabolismo de los ecosistemas metanogénicos. Los resultados del monitoreo de los rendimientos de metano por acción de la biopelícula con NP_sG se presentan de manera gráfica en la Figura 3.21. En el gráfico se puede observar los rendimientos de la biopelícula con diferentes concentraciones de NP_sG, siendo la concentración mayor de nanomaterial la que obtuvo un mayor rendimiento para producir CH₄ (322.1 mL CH₄/gDQO_{removida}). Los resultados destacan por encima del rendimiento del blanco (305.2 mL CH₄/gDQO_{removida}) que es relativamente baja comparado con la biopelícula que tiene nanomaterial.

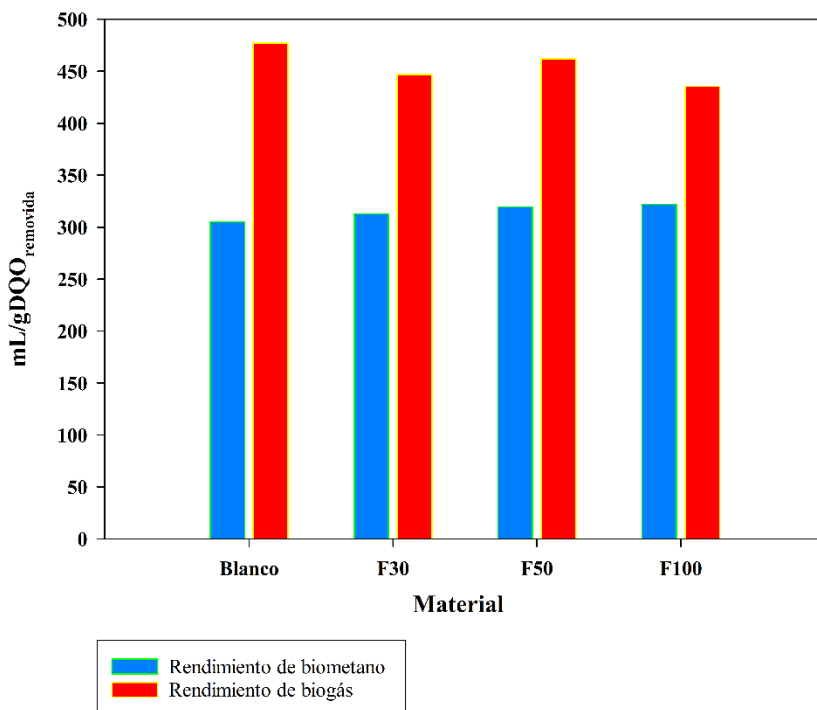
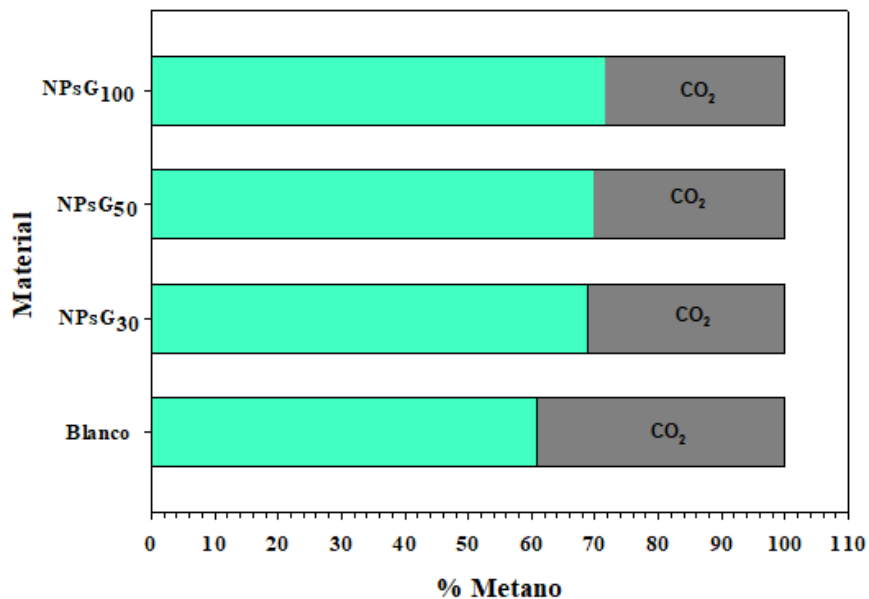


Figura 3.21. Rendimientos de la biopelícula con NPsG

De igual manera, en la Figura 3.22, se presenta un gráfico en el que se plasman los valores promedio del contenido de metano en el biogás producido por la biopelícula.



3.22. Contenido de biometano en biopelícula con NPsG

Se obtuvo un promedio del 71.6 % de biometano producido por la biopelícula con NP_SG (concentración de NP_SG₁₀₀), mientras que sin la adición de NP_SG se obtuvo un promedio de metano del 60.9 %, esto es debido a que la producción de biometano depende altamente de la actividad sintrófica de los microorganismos acetilénicos productores de electrones y las arqueas metanogénicas consumidoras de electrones.

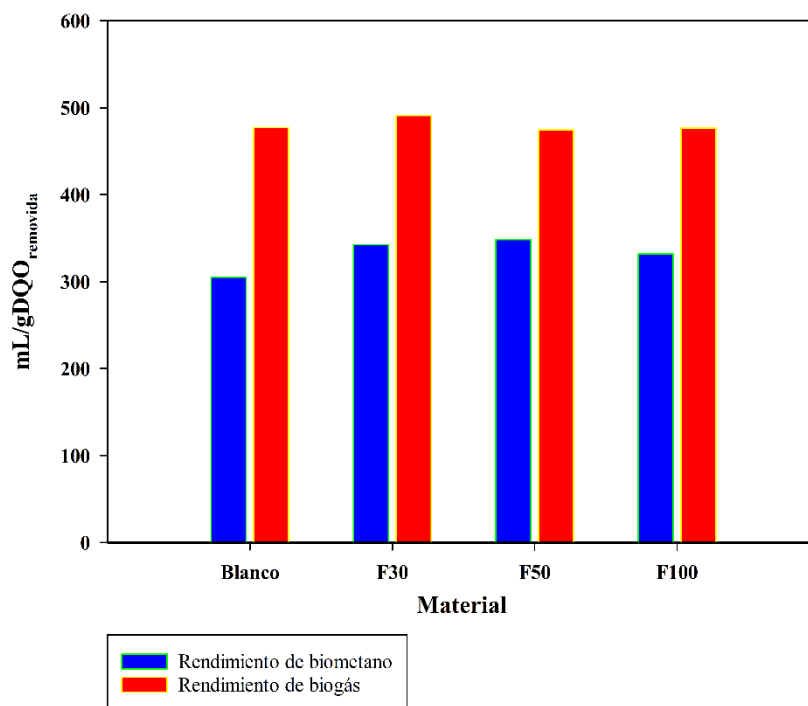
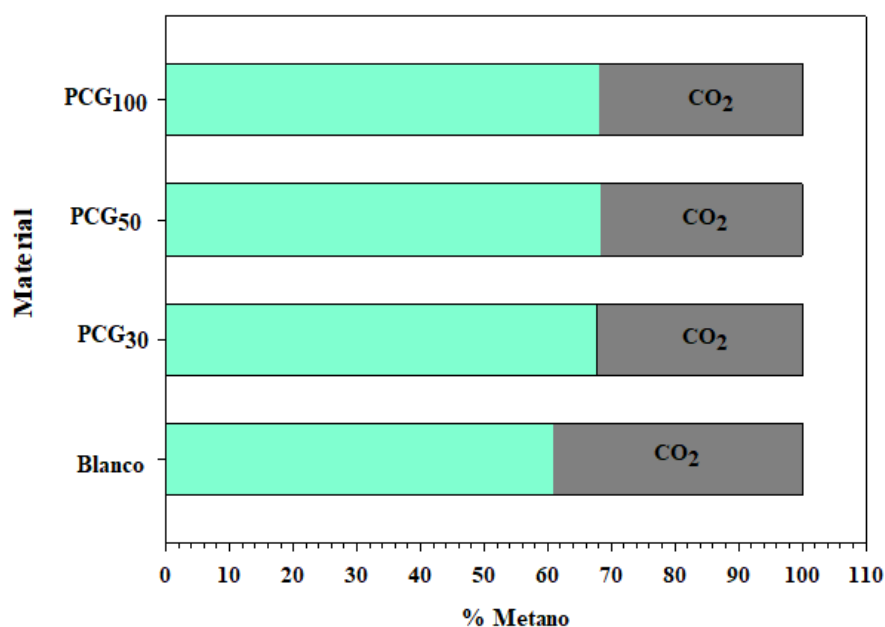


Figura 3.23. Rendimientos de la biopelícula con PCG.

Los rendimientos de biometano obtenidos por acción de la biopelícula con PCG se muestran en la Figura 3.23. Los resultados obtenidos detallan el comportamiento positivo por parte de la biopelícula con los PCG, siendo la concentración de 0.5 mg/mL la que sobre sale por su valor aproximado a al valor teórico (350 mL CH₄/gDQO_{removido}), sin embargo, si se comparan las concentraciones entre sí de PCG, el comportamiento de la biopelícula con un mayor contenido de PCG (1mg/mL) mostró un rendimiento menor (331.7 mL CH₄/gDQO_{removido}) para biodegradar la materia orgánica y producir metano. La concentración de 0.5 mg/mL tuvo mejores resultados debido a que esta concentración promueve la metalogénesis mediante el mecanismo de la transferencia

de electrones entre especies. En cambio, la biopelícula sin nanomaterial presentó un valor máximo en rendimiento de 305.2 mL CH₄/gDQO_{removido}, el rendimiento fue menor en comparación con la biopelícula con PCG en sus respectivas concentraciones. Esto confirma que la presencia de PCG estimula la actividad microbiana en el sistema anaerobio para obtener mayores rendimientos de metano.

De igual manera, se puede observar en la Figura 3.24, los porcentajes relativamente altos de biometano producido por la biopelícula con PCG; 67.8 %, 68.4 %, 68.1 % respectivamente para cada concentración. En comparación con la biopelícula sin nanomaterial que obtuvo un 60.9 %, la biopelícula con PCG tiene un contenido de biometano mayormente notorio.



3.24. Contenido de biometano en biopelícula con PCG.

En la presente investigación se logró obtener un incremento en la producción de biometano al implementar la biopelícula con nanomaterial (NP_sG y PCG) en diferentes concentraciones. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.9, en donde a medida que incrementa la concentración de nanomaterial el porcentaje de metano aumenta.

Tabla 3.9. Incremento de los valores de rendimientos de biogás y metano

Nanomaterial	% Incremento de CH ₄
PCG ₃₀	12.2
PCG ₅₀	18.9
PCG ₁₀₀	9.0
NPsG ₃₀	1.3
NPsG ₅₀	3.8
NPsG ₁₀₀	5.8
Blanco	-

Los resultados de biometano producido en este trabajo son similares a los que reportó Lin *et al.*, (2017), en donde reportaron incrementos en los valores de biometano al adicionar Nanoplaquetas de grafeno y grafeno en el sistema anaerobio, en comparación a cuando no se agrega nanomaterial. De igual manera Li *et al.*, (2021), obtuvieron rendimientos altos de biometano cuando emplearon puntos cuánticos dopados con Nitrógeno, dichos valores lograron un incremento en un 230 % cuando se agregaron 5 g/L y 38.4 % adicionando 1 g/L del nanomaterial anteriormente mencionado. Por lo tanto, las investigaciones previas muestran que la adición de los nanomateriales en cantidades considerables aumenta la producción de metano complementando los resultados de la presente investigación.

3.6.3 Biodegradabilidad de la DQO

El monitoreo de DQO es de gran importancia debido a que proporciona un panorama en cuanto la remoción de materia orgánica disponible para que el proceso anaerobio se lleve a cabo.

Otro de los puntos importantes en es la biodegradabilidad de la DQO, la cual indica la eficiencia de biopelícula para degradar la DQO y está fuertemente relacionado con el porcentaje de remociones de DQO a lo largo de la experimentación. Los resultados de la biodegradabilidad se muestran en la tabla 3.10.

Tabla 3.10. Resultados de la biodegradabilidad en las cinéticas

Material	% Biodegradabilidad de DQO
PCG ₃₀	96.0
PCG ₅₀	100
PCG ₁₀₀	96.1
NPsG ₃₀	95.0
NPsG ₅₀	95.2
NPsG ₁₀₀	96.2
Blanco	95.7

Como se puede apreciar en la tabla 3.10, la concentración de DQO en el sistema fue digerida en su totalidad por acción de la biopelícula, siendo la biopelícula con PCG la que consumió la mayoría de DQO presente en el reactor en comparación con las NPsG que solo la concentración en mayor proporción fue la que tuvo una mejor adaptabilidad al sustrato comparado con el blanco.

3.6.4 Monitoreo de pH

En la Figura 3.25 se muestra el comportamiento del pH de la biopelícula con NPsG en las tres concentraciones correspondientes. Como se puede apreciar, el pH se mantiene constante (7 ± 0.5) cuando hay nanoplaquetas de por medio en comparación a cuando no lo hay en la biopelícula, pues el pH tiende a comportarse de manera diferente (aumenta la alcalinidad del medio). El comportamiento del pH es similar en el caso de la biopelícula con puntos cuánticos de grafeno en sus tres concentraciones, así como se muestra en la Figura 3.26, en donde el pH se mantiene neutro. Cabe mencionar que existen fluctuaciones en los pH neutros cuando hay presencia de nanomaterial, sin embargo, no tuvo un comportamiento que sobrepasara el rango de alcalinidad del medio.

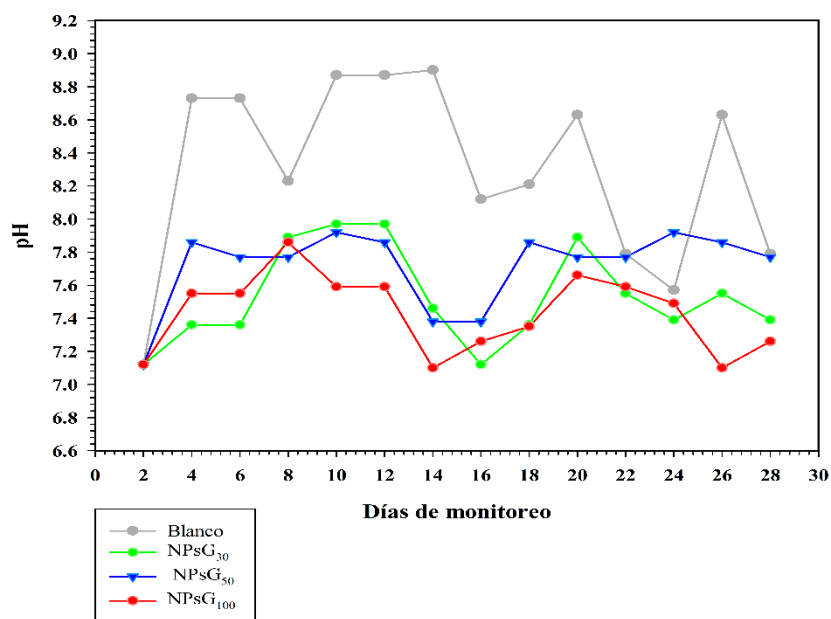


Figura 3.25. Monitoreo de pH de la biopelícula con NPG

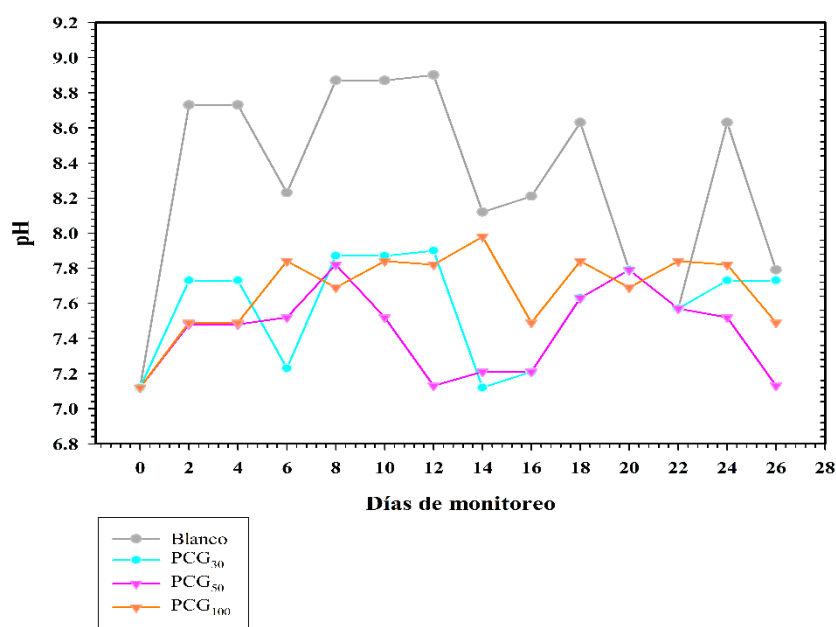


Figura 3.26. Monitoreo de pH de la biopelícula con PCG.

Es importante mencionar que el comportamiento del pH de la biopelícula sin nanomaterial aumenta hasta llegar a 8, esto se debe a que los iones presentes de

hidrógeno no se encuentran en equilibrio y el mecanismo que los regula (Anabolismo y catabolismo) no es estable. Los resultados obtenidos del comportamiento del sistema son similares a los que obtuvo Bueno-López *et al.*, (2018), en donde reportaron que el pH se mantiene neutro cuando se añaden derivados de grafeno al medio anaerobio debido al intercambio de iones y desprotonización de grupos carboxilos.

3.6.5 Análisis del Potencial bioquímico de metano de la biolelícula.

Una de las características fundamentales para realizar el análisis del potencial bioquímico de metano es la caracterización de la FL de frutas y verduras por medio del análisis elemental. Como se puede ver en la Tabla 3.11, el elemento en mayor proporción es el Carbono seguido del oxígeno. La relación de C/N es de 15:1 (15.30), dicho valor es óptimo para lograr un balance de nutrientes (Kumar *et al.*, 2021).

Tabla 3.11. Análisis elemental de la FL de frutas y verduras

Resultados de la corrida	%N	%C	%H	%S	%O	%Cenizas
A	3.02	46.04	5.01	0.36	30.641	14.928
B	3.00	46.11	5.11	0.37	30.481	14.928
Promedio	3.01	46.08	5.06	0.37	30.551	14.928
Desv. Est.	0.014	0.049	0.071	0.007	0.8	0

Con los datos obtenidos de la tabla anterior se determinó el número de moles presentes de cada compuesto para calcular los coeficientes estequiométricos de la ecuación 3.1, que describe la reacción bioquímica teórica en el sistema anaerobio con el sustrato (FL de frutas y verduras).



El potencial bioquímico de metano teórico se calculó de dos maneras, la primera fue por análisis elemental ($PBM_{ELEMENTAL}$), mientras que la segunda manera fue por composición de la DQO (PBM_{DQO}). Los resultados se muestran en las tablas 3.12 y

3.13, en las cuales se realizó una relación con el Potencial bioquímico experimental (PBM_{Exp}).

Tabla 3.12. Resultados de potencial bioquímico teórico por análisis elemental

Concentración	PBM_{Exp} (mL CH_4 /g SV)	$PBM_{ELEMENTAL}$ (mL CH_4 /g SV)	IB de CH_4 (%)	Error (%)	Factor de corrección
Blanco	392.60	523.15	75.10	-33.25	0.75
NPsG ₃₀	399.63		76.31	-30.91	0.76
NPsG ₅₀	404.45		77.31	-29.35	0.77
NPsG ₁₀₀	426.67		81.56	-22.61	0.81
PCG ₃₀	442.60		84.61	-18.20	0.84
PCG ₅₀	469.26		89.70	-11.48	0.89
PCG ₁₀₀	430.10		82.20	-21.67	0.82

Los resultados de la tabla 3.12 indican que la producción de metano por g se SV (PBM_{Exp}) por parte de la biopelícula con NPsG y PCG obtuvieron valores cercanos al potencial bioquímico teórico cuando la concentración de nanomaterial aumenta, sin embargo no sucede lo mismo cuando la biopelícula no tiene nanomaterial, pues el error aumenta y el índice de biodegradabilidad de metano disminuye.

Tabla 3.13. Resultados de potencial bioquímico teórico por composición de DQO

Concentración	PBM_{Exp} (mL CH_4 /g SV)	PBM_{DQO} (mL CH_4 /g SV)	IB de CH_4 (%)	Error (%)	Factor de corrección
Blanco	392.60	734.44	53.45	-87.10	0.53
NPsG ₃₀	399.63		54.41	-83.78	0.54
NPsG ₅₀	404.45		55.10	-81.59	0.55
NPsG ₁₀₀	426.67		58.10	-72.14	0.58
PCG ₃₀	442.60		60.26	-65.94	0.60
PCG ₅₀	469.26		63.90	-56.51	0.63
PCG ₁₀₀	430.10		58.54	-70.80	0.58

De igual manera, en la Tabla 3.13 se muestra el potencial bioquímico mediante la composición de DQO por valor teórico, se observa que es relativamente alto debido a los parámetros que se tomaron en cuenta para el cálculo (Nielfa *et al.*, 2015). Los valores obtenidos del potencial bioquímico experimental son cercanos al teórico, sin embargo, el error es considerablemente alto considerando que la PBM_{DQO} aumenta. Teniendo lo anterior en cuenta, se observa una mejor capacidad de producción de

metano por g de SV por parte de la biopelícula con PCG (valor máximo de 469.25 mL CH₄/gSV) y NP₅G (valor máximo de 426.67 mL CH₄/gSV) en concentraciones altas. Cabe mencionar que la concentración alta de PCG de 1 mg/mL tuvo un menor PBM_{Exp} debido a que es posible una inhibición si se dosifica en mayores cantidades. Sin embargo, el resto de las concentraciones reaccionaron de manera eficiente, esto es debido a que se estimula la digestión anaerobia acelerando la etapa de hidrólisis y la etapa de acidificación para mejorar la producción o rendimiento de metano mediante una fuerte capacidad de degradación de biomasa a través de la transferencia directa de electrones entre especies por parte de las bacterias y arqueas metanogénicas.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación, la síntesis de nanomateriales como nanoplaquetas de grafeno es de gran impacto al medio ambiente de forma positiva debido al proceso físico realizado, además de presentar un rendimiento alto (90.5 %). De igual manera, la síntesis de los PCG con el solvente orgánico (DMF) se obtuvo un resultado favorable en cuanto a rendimiento (67.7%) comparado con otros autores. Cabe mencionar que los nanomateriales obtenidos son de buena calidad, pues en la caracterización de los mismos no presentaron grupos funcionales (Carbonilos, epoxi, hidrogenados, etc.) fuera de los establecidos en bibliografía. Es importante mencionar que en la caracterización del sustrato se obtuvieron valores de 36.78 y 54.13 gDQO_T/L, siendo altamente optimo por su alto contenido de materia orgánica (1.55 Y 2.42 % de ST).

Por otro lado, en la etapa de formación de la biopelícula anaerobia se mostró un comportamiento con disturbios en las remociones de DQO, ST y STV en los primeros días de monitoreo debido a la estabilización y comportamiento de los nanomateriales con el consorcio microbiano. La biopelícula anaerobia desarrollada en la tercera etapa mostró una gran capacidad de adaptación al sustrato obteniendo remociones de DQO de 51.42% de DQO_T y 39.68% de DQO_S en un menor tiempo comparado con la primera etapa. Los resultados de las remociones son un indicativo de que las bacterias interactuaron de manera adecuada con el nanomaterial facilitando la transferencia de electrones entre especies ayudando a la degradación de las proteínas por los microorganismos en la etapa de hidrolisis y acidogénesis.

El análisis de la biopelícula mediante SEM indicó la presencia de los consorcios de bacterias y arqueas en el soporte inerte (Nailon) y su interacción con el nanomaterial fijado en dicho soporte. De igual manera el contenido de biomasa desarrollada en las fibras de nailon varió dependiendo de la cantidad de nanomaterial fijado en la fibra. Las concentraciones que obtuvieron mayor cantidad de biomasa fueron las concentraciones con 1 mg/mL (100 mg/ 100 mL) de PCG y NP_SG. Cabe resaltar que

los valores tienen relación con la producción de metano en las pruebas de potencial bioquímico, pues en las pruebas se obtuvieron resultados que variaron conforme la biopelícula presentaba mayores concentraciones de PCG y NP_sG. Los resultados que destacaron en esa sección fueron 116 NmL y 126.7 NmL, mientras que para la biopelícula que no tiene ningún tipo de nanomaterial solo tuvo una producción de 60 mL de biometano. Por lo tanto, se asume que la adición de los nanomateriales estimuló al proceso biológico para producir metano mediante la transferencia directa de electrones entre especies, lo que mejoró las etapas limitantes en la digestión anaerobia (Hidrolisis y acidogénesis). De igual manera, los rendimientos de metano en el sistema anaerobio son óptimos cuando se agrega nanomaterial grafénico.

El potencial bioquímico teórico sirvió como referencia para ver hasta qué punto se puede generar metano por gramo de SV, y ver qué tan viable es la FL como sustrato. El resultado teórico obtenido se comparó con los experimentales, dando como resultado un comportamiento adecuado por parte de la biopelícula con nanomaterial para degradar la materia orgánica y producir metano por gramo de SV. La biopelícula con PCG₅₀ presentó mayores valores tanto de remoción, generación de biogás y metano debido a la funcionalización que presenta su estructura molecular, por lo tanto, tienen mayor adaptabilidad y compatibilidad con sistemas biológicos en comparación con la biopelícula sin NP_sG que poseen propiedades distintivas, pero no es potencialmente biológica si se comparan entre sí. Sin embargo, la biopelícula NP_sG tiene la propiedad de producir metano en mayor porcentaje dentro del total de biogás. Por último, las producciones de metano y biogás son proporcionales a las cantidades de nanomaterial en el soporte con biopelícula anaerobia, por lo tanto, la biopelícula anaerobia con nanoplaquetas y puntos cuánticos de grafeno son una propuesta viable para mejorar el proceso de la digestión anaerobia.

RECOMENDACIONES

Es necesario realizar un análisis y estudio detallado del tipo de bacterias y arqueas presentes en la biopelícula bacteriana con los distintos nanomateriales empleados con la finalidad de identificar la frecuencia de las comunidades microbianas propias de la transferencia de electrones entre especies. Este análisis se puede llevarse a cabo mediante secuenciación genética shotgun, 16s RNA, entre otros.

En la parte de generación de biopelícula, se recomienda realizar el monitoreo durante periodos más largos hasta llegar a un periodo de estabilización continua.

Se recomienda realizar modelización cinética en la parte del potencial bioquímico de metano, con la finalidad de comparar los datos cinéticos experimentales y los teóricos mediante el modelo de Gompertz modificado.

Es importante realizar un monitoreo de los compuestos intermedios o metabolitos que se generan en la digestión anaerobia, tales como el propionato y butirato debido al balance estequimétrico para obtener acetato, formiato e hidrogeno que son usados por las arqueas para generar metano.

Es conveniente llevar a cabo un diseño experimental, ya sea un diseño factorial o un diseño box Behnken en donde se tomen en cuenta variables como la concentración de nanomaterial, relación C/N, TRH y concentración de DQO del sustrato.

Por último, se recomienda utilizar un equipo de cromatografía de gases para determinar el contenido de metano en el biogás producido por la acción de la biopelícula. Las trampas con hidróxido de sodio son una buena opción, sin embargo, carece de certidumbre en la comunidad científica y validación por los mismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A., Tabish, T. A., Bull, S. J., Lim, T. M. y Phan, A. N. 2020. High yield synthesis of graphene quantum dots from biomass waste as a highly selective probe for Fe³⁺ sensing. *Scientific reports*, 10(1), 21262.

Aguilera Huertas, J. A. 2020. Puntos cuánticos de grafeno: síntesis y caracterización. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 304-316.

Ahirwar, S., Mallick, S. y Bahadur, D. 2017. Electrochemical method to prepare graphene quantum dots and graphene oxide quantum dots. *ACS omega*, 2(11), 8343-8353.

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

Alawi, O. A., Kamar, H. M., Mallah, A. R., Mohammed, H. A., Sabrudin, M. A. S., Hussein, O. A. y Najafi, G. 2021. Graphene nanoplatelets suspended in different basefluids based solar collector: An experimental and analytical study. *Processes*, 9(2), 302.

Alfaro, A. E. G. 2016. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de afluentes y efluentes líquidos de un biodigestor alimentado con residuos agrícolas. *Revista joven en la ciencia*.

Amiri, A., Zubir, M. N. M., Dimiev, A. M., Teng, K. H., Shanbedi, M., Kazi, S. N. y Rozali, S. B. (2017). Facile, environmentally friendly, cost effective and scalable production of few-layered graphene. *Chemical Engineering Journal*, 326, 1105-1115.

Arif, S., Liaquat, R. y Adil, M. 2018. Applications of materials as additives in anaerobic digestion technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 97, 354-366.

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

Barrena, R. Moral-Vico J. Font, X. y Sánchez A. 2022. Enhancement of anaerobic digestion with nanomaterials: A mini review. *Energies*, 15(14), 5087.

Cárdenas-Cleves, L. M., Parra-Orobio, B. A., Torres-Lozada, P. y Vásquez-Franco, C. H. 2016. Perspectives of biochemical methane potential-BMP test for control the anaerobic digestion process of wastes. *Revista Ion*, 29(1), 95-108.

Carey, F. A. 2003. Espectroscopia. En *Química Organica* (págs. 528-560). México, DF.: McGrawHill..

Casallas-Ojeda, M. R., Marmolejo-Rebellón, L. F. y Torres-Lozada, P. 2020. Evaluation of simultaneous incidence of head space and temperature on biochemical methane potential in food waste. *Cogent Engineering*, 7(1), 1729514.

Castro, F. I. G., González-Guerra, G. M., del Pilar Restrepo-Elorza, M., Montiel-Carrillo, A. P., Álvarez-Rivera, K. Y., Linares-Luna, R. G. y Hernández, S. 2022. Residuos de frutas y vegetales como materias primas para la producción de biocombustibles: potencial en el estado de Guanajuato. *Digital Ciencia@ UAQRO*, 5(8), 8-19.

Cataldi, P., Athanassiou, A. y Bayer, I. S. 2018. Graphene nanoplatelets-based advanced materials and recent progress in sustainable applications. *Applied Sciences*, 8(9), 1438.

Chen, H. Q., Zou, L., Wei, D. Y., Zheng, L. L., Wu, Y. F., Zhang, H. y Li, J. F. 2022. In situ studies of energy-related electrochemical reactions using Raman and X-ray absorption spectroscopy. *Chinese Journal of Catalysis*, 43(1), 33-46.

Chiappero, M., Norouzi, O., Hu, M., Demichelis, F., Berruti, F., Di Maria, F. y Fiore, S. 2020. Review of biochar role as additive in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 131, 110037.

Chioti, A. G., Tsioni, V., Patsatzis, S., Filidou, E., Banti, D., Samaras, P. y Sfetsas, T. 2022. Characterization of Biofilm Microbiome Formation Developed on Novel 3D-Printed Zeolite Biocarriers during Aerobic and Anaerobic Digestion Processes. *Fermentation*, 8(12), 746.

Claes, A., Melchi, L., Uludag-Demirer, S. y Demirer, G. N. 2021. Supplementation of carbon-based conductive materials and trace metals to improve biogas production from apple pomace. *Sustainability*, 13(17), 9488.

De la Luz-Asunción, M., Pérez-Ramírez, E. E., Martínez-Hernández, A. L., García-Casillas, P. E., Luna-Bárcenas, J. G. y Velasco-Santos, C. 2020. Adsorption and kinetic study of Reactive Red 2 dye onto graphene oxides and graphene quantum dots. *Diamond and Related Materials*, 109, 108002.

De la Luz-Asunción, M., Pérez-Ramírez, E. E., Martínez-Hernández, A. L., García-Casillas, P. E., Luna-Bárcenas, J. G. y Velasco-Santos, C. 2020. Adsorption and kinetic study of Reactive Red 2 dye onto graphene oxides and graphene quantum dots. *Diamond and Related Materials*, 109, 108002.

Demirel, B. 2016. The impacts of engineered nanomaterials (ENMs) on anaerobic digestion processes. *Process Biochemistry*, 51(2), 308-313.

Dong, B., Xia, Z., Sun, J., Dai, X., Chen, X. y Ni, B. J. 2019. The inhibitory impacts of nano-graphene oxide on methane production from waste activated sludge in anaerobic digestion. *Science of the Total Environment*, 646, 1376-1384.

Eduardo de Robertis y Jose Hlb. 2004. Los métodos de estudio en biología celular. En *Fundamentos de biología celular y molecular de de Robertis* (págs. 401- 410). Buenos Aires: El Atenco.

Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V. H., Catarino, S. O. y Minas, G. 2022. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy to analyse human blood over the last 20 years: a review towards lab-on-a-chip devices. *Micromachines*, 13(2), 187.

Filer, J., Ding, H. H. y Chang, S. 2019. Biochemical methane potential (BMP) assay method for anaerobic digestion research. *Water*, 11(5), 921.

Hafner, S. D., Astals, S., Holliger, C., Koch, K. y Weinrich, S. 2020. Calculation of Biochemical Methane Potential (BMP). *Standard BMP Methods Document*, 200.

Hans, M. y Kumar, S. 2019. Biohythane production in two-stage anaerobic digestion system. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(32), 17363-17380.

Hao, Y., Wang, Y., Ma, C., White, J. C., Zhao, Z., Duan, C. y Xing, B. 2019. Carbon nanomaterials induce residue degradation and increase methane production from livestock manure in an anaerobic digestion system. *Journal of Cleaner Production*, 240, 118257.

Henna, T. K. y Pramod, K. 2020. Graphene quantum dots redefine nanobiomedicine. *Materials Science and Engineering*: 110, 110651.

Hijazi, O., Abdelsalam, E., Samer, M., Attia, Y. A., Amer, B. M. A., Amer, M. A. y Bernhardt, H. 2020. Life cycle assessment of the use of nanomaterials in biogas production from anaerobic digestion of manure. *Renewable Energy*, 148, 417-424.

Jain, S., Jain, S., Wolf, I. T., Lee, J. y Tong, Y. W. 2015. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 142-154.

Jiménez-Suárez, A. y Prolongo, S. G. 2020. Graphene nanoplatelets. *Applied Sciences*, 10(5), 1753.

Karmakar, N. K., Pandey, S., Pandey, R. K. y Shukla, S. S. 2021. Solvatochromism: a tool for solvent discretion for UV-Vis spectroscopic studies. *Applied Spectroscopy Reviews*, 56(6), 513-529.

Kaushal, R. y Baitha, R. 2021. Biogas and methane yield enhancement using graphene oxide nanoparticles and Ca (OH)₂ pre-treatment in anaerobic digestion. *International Journal of Ambient Energy*, 42(6), 618-625.

König, R., Cuomo, M., Pianta, E., Buetti, A., Mauri, F., Tanadini, M. y Principi, P. 2022. Addition of conductive materials to support syntrophic microorganisms in anaerobic digestion. *Fermentation*, 8(8), 354.

Kumar, S. S., Ghosh, P., Kataria, N., Kumar, D., Thakur, S., Pathania, D. y Singh, L. 2021. The role of conductive nanoparticles in anaerobic digestion: Mechanism, current status and future perspectives. *Chemosphere*, 280, 130601.

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

Li, Y., Ma, C., Ma, J., Guo, W., Liu, Y., Jing, Z. y Xu, Q. 2021. Promoting potential direct interspecies electron transfer (DIET) and methanogenesis with nitrogen and zinc doped carbon quantum dots. *Journal of Hazardous Materials*, 410, 124886.

Lin, R., Cheng, J., Zhang, J., Zhou, J., Cen, K. y Murphy, J. D. 2017. Boosting biomethane yield and production rate with graphene: The potential of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 239, 345-352.

Manorathne, C. H., Rosa, S. R. D., y Kottegoda, I. R. M. 2017. XRD-HTA, UV visible, FTIR and SEM interpretation of reduced graphene oxide synthesized from high purity vein graphite. *Mater. Sci. Res. India*, 14(1), 19-30

Martínez-Hernández, S. y Alvarado-Lassman, A. 2021. Batch and semicontinuous anaerobic digestion of industrial solid citrus waste for the production of bioenergy. *Processes*, 9(4), 648.

Muñiz-López, H. S., Uresti-Marín, R. M. y Castañón-Rodríguez, J. F. 2021. Uso de las tecnologías de la información y la comunicación como estrategia para reducir el desperdicio de frutas y verduras. *CienciaUAT*, 16(1), 178-195.

Muratçobanoğlu, H., Gökçek, Ö. B., Mert, R. A., Zan, R. y Demirel, S. 2021. The impact of reduced graphene oxide (rGO) supplementation on cattle manure anaerobic digestion: Focusing on process performance and microbial syntrophy. *Biochemical Engineering Journal*, 173, 108080.

Nielfa, A., Cano, R. y Fdz-Polanco, M. 2015. Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge. *Biotechnology Reports*, 5, 14-21.

Orduña-Gaytán, F., Alvarado-Lassman, A., Vallejo-Cantú, N., Alvarado-Vallejo, A., y Sandoval-Herazo, L. C. 2021. Tratamiento híbrido (Biorreactor AnaerobioHumedal Construido) para el manejo sustentable de aguas residuales de la industria azucarera. *Rinderesu*, 5(2).

Orduña-Gaytán, F., Vallejo-Cantú, N. A., Alvarado-Vallejo, A., Rosas-Mendoza, E. S., Sandoval-Herazo, L. C. y Alvarado-Lassman, A. 2022. Evaluation of the Removal of Organic Matter and Nutrients in the Co-Treatment of Fruit and Vegetable Waste Using a Bioreactor-Constructed Wetlands System. *Processes*, 10(2), 278.

Ortiz-Francisco, R. A. 2022. Síntesis y caracterización morfológica y electroquímica de puntos cuánticos de grafeno (Bachelor's thesis, Quito: EPN, 2022.).

Parvinzadeh, M., & Ebrahimi, I. 2011. Influence of atmospheric-air plasma on the coating of a nonionic lubricating agent on polyester fiber. *Radiation Effects & Defects in Solids*, 166(6), 408-416.

Passos, M. L. y Saraiva, M. L. M. 2019. Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement*, 135, 896-904.

Pei, S. y Cheng, H. M. 2012. The reduction of graphene oxide. *Carbon*, 50(9), 3210-3228.

Pérez-Ramírez, E. E., Ramos-Galicia, L., de la Luz-Asunción, M., Saucedo-Rivalcoba, V., Martínez-Hernández, A. L., Rubio-Rosas, E. y Velasco-Santos, C. 2022. A Green and Easy Large Scale Method for Obtaining Graphene Nanoplatelets by Steam Explosion and Ultrasonic Exfoliation. *ChemistrySelect*, 7:33.

Pramanik, S. K., Suja, F. B., Zain, S. M. y Pramanik, B. K. 2019. The anaerobic digestion process of biogas production from food waste: Prospects and constraints. *Bioresource Technology Reports*, 8, 100310.

Rajender, G., Choudhury, B. y Giri, PK 2017. Decoración in situ de nanopartículas plasmónicas de Au sobre híbridos de nitruro de carbono grafítico-puntos cuánticos de grafeno y evaluación de su rendimiento fotocatalítico en luz visible. *Nanotecnología*, 28(39), 395703.

Rajendran, K., Mahapatra, D., Venkatraman, A. V., Muthuswamy, S. y Pugazhendhi, A. 2020. Advancing anaerobic digestion through two-stage processes: Current developments and future trends. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 123, 109746.

Rodríguez Sartori, D. E. 2020. Impacto de las sustancias húmicas, especies reactivas y la radiación solar sobre las propiedades físicas y químicas de nanomateriales y su interacción con biofilms . Universidad Nacional de La Plata: Doctoral dissertation.

Rodríguez Silverio, L. 2014. Evaluación de la producción de metano a partir de cachaza por hidrólisis térmica y codigestión con vinaza. Doctoral dissertation, Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas.

- Rosas-Mendoza, E. S., Alvarado-Vallejo, A., Vallejo-Cantú, N. A., Snell-Castro, R., Salgado Arreguín, A. M., Vallejo Cantú, N. A. y Alvarado Lassman, A. 2022. Estudio de la digestión anaerobia del sargazo (*Sargassum* spp.), como una fuente potencial de producción de un bioenergético. Doctoral dissertation.
- Sánchez-Reyes, C., Patiño-Iglesias, M. E., Alcántara-Flores, J. L., Reyes-Ortega, Y., Pérez-Cruz, M. A. y Ortiz-Muñoz, E. 2016. Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 32(2), 191-198.
- Shahriary, L. y Athawale, A. A. 2014. Graphene oxide synthesized by using modified hummers approach. *Int. J. Renew. Energy Environ. Eng*, 2(01), 58-63.
- Shin, Y., Lee, J., Yang, J., Park, J., Lee, K., Kim, S. y Lee, H. 2014. Mass production of graphene quantum dots by one-pot synthesis directly from graphite in high yield. *Small*, 10(5), 866-870.
- Strömberg, S., Nistor, M. y Liu, J. 2014. Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. *Waste management*, 34(11), 1939-1948.
- Taran, M., Safaei, M., Karimi, N. y Almasi, A. 2021. Benefits and application of nanotechnology in environmental science: an overview. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(1), 7860-7870.
- Tian, T., Qiao, S., Li, X., Zhang, M. y Zhou, J. 2017. Nano-graphene induced positive effects on methanogenesis in anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 224, 41-47.
- Üveges, Z., Damak, M., Klátyik, S., Ramay, M. W., Fekete, G., Varga, Z. y Aleksza, L. 2023. Biomethane Potential in Anaerobic Biodegradation of Commercial Bioplastic Materials. *Fermentation*, 9(3), 261.

Wang, P., Zheng, Y., Lin, P., Li, J., Dong, H., Yu, H. y Ren, L. 2021. Effects of graphite, graphene, and graphene oxide on the anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste: Attention to methane production and the fate of antibiotic resistance genes. *Bioresource Technology*, 339, 125585.

Yadav, P. K., Chandra, S., Kumar, V., Kumar, D. y Hasan, S. H. 2023. Carbon Quantum Dots: Synthesis, Structure, Properties, and Catalytic Applications for Organic Synthesis. *Catalysts*, 13(2): 422.

Yasim, N. S. E. M. y Buyong, F. 2023. Comparative of experimental and theoretical biochemical methane potential generated by municipal solid waste. *Environmental Advances*, 11, 100345.

Ying, Y., He, P., Ding, G. y Peng, X. 2016. Ultrafast adsorption and selective desorption of aqueous aromatic dyes by graphene sheets modified by graphene quantum dots. *Nanotechnology*, 27(24), 245703.

Yu, W., Sisi, L., Haiyan, Y. y Jie, L. 2020. Progress in the functional modification of graphene/graphene oxide: A review. *RSC advances*, 10(26), 15328-15345.

Zainab, A., Meraj, S. y Liaquat, R. 2020. Study on natural organic materials as biofilm carriers for the optimization of anaerobic digestion. *Waste and biomass valorization*, 11, 2521-2531.

Zamri, M. F. M. A., Hasmady, S., Akhiar, A., Ideris, F., Shamsuddin, A. H., Mofijur, M. y Mahlia, T. M. I. 2021. A comprehensive review on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 137, 110637.

Zhao, D., Yan, B., Liu, C., Yao, B., Luo, L., Yang, Y. y Zhou, Y. 2021. Mitigation of acidogenic product inhibition and elevated mass transfer by biochar during anaerobic digestion of food waste. *Bioresource Technology*, 338, 125531.

Zia, M., Ahmed, S. y Kumar, A. 2022. Anaerobic digestion (AD) of fruit and vegetable market waste (FVMW): potential of FVMW, bioreactor performance, co-substrates, and pre-treatment techniques. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(8), 3573-3592.