

# UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental



*Una Institución Adventista*

## **Biocarbón de estiércol bovino como aditivo sostenible para el mejoramiento de la digestión anaeróbica de lactosuero**

Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

### **Por:**

Mery Yulissa Huaraya Huahualuque

Thania Crisbeth Sancho Moya

### **Asesor:**

MSc. Rose Adeline Callata Chura

**Juliaca, noviembre de 2022**

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA DEL INFORME DE TESIS

Rose Adeline Callata Chura, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, de la Universidad Peruana Unión.

### DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: **“BIOCARBÓN DE ESTIÉRCOL BOVINO COMO ADITIVO SOSTENIBLE PARA EL MEJORAMIENTO DE LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE LACTOSUERO”** constituye la memoria que presenta las Bachilleres **MERY YULISSA HUARAYA HUAHUALUQUE y THANIA CRISBETH SANCHO MOYA** para obtener el título de Profesional de Ingeniero Ambiental, cuya tesis ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

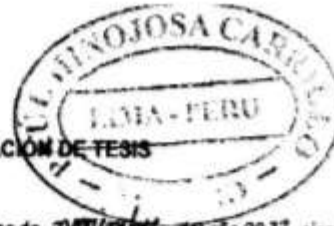
Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente declaración en Juliaca, a los 30 días del mes de noviembre del año 2022



---

MSc, Rose Adeline Callata  
Chura  
Asesor



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Puno, Juliaca, Villa Chullunquiari, a 09 día(s) del mes de enero del año 2022, siendo las 15:00 horas, se reunieron en el Salón de Grados y Títulos de la Universidad Peruana Unión, Filial Juliaca, bajo la dirección del Señor Presidente del jurado: Ing. Enrique Mamani Luella, el secretario: Mtro. Juan Eduardo Vigo Rivera y los demás miembros: Dr. Mateo Alejandro Salinas Mesa y el asesor: Msc. Rose Adeline Gallata Lhura

con el propósito de administrar el acto académico de sustentación de la tesis titulada: Biocarbón de estiércol bovino como aditivo sostenible para el mejoramiento de la digestión anaeróbica de lactosuero

de el(los)/la(las) bachiller(es): a) Ehonia Cristheth Sancho Moya  
 b) Mery Yulissa Huaraya Huahualague  
 conducente a la obtención del título profesional de Ingeniero Ambiental  
 (Nombre del Título Profesional)

con mención en.....

El Presidente inició el acto académico de sustentación invitando al (los)/a(la)(las) candidato(a)s hacer uso del tiempo determinado para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente invitó a los demás miembros del jurado a efectuar las preguntas, y aclaraciones pertinentes, las cuales fueron absueltas por el(los)/a(la)(las) candidato(a)s. Luego, se produjo un receso para las deliberaciones y la emisión del dictamen del jurado.

Posteriormente, el jurado procedió a dejar constancia escrita sobre la evaluación en la presente acta, con el dictamen siguiente:

Candidato (a): Ehonia Cristheth Sancho Moya

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
<u>Aprobado</u>	<u>17</u>	<u>B+</u>	<u>Muy Bueno</u>	<u>Sobresaliente</u>

Candidato (b): Mery Yulissa Huaraya Huahualague

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
<u>Aprobado</u>	<u>17</u>	<u>B+</u>	<u>Muy Bueno</u>	<u>Sobresaliente</u>

(\*) Ver parte posterior

Finalmente, el Presidente del jurado invitó al(los)/a(la)(las) candidato(a)s a ponerse de pie, para recibir la evaluación final y concluir el acto académico de sustentación procediéndose a registrar las firmas respectivas.

[Firma]  
Presidente  
[Firma]  
Asesor  
[Firma]  
Candidato/a (a)

[Firma]  
Miembro

[Firma]  
Secretario  
[Firma]  
Miembro  
[Firma]  
Candidato/a (b)

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	vii
RESUMEN .....	viii
1. INTRODUCCIÓN .....	10
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
1.1. Descripción del estudio de caso .....	12
1.2. Preparación y caracterización del biocarbón .....	13
1.3. Diseño experimental y montaje .....	14
1.4. Modelo cinético .....	16
1.5. Potencial energético de la DA del SP .....	17
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	18
3.1. Propiedades del biocarbón procedente de la pirolisis del estiércol de bovino .....	18
3.2. Efecto de la adición de biocarbón en la DA del SP .....	19
3.3. Efecto de las características fisicoquímicas del biocarbón en el proceso .....	21
3.4. Influencia del biocarbón en la estabilidad del proceso de DA .....	23
3.5. Modelo cinético .....	24
3.6. Beneficios energéticos del estudio de caso .....	26
4. CONCLUSIÓN .....	26
5. BIBLIOGRAFÍA .....	27
6. FIGURAS Y TABLAS .....	36
7. ANEXOS .....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica del sustrato e inóculo. ....	36
Tabla 2. Caracterización del biocarbón de estiércol bovino. ....	36
Tabla 3. Capacidad tampón (AGV/AT; mg CH <sub>3</sub> COOH mg <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> ), ácidos grasos volátiles (AGV, mg CH <sub>3</sub> COOH L <sup>-1</sup> ) y pH (-) en la digestión anaeróbica del suero de queso mediante la adición de biocarbón de bovino (gbiocarbón g <sup>-1</sup> SVsustrato). ....	37
Tabla 4. Parámetros ajustados al modelo Gompertz modificado y al modelo de función bi-logística en la digestión anaeróbica del suero de queso mediante la adición de biocarbón de bovino. ....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Potencial bioquímico de metano del suero de queso con la adición de biocarbón de bovino: a) rendimiento diario de biogás, b) contenido de metano, y c) rendimiento de metano acumulado.....	38
<i>Figura 2.</i> Modelización cinética de la digestión anaeróbica del suero de queso puro mediante la adición de biocarbón de bovino a diferentes concentraciones: a) modelo gompertz modificado, y b) modelo de función bi-logística.....	39

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Evidencia de sumisión .....	40
--------------------------------------	----

## **Biocarbón de estiércol bovino como aditivo sostenible para el mejoramiento de la digestión anaeróbica de lactosuero**

### **RESUMEN**

La industria quesera genera suero de queso puro (SP) y estiércol bovino, los cuales tienen un alto contenido de materia orgánica que, cuando se elimina directamente en el medio ambiente, podría generar graves problemas ambientales. La digestión anaeróbica (DA) del suero de queso proporciona una vía de valorización sostenible para la producción de bioenergía. Sin embargo, la DA se ve inhibida por el manejo directo del SP ( $163,1 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{añadido}}$ ). Una forma de evitar fallos en el proceso de la DA es la adición de biocarbón. Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo evaluar el efecto del biocarbón de estiércol de bovino en la producción de metano del SP mediante ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM). Se evaluaron diferentes concentraciones de biocarbón ( $0\text{-}2 \text{ g}_{\text{biocarbón}} \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{sustrato}}$ ). El PBM del SP con  $2 \text{ g}_{\text{biocarbón}} \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{sustrato}}$  fue de  $358,4 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{añadido}}$ . El biocarbón de estiércol bovino contribuyó a la estabilidad del proceso de DA. Los resultados demuestran viabilidad energética y económica del tratamiento de residuos con las características del SP utilizando aditivos como el biocarbón de estiércol bovino.

**Palabras clave:** Digestión anaeróbica, Biocarbón de estiércol de bovino; Suero de queso; Producción Bioquímica de Metano; Crecimiento diáuxico.

## **Biochar from bovine manure as a sustainable additive to improve the anaerobic digestion of cheese whey**

### **ABSTRACT**

The cheese industry generates pure cheese whey (CWP) and bovine manure, which have high organic matter contents that, when disposed directly into the environment, can create severe environmental challenges. These impacts can be counteracted by anaerobic digestion (AD); however, the direct AD of CWP is inhibited ( $163.1 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ VS}_{\text{add}}$ ). One way to avoid the inhibition of AD is to add biochar. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of bovine manure biochar ( $0\text{--}2 \text{ g}_{\text{biochar}} \text{ g}^{-1} \text{ VS}_{\text{substrate}}$ ) on CWP methane production by testing the biochemical methane potential (BMP) of the CWP. The BMP of the CWP with  $2 \text{ g}_{\text{biochar}} \text{ g}^{-1} \text{ VS}_{\text{substrate}}$  was  $358.4 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ VS}_{\text{add}}$ . Bovine manure biochar was found to contribute to the stability of the AD process. The findings of our study demonstrate the energetic and economic viability of treating waste that possess characteristics like those of CWP using additives, such as biochar from bovine manure.

**Keywords:** Anaerobic digestion; Bovine manure biochar; Cheese whey; Biochemical methane production; Diauxic growth.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los países en desarrollo, el modelo económico lineal de la industria de producción de queso genera diversos efluentes, uno de los principales es el suero de queso (SL) (Papirio et al., 2020). SL representa aproximadamente entre el 85 y el 95% de la leche utilizada en el proceso de elaboración del queso; este puede ser de tres tipos: suero de queso puro (SP), acuoso (SA) y salado (SS). El SL se considera el efluente más contaminante producido por la industria quesera debido a su alta carga orgánica, con grandes cantidades de sólidos volátiles (SV) ( $45\text{--}65\text{ g kg}^{-1}$ ) (Mostafa Imeni et al., 2019) y alta demanda química de oxígeno (DQO) ( $50\text{ y }102\text{ g/L}$ ) (Mainardis et al., 2019).

En Puno, región ubicada al sur del Perú, existe una zona en la que se concentran 1311 pequeños y medianos productores ganaderos (MIDAGRI, 2021).

En una planta típica productora de queso en Puno, del 100 % de la leche cruda que ingresa al proceso, se genera el 50 %, 25 %, y 10 % de SP, SA y SS, respectivamente. Los pequeños y medianos los productores utilizan estos subproductos para alimentar a los animales, o como en la mayoría de los casos disponen de los subproductos directamente en sus entornos circundantes. Esto indica que los pequeños y medianos productores de queso no tienen suficientes recursos financieros para invertir en tecnologías y alternativas económicas para el tratamiento de SP.

La digestión anaeróbica (DA) es un método de bajo costo y fácil de implementar que puede reducir la alta carga orgánica de SP y generar subproductos de valor agregado, como biogás y biofertilizantes. Sin embargo, el SP contiene altas concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV), estas altas concentraciones de AGV se producen durante la acidogénesis descontrolada de la lactosa, esto puede conducir a una disminución en el rendimiento de metano de SP y su posterior inhibición de SP en la DA (Charalambous et al., 2020). Para

minimizar tales limitaciones, recientemente los estudios han comenzado a centrarse en suplementar con aditivos al sistema de digestión, como enzimas, nutrientes y soportes para la adhesión de microorganismos (Abbas et al., 2021). La adición de estos suplementos permite un aumento en la producción de biogás y una degradación más significativa de la materia orgánica (Chiappero et al., 2020).

En particular, por sus comprobadas mejoras en la producción de metano, destaca en este sentido la adición de carbón de base biológica o biocarbón (Qin et al., 2020). El biocarbón como aditivo es un material rentable que mejora la eficiencia del proceso de DA debido a sus propiedades físicas, como su gran área superficial y alta porosidad, y propiedades químicas, como la presencia de grupos funcionales y su bioestabilidad (Abbas et al., 2021). Pan et al. (2019) investigaron los efectos de diferentes biocarbones en la DA del estiércol de pollo y descubrió que aumentaba la producción de metano hasta en un 69 %. Sugiarto et al. (2021) reportaron un aumento en la producción de metano del 46,9 % con la adición de biocarbón a la DA de los residuos de alimentos. Este aumento en la producción de metano al agregar biocarbón puede deberse a la capacidad del biocarbón para aumentar la capacidad amortiguadora del sistema, evitando así la acumulación de AGV o inhibidores tóxicos, como amonio, metales y pesticidas (Tang et al., 2020).

Qin et al. (2020) afirman que la materia prima utilizada para obtener biocarbón influye en la capacidad del biocarbón para mejorar la DA. El biocarbón derivado del estiércol de ganado es una opción atractiva por su bajo costo y facilidad de acceso, Jang et al. (2018) evaluaron los efectos del biocarbón derivado del estiércol lácteo en la DA del estiércol lácteo bajo diferentes condiciones de temperatura. La adición de biocarbón permitió que la concentración de AGV fuera baja y mejoró la producción de metano entre un 24,69 % y un 35,71 %. Esto se debe a los nutrientes y la alcalinidad del biocarbón. A pesar de los

prometedores resultados obtenidos en estos estudios, hasta donde sabemos, no existen informes sobre el uso de biocarbón en la DA de SP y su efecto en la cinética del proceso.

Nuestro estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones de biocarbón de estiércol bovino en la producción de metano de SP mediante pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM). Realizamos un estudio de caso de una fábrica de quesos en Puno, Perú para este propósito. En esta región, es probable que la adición de biocarbón de estiércol bovino a la DA del estiércol bovino y SP sea eficaz, ya que el estiércol bovino y SP se generan a partir de la misma cadena de producción. No obstante, los resultados obtenidos podrían brindar soluciones ambientales y energéticas para la industria láctea a nivel mundial. Los hallazgos de nuestro estudio brindan nuevos conocimientos sobre el papel del biocarbón en la mejora del proceso SP DA, lo que podría ser beneficioso para los intentos de reducción de la contaminación y recuperación de energía.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1.1. Descripción del estudio de caso**

Las materias primas utilizadas para el estudio fueron el SP de queso y el estiércol bovino. El sustrato utilizado para la DA fue el SP recogido en una fábrica de quesos del distrito de Ayaviri, en el departamento de Puno, Perú (14°52'33.5 "S, 70°31'49.0 "W). La fábrica procesa 1.200 L de leche al día y produce unos 168 kg de queso. El proceso de producción de queso consta de las siguientes etapas: filtración, pasteurización, cuajado, corte, primer desuerado, cocción, segundo desuerado, salado, pre-prensado, moldeado y prensado. El SP se extrae en el primer escurrido, que corresponde al 50% del peso de la leche que entra en el proceso. El SP se almacenó en contenedores de 5 L a una temperatura de 4 °C hasta su uso en los ensayos. Alrededor de la quesería se llevan a cabo actividades relacionadas con la cría de ganado de doble propósito, con 100 reses para ello. Diariamente se generan entre 20,5 y

34,6 kg de estiércol bovino por cabeza, dependiendo del clima, el consumo de agua, el tipo de dieta y la edad del ganado. Este residuo se elimina directamente en el suelo. La materia prima para producir biocarbón fue el estiércol bovino fresco.

## **1.2.Preparación y caracterización del biocarbón**

Esta investigación utilizó el método reportado por Jang et al. (2018) para producir biocarbón de estiércol bovino. Antes de la pirólisis, el estiércol de bovino fresco se secó en un horno FD023UL-120V (Binder) a 105 °C durante 24 h. La materia prima seca se pirolizó a 350 °C durante tres horas con una velocidad de calentamiento de mufla de 10 °C/min (PLF 110/6, Protherm). Tras este proceso, el biocarbón obtenido se trituró manualmente con un mortero y se tamizó con una malla de 250 µm para obtener partículas del mismo tamaño. El tamaño de los poros y el área superficial del biocarbón se determinaron mediante el método Brunauer Emmet Teller (BET) utilizando un analizador de superficie específica Gemini VII 2390 (Micromeritics Instruments Corporation). Con el método gravimétrico se obtuvo el contenido de cenizas utilizando una mufla FHX-05 (Daihan Scientific) y una balanza analítica de precisión SE2-F (Sartorius, Alemania). El pH se determinó mediante la técnica potenciométrica con un multiparámetro HI5521-01 (Hanna Instruments SL). Con un analizador elemental CHN628 (Leco) se midieron el C, H, O, N y S a partir de la oxidación completa e inmediata de la muestra por combustión con oxígeno. A continuación, un detector de conductividad térmica proporciona la señal de cada elemento traducida en un porcentaje de contenido. El contenido de metales (Fe, Ca y Mg) se midió con una espectroscopia de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) (ICP4300DV, Perkin Elmer) basada en la emisión espontánea de fotones de los átomos que han sido excitados por un plasma de argón a alta temperatura (6.800 K). La capacidad de intercambio catiónico (CEC) del biocarbón se determinó

mediante el método volumétrico (Lago et al., 2021). Finalmente, la conductividad eléctrica (CE) se determinó utilizando un multiparámetro HI5521-01 (Hanna Instruments SL).

### **1.3. Diseño experimental y montaje**

En este estudio se evaluó el efecto del biocarbón procedente de estiércol bovino en la DA del SP mediante ensayos de PMB, siguiendo la metodología propuesta por Holliger et al. (2016). Se utilizó como inóculo un lodo residual digerido extraído de una planta de tratamiento de aguas residuales en Cusco, Perú. El inóculo fue pre-incubado a 32°C durante cinco días para reducir la producción endógena de biogás. La tabla 1 muestra las características fisicoquímicas del SP y del inóculo. Los valores encontrados para el inóculo están dentro del rango que Holliger et al. (2016) recomiendan, indicando que el inóculo es de buena calidad para las pruebas de PBM.

La relación inóculo-sustrato (RIS) fue de 2 (basada en SV). Los ensayos se realizaron por triplicado en frascos de vidrio de 120 ml, con 60 ml de volumen operativo (60 ml de espacio de cabeza). Previamente, se realizó un ensayo de control positivo para el inóculo utilizando celulosa, obteniendo un PBM de 390 mL g<sup>-1</sup> SV<sub>añadido</sub>, que está dentro de los valores recomendados (Hafner et al., 2020). Se incluyó un blanco sin sustrato para medir la producción endógena de metano del inóculo. Las concentraciones de biocarbón evaluadas fueron: 0,0, 0,5, 1,0 y 2,0 g<sub>biocarbón</sub> g<sup>-1</sup> SV<sub>sustrato</sub> (Cimon et al., 2020). El biocarbón se añadió a la mezcla preparada de inóculo y sustrato, e inmediatamente después, el espacio de cabeza se gaseó con nitrógeno durante 30 seg. Los frascos se cerraron con un tapón de goma butílica, se sellaron con una tapa de aluminio para mantener las condiciones anaeróbicas y se incubaron a 35°C.

Los análisis se realizaron al inicio y final de la prueba de PBM. El contenido de ST y SV se determinaron calentando las muestras en un horno FD023UL-120V (Binder, Alemania) a

105 °C durante 24 h y luego en una mufla a 550 °C durante una hora, respectivamente (métodos 2540B y 2540C; APHA-AWWA-WEF, 2017). Para el pH, AGV y el AT, las muestras se centrifugaron a 5.000 rpm durante 30 minutos, y el sobrenadante se utilizó para el análisis. El valor del pH se midió con un multiparámetro HI5521-01 (Hanna Instruments SL). Los AGV y el AT se cuantificaron por el método titrimétrico, según Jobling et al. (2014). Los análisis se realizaron por triplicado.

El metano y el biogás producidos durante el ensayo se cuantificaron mediante el método basado en la densidad de gas (DG-PBM) (Justesen et al., 2019) y fueron ajustados a condiciones estándar (273,15 K y 100 kPa). El método DG-PBM consiste en medir la pérdida de masa de la botella y el volumen de biogás ventilado, lo que determina la densidad y la composición del biogás. La densidad del biogás ( $d_b$ , g mL<sup>-1</sup>) se calcula como la relación entre la pérdida de masa de la botella ( $\Delta m_b$ , g) y el volumen de biogás ( $V_b$ , mL), corregido por el contenido de vapor de agua venteadado ( $C_{H_2O}$ , g mL<sup>-1</sup>) (Ecuación (1)).

$$d_b = (\Delta m_b / V_b) - C_{H_2O} \quad (1)$$

La fracción molar del metano en el biogás ( $x_{CH_4}$ , Ecuación (2)) se calcula a partir de los pesos moleculares del dióxido de carbono ( $M_{CO_2}$ : 44,01 g mol<sup>-1</sup>), del metano ( $M_{CH_4}$ : 16,04 g mol<sup>-1</sup>), y del biogás ( $M_b = d_b * v_b$ , donde  $v_b$  es el volumen molar del biogás en condiciones estándar, que se supone es de 22.300 mL mol<sup>-1</sup>; Hafner et al., 2015):

$$x_{CH_4} = (M_{CO_2} - M_b) / (M_{CO_2} - M_{CH_4}) \quad (2)$$

La significancia estadística de los resultados experimentales se evaluó mediante un ANOVA de una vía con un nivel de confianza del 95% para considerar significativas las diferencias con un valor  $p < 0,05$ . El análisis estadístico se realizó con el software Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., USA).

#### 1.4. Modelo cinético

Los ensayos PBM para el SP con la adición de biocarbón de bovino se modelaron ajustando los datos experimentales de producción de metano con el modelo Gompertz modificado (Shamurad et al., 2020). La aplicación del modelo Gompertz modificado (Ecuación (3)) se basa en la suposición de que la producción de metano es una función del crecimiento bacteriano (Pan et al., 2016). El modelo se ha utilizado para determinar la fase de retardo o aclimatación del crecimiento por lotes (Syaichurrozi et al., 2013).

$$y(t) = y_{max} * \exp(-\exp((r * e / y_{max}) * (\lambda - t) + 1)) \quad (3)$$

Donde  $y(t)$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> SV<sub>añadidos</sub>) es la producción acumulada de metano en el tiempo  $t$  (días),  $y_{max}$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> VS<sub>añadido</sub>) es el rendimiento final de metano,  $r$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> SV<sub>añadido</sub> día<sup>-1</sup>) es la tasa máxima de producción de metano,  $e$  es la constante de Euler (2,718282), y  $\lambda$  (días) es el período de la fase de retardo. Los parámetros cinéticos de  $y_{max}$ ,  $r$  y  $\lambda$  se estimaron para cada uno de los ensayos mediante regresión no lineal. Se propuso el doble uso del modelo Gompertz modificado para predecir el rendimiento del proceso de DA debido al patrón de crecimiento diauxico obtenido experimentalmente en el presente estudio. En cambio, el modelo de función bi-logística (Opurum et al., 2021) también se utilizó para predecir la producción acumulada de metano. El modelo de función bi-logística (Ecuación (4)) se ha utilizado para sustratos de naturaleza altamente compleja y multicomponente, con dos o más fuentes de carbono (carbohidratos, lípidos, proteínas), que presentan una producción de biogás diauxica o bifásica (Pramanik et al., 2019).

$$y(t) = y_{max1} / (1 + \exp(2 + 4 r_1 (\lambda_1 - t) / y_{max1})) + (y_{max2} - y_{max1}) / (1 + \exp(2 + 4 r_2 (\lambda_2 - t) / (y_{max2} - y_{max1}))) \quad (4)$$

Donde  $y_{max1}$  (mL CH<sub>4</sub> g SV<sup>-1</sup><sub>añadido</sub>) es el máximo potencial de metano antes del segundo retraso,  $y_{max2}$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> VS<sub>añadido</sub>) es el máximo potencial de metano en la segunda fase,  $r_1$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> VS<sub>añadido</sub> día<sup>-1</sup>) es la tasa máxima de producción de metano antes del segundo

retardo,  $r_2$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> VS<sub>añadido</sub> día<sup>-1</sup>) es la tasa máxima de producción de metano en la segunda fase,  $\lambda_1$  (días) es el período de la primera fase de retardo, y  $\lambda_2$  (días) es el tiempo de la segunda fase de retardo. Los parámetros cinéticos de  $y_{max1}$ ,  $y_{max2}$ ,  $r_1$ ,  $r_2$ ,  $\lambda_1$ , y  $\lambda_2$  se estimaron mediante regresión no lineal.

Para determinar los parámetros numéricos de los modelos se utilizó el algoritmo de Levenberg-Marquard mediante el programa informático Statgraphics Centurion XVI. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el error medio absoluto (MAE) y el error relativo expresado en porcentaje ( $\Delta y_{max}$ ) fueron indicadores utilizados para describir la "el ajuste" entre el rendimiento de metano experimental y el rendimiento de metano predicho por los modelos.

#### 1.5. Potencial energético de la DA del SP

En este estudio, se determinó el potencial energético de la DA del SP con la adición de biocarbón. El potencial energético del bioproceso ( $\eta$ , J L<sup>-1</sup> SP tratado) se estableció como:

$$\eta = BMP_{SP} * \rho * LCP_{CH4} \quad (5)$$

Donde  $PMB_{SP}$  es la producción final de metano del SP (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> SV<sub>SPañadido</sub>),  $\rho$  es la densidad del SP (g SV<sub>SPañadido</sub> mL<sup>-1</sup>SP), y  $LCP_{CH4}$  es el poder calorífico bajo el metano (35.800 J L<sup>-1</sup>; Li et al., 2017). El análisis se realizó para la fábrica de queso del estudio de caso, en la que se generan 600 L de SP diariamente. El ahorro energético con la tecnología de DA se determinó a partir de las cantidades de SP y en base a su potencial energético y al coste de producción de energía que se encuentra en la industria alimentaria (3,8 MJ/USD; Bajan et al., 2020).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1. Propiedades del biocarbón procedente de la pirolisis del estiércol de bovino

La caracterización del biocarbón de bovino se muestra en la Tabla 2. El biocarbón presentó concentraciones considerables de carbono, oxígeno e hidrógeno. El contenido de carbono depende generalmente de la temperatura de pirólisis. Para este caso particular, el biocarbón de estiércol bovino presentó un alto % de C (73,47 %) en comparación con el biocarbón de switchgrass (71,52 %) y la madera de pino (71,80 %), pirolizados a 600 °C y 450 °C, respectivamente (Kim et al., 2011). Esta característica hace que el biocarbón de estiércol bovino sea más alcalino, lo que es favorable para el tratamiento de sustratos ácidos por DA. Mientras tanto, la concentración de nitrógeno fue considerablemente alta, comparable con otros estudios para el biocarbón generado a 300 °C (Creamer et al., 2014). El contenido de nitrógeno podría indicar una mayor presencia de grupos funcionales nitrogenados, como las aminas, en su superficie. Teniendo en cuenta la afinidad de los grupos funcionales de las aminas con el CO<sub>2</sub>, el biocarbón de estiércol bovino parece ser un buen material para capturar este compuesto (Yu et al., 2012). La superficie BET del biocarbón (52,06 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) fue mucho menor que la de los biocarbones derivados del rastrojo de maíz, el bambú, la madera de pino, la madera de roble y la madera de manzano, que fueron de 315,30, 207,78, 253,39, 193,54 y 190,46 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, respectivamente (Qin et al., 2020; Shen et al., 2015). Sin embargo, el área de superficie BET fue mayor que la obtenida para los biocarbones derivados del estiércol lácteo y del tallo de maíz (6,3 y 18,42 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Jang et al., 2018; Qin et al., 2020). La superficie BET del biocarbón del presente estudio y la superficie externa de la parcela T (43,42 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) son consistentes.

El tamaño de los poros (5,78 nm) fue un poco menor que el valor de 6,50 nm reportado por Shen et al. (2015) para el rastrojo de maíz. Lo anterior podría deberse a la temperatura de

pirólisis; el área superficial es mayor a medida que aumenta la temperatura de pirólisis. Para el biocarbón analizado, el tamaño máximo de los poros estaba dentro de los mesoporos relativamente grandes ( $2 \text{ nm} < \text{diámetro de los poros} < 50 \text{ nm}$ ) (Magdziarz et al., 2021). Estos tamaños de poro podrían ayudar a la fijación de las células bacterianas. Dado que el material proporciona un soporte favorable, la adición de biocarbón aumenta el metabolismo y el crecimiento microbiano (Fagbohunbe et al., 2017). Además, la baja superficie del biocarbón y el área de microporos ( $8,64 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ) podrían estar relacionados con el contenido de lignina de la biomasa, destacando una estructura microporosa reducida durante el proceso de pirólisis, como informaron Tag et al. (2016).

El contenido en cenizas del biocarbón de bovino fue inferior (12 %), lo que indica bajas concentraciones de compuestos solubles y, por tanto, valores de pH inferiores a 10 (Salam et al., 2022). En cuanto a la CE, el biocarbón presentó valores elevados ( $5,63 \text{ mS cm}^{-1}$ ), por lo que su aplicación directa como agente fertilizante podría aumentar la salinidad del suelo (Al-Wabel et al., 2013).

### **3.2. Efecto de la adición de biocarbón en la DA del SP**

Las pruebas de PBM para determinar el efecto del biocarbón de bovino en la producción de metano del SP se llevaron a cabo durante 46 días (Figura 1). Según la producción diaria de biogás (Figura 1a), se observaron tres picos de producción de biogás en las muestras que contenían biocarbón. El primer pico de producción apareció entre los días 1-4, posiblemente debido a la concentración inicial de AGV (para todos los tratamientos, una media de  $1.509 \pm 49 \text{ mg CH}_3 \text{ COOH}$ ) y materia fácilmente biodegradable como la lactosa (Escalante et al., 2018; Papirio et al., 2020).

En el tratamiento de control ( $0,0 \text{ g de biocarbón g}^{-1} \text{ SV}_{\text{sustrato}}$ ), la acumulación de AGV superó la capacidad de amortiguación para regular el sistema, inhibiendo la actividad metanogénica

y el consiguiente descenso de la producción diaria de metano a partir del segundo día; la prueba de dicho tratamiento tuvo una corta duración (11 días).

Por otro lado, se aprecia claramente el efecto de los tratamientos con biocarbón, consiguiendo un aumento de la producción diaria a partir del día 5 y alcanzando un segundo pico de producción alrededor del día 11. Este comportamiento puede atribuirse a las propiedades del biocarbón para mejorar la capacidad de amortiguación del sistema y evitar la acumulación de AGV. Durante el periodo comprendido entre el día 1 y el 11, la producción de biogás se atribuye a los microorganismos que posiblemente consumen la materia orgánica fácilmente disponible del SP, como el ácido acético, el ácido propiónico, el ácido butírico, los azúcares reductores y la lactosa (Escalante et al., 2018; Vivekanand et al., 2018). El tercer pico de producción se produjo entre los días 21-36, siendo testigo de la recuperación de la producción de biogás, lo que indica que sustancias como los carbohidratos y los lípidos de cadena larga comenzaron a ser digeridos. Este comportamiento puede atribuirse a la presencia de biocarbón ya que su adición mejora la tasa de recuperación de los microorganismos anaerobios (Mainardis et al., 2018; Pan et al., 2019). Finalmente, la tendencia en la producción diaria de biogás fue similar en todos los tratamientos con dosis de biocarbón.

El contenido de metano durante la prueba PBM se muestra en la Figura 1b. En el tratamiento sin biocarbón, el biogás contenía menos del 30% de metano. Para los tratamientos con biocarbón, la concentración de metano en el biogás aumentó gradualmente desde el inicio del ensayo hasta el día 8, en el que se obtuvo un 70% de CH<sub>4</sub>. Posteriormente, el contenido de metano se mantuvo entre el 60% y el 80% hasta el final del ensayo. En cuanto al rendimiento de metano acumulado del SP, el tratamiento de control obtuvo 25,1 mL de CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> SV<sub>añadido</sub>. Comparando, los tratamientos con la adición de biocarbón alcanzaron un rendimiento medio de 357,8 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> SV<sub>añadido</sub>, es decir, un aumento del 1.325% en

comparación con el control. Los tratamientos con adición de biocarbón no presentaron diferencias significativas en la producción de metano acumulado ( $p > 0,05$ ). Los rendimientos de metano obtenidos en esta investigación son comparables con otros estudios que reportan valores de producción de metano en SP en el rango de 274 a 446 mL  $\text{CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{añadido}}$  (Mainardis et al., 2019; Papirio et al., 2020; Vivekanand et al., 2018). La inhibición del SP se evitó gracias a la alta alcalinidad del inóculo utilizado para la DA (Papirio et al., 2020; Vivekanand et al., 2018). Además, la alta proporción de sustrato del inóculo (RIS) de  $6 \text{ G}_{\text{Inóculo}} \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{sustrato}}$  (Mainardis et al., 2019) reduce el riesgo de acidificación del sistema. Lo anterior confirma que el uso de biocarbón de estiércol bovino en la DA de SP fue notablemente eficaz en la prevención de la acumulación excesiva de AGV. Los resultados del presente estudio son consistentes con el efecto positivo del biocarbón de bovino en la producción de metano. Jang et al. (2018) informaron que la aplicación de biocarbón de estiércol bovino en la DA del estiércol aumentó la producción de metano acumulada en un 35,71 %.

### **3.3. Efecto de las características fisicoquímicas del biocarbón en el proceso**

El efecto positivo del biocarbón de bovino sobre el contenido de metano puede estar estrechamente relacionado con su caracterización (Tabla 2). El biocarbón puede proporcionar condiciones favorables para el enriquecimiento de la comunidad microbiana, especialmente a través de sus características morfológicas. El biocarbón facilita la transferencia directa de electrones entre especies (DIET) gracias a su elevada superficie BET y al gran tamaño de sus poros, que favorecen la adhesión microbiana (Pan et al., 2019). La DIET es uno de los mecanismos más eficientes para la producción de metano sintrófico, incluso en condiciones de alta carga orgánica (Jiang et al., 2021). Cuanto mayor sea el área superficial BET y el tamaño de los poros del biocarbón, mayor será su capacidad de

adsorción; así, se promoverá el DIET en el proceso de DA (Qin et al., 2020). En este sentido, el área superficial BET y el tamaño de los poros del biocarbón utilizado en este estudio tuvieron una influencia moderada en la promoción de DIET y, en consecuencia, en la producción de metano.

Además, la conductividad eléctrica (CE) y la capacidad de intercambio catiónico (CEC) del biocarbón de bovino desempeñan un papel importante en el aumento de la producción de metano. Las propiedades conductoras del biocarbón se deben a su alto grado de aromaticidad, que facilita el desarrollo del DIET y la actividad metanogénica (Shen et al., 2016). El biocarbón de estiércol bovino obtuvo una CE de  $5,63 \text{ mS cm}^{-1}$ , que es mucho mayor en comparación con los valores encontrados por Qin et al. (2020) de 7,37, 16,29, 57,88, 11,24, 7,10 y  $5,59 \text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$  para el biocarbón hecho de paja de arroz, tallo de maíz, bambú, madera de pino, madera de roble y madera de manzano, respectivamente. Según Shen et al. (2016), los valores altos de CE mejoran la actividad metanogénica a través del DIET. Por otro lado, existe una fuerte correlación directa entre la CEC y la estimulación de la producción de metano (Cruz Viggi et al., 2017), que también ayuda al crecimiento de los microorganismos en las primeras etapas del proceso de AD (Qin et al., 2020). La CEC del biocarbón de bovino fue de  $26,2 \text{ meq (100 g)}^{-1}$ , un valor mucho más alto que el de Qin et al. (2020), de 0,0001 a  $0,019 \text{ meq g}^{-1}$  para el biocarbón de paja de arroz, tallo de maíz, bambú, madera de pino, madera de roble y madera de manzano.

Las concentraciones de metales (Fe, Ca y Mg) en el biocarbón de bovino (Tabla 2) contribuyen a la alcalinidad del proceso de DA, evitan la acumulación de AGV y también pueden servir como donantes de electrones en la reducción de  $\text{CO}_2$  a  $\text{CH}_4$  (Indren et al., 2020; Sugiarto et al., 2021; Wang et al., 2017). El análisis elemental del biocarbón de bovino también podría tener un marcado efecto en el proceso de DA. Los elementos con mayores concentraciones fueron el C, el O y el H, secuencialmente. Cuando el contenido de C es

mucho más alto que los otros dos elementos (O, H), se forman estructuras de carbono gráficas (Indren et al., 2020), lo que podría indicar una alta aromaticidad (Shen et al., 2016). Durante la pirólisis del estiércol bovino, hubo una alta pérdida de O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>, lo que significa un elevado C fijo. El bajo O<sub>2</sub> en el biocarbón indica que el grupo funcional oxigenado ha sido eliminado, haciendo así el biocarbón más alcalino (Chen et al., 2008). La relación H/C fue de 0,019, lo que representa una transformación parcial continua de estructuras aromáticas a gráficas mejorando las estructuras de carbono recalcitrantes; este comportamiento es típico para el biocarbón con una relación H/C ≤ 0,02 (Kim et al., 2011). Además, cuando la aromaticidad es alta, la eficacia de la captura de CO<sub>2</sub> aumenta (Shen et al., 2016). Además, la estructura del carbono gráfico permite que la transferencia de electrones se realice con poca resistencia, facilitando el DIET; es mayor cuando las relaciones H/C y O/C son inferiores a 0,35 y 0,09, respectivamente (Indren et al., 2020). En cuanto al alto contenido de S en el biocarbón de bovino (0,33%), que es apropiado para la materia prima, podría promover bacterias reductoras de sulfato que compiten con los metanógenos por los sustratos, reduciendo la producción de biogás (Zhou et al., 2020). Lo anterior representa que la reducción del contenido de azufre en el biocarbón podría mejorar aún más la producción de biogás y el contenido de metano.

#### **3.4. Influencia del biocarbón en la estabilidad del proceso de DA**

Las variables de estabilidad del proceso de DA del SP con la adición de biocarbón de bovino se muestran en la Tabla 3. Al inicio de las pruebas de PBM, todos los tratamientos presentaron bajas concentraciones de AGV. Sin embargo, al final de la prueba, se observó que el tratamiento control presentaba una acumulación excesiva de AGV (6.328 mg CH<sub>3</sub>COOH L<sup>-1</sup>), situación que podría provocar la inhibición del proceso de DA. Por otro lado, la adición de biocarbón en las dosis aplicadas provocó la degradación de los AGV hasta un

valor medio de 767 mg CH COOH L<sub>3</sub><sup>-1</sup>. Esto sugiere que el biocarbón facilita el consumo de AGV durante la DA, lo que coincide con lo reportado en otros estudios (Jang et al., 2018; Qin et al., 2020).

En cuanto al pH, al inicio de la prueba PBM se encontró un valor medio de 8,26 en todos los tratamientos. Se encontró un ligero aumento para el tratamiento de control al final de la prueba; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre el estado inicial y el final. En los tratamientos con biocarbón también se encontró un aumento del pH, que podría estar relacionado con la disminución del contenido de AGV. En los tratamientos con biocarbón, posiblemente se genere una mayor proporción de ácido acético (Sugiarto et al., 2021) que promovería la producción de metano (Jiang et al., 2020), acentuando su efecto positivo en la DA del SP. La capacidad de amortiguación confirmó para el tratamiento control la inhibición del proceso de DA debido a la baja capacidad del sistema para amortiguar los AGV generados. Por el contrario, en los tratamientos con biocarbón se observó la adaptación del sistema para la producción de metano, lo que se reflejó en la mejora de la capacidad de amortiguación. El biocarbón de bovino contribuyó a la estabilidad del proceso de DA.

### **3.5. Modelo cinético**

En la Figura 2 se muestra la modelización de la producción acumulada de metano en la DA de SP mediante la adición de biocarbón de bovino. En todas las curvas se observaron dos rezagos en las curvas de producción. Para el modelo Gompertz modificado, la modelización se realizó en dos fases (Figura 2a): *Fase I*) antes del segundo retardo y *Fase II*) después del segundo retardo, hasta el rendimiento final de metano. En el caso del modelo de función bi-logística (Figura 2b), la modelización se realizó en una sola fase, abarcando el comportamiento del crecimiento diauxico. Los valores de los parámetros obtenidos para los dos modelos y las estadísticas de bondad de ajuste se presentan en la Tabla 4. El ajuste del

modelo Gompertz modificado mostró un coeficiente de correlación del 99,77 %, mientras que el modelo de función bi-logística del 99,82 %.

El modelo Gompertz mostró, en promedio, para la Fase *I* una tasa de producción máxima de metano de  $27,4 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ VS}_{\text{añadido}} \text{ día}^{-1}$ , que fue un 119,2 % superior a la tasa de producción de la Fase *II*. Se encontró una tendencia similar para el periodo de la fase de retardo, que fue de 1,82 días en la Fase *I*, mientras que para la Fase *II* dicho periodo fue un 270 % mayor. En la Fase *I*, el biocarbón contribuyó a la estabilidad del proceso, permitiendo que el proceso de digestión anaeróbica se desarrollara con materia orgánica fácilmente biodisponible. Por otro lado, la adición de biocarbón permitió la adsorción de compuestos orgánicos (posiblemente difícilmente degradables) utilizados en la Fase *II* para producir metano. En base a los resultados, se pudo discernir que cuanto mayor fuera la concentración de biocarbón en la Fase *I*, se obtendría un tiempo de retardo más largo (una absorción lenta), y más tarde en la Fase *II*, se obtendría un tiempo de retardo más corto (desorción rápida).

Los datos estadísticos ( $R^2$ , MAE y  $\Delta y_{\text{max}}$ ) mostraron que los modelos utilizados describían adecuadamente los resultados experimentales. Además, el modelo de función bi-logística mostró, en promedio, un valor similar para la tasa máxima de producción de metano antes del segundo retardo ( $27,3 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ VS}_{\text{añadido}} \text{ día}^{-1}$ ). Sin embargo, el modelo predijo una tasa máxima de producción de metano en la segunda fase un 7,7 % superior a la obtenida con el modelo Gompertz, consiguiendo así un mejor ajuste de los datos. Añadiendo biocarbón se han obtenido curvas de producción de metano similares en la DA de residuos de cáscaras de cítricos (Fagbohunge et al., 2016), estiércol de pollo (Pan et al., 2019) y residuos de cocina (Wang et al., 2017).

### 3.6. Beneficios energéticos del estudio de caso

Teniendo en cuenta la aplicación de la tecnología DA para gestionar SP, es posible aprovechar el biogás generado para obtener energía in situ. Considerando que SP se encuentra en estado líquido, el uso de un digestor tubular permitiría la distribución longitudinal de las comunidades microbianas responsables de producir y consumir los AGV (Jaimes-Estévez et al., 2020). Suponiendo que todo el SP generada en la fábrica de nuestro estudio ( $600 \text{ L d}^{-1}$ ) se gestiona y el PBM del SP con biocarbón es  $358,4 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}_{\text{añadido}}$ , el metano producido diariamente sería de 11.848 L. Por tanto, la energía generada estaría en torno a 0,7 MJ al día, lo que supondría un ahorro energético diario de 111,6 USD. Estos resultados demuestran la viabilidad energética y económica del tratamiento de residuos con características similares mediante el uso de aditivos como el biocarbón procedente de estiércol de bovino.

## 4. CONCLUSIÓN

En este estudio se viabilizó el proceso de digestión anaerobia (DA) para un residuo difícil de manejar, como es el suero de queso puro (SP), agregando biocarbón de estiércol bovino.

El uso de biocarbón a  $0.5 - 2.0 \text{ g g}^{-1} \text{ VS}_{\text{sustrato}}$  evitó los problemas de inhibición debido a la acidificación del sistema, contenido de AGV  $< 1568 \text{ mg CH}_3 \text{ COOH L}^{-1}$  y valores de pH alcalinos ( $\sim 8,5$ ) al final de las pruebas de PBM. La DA del SP generó  $0,7 \text{ MJ L}^{-1}$ , lo que constituye un ahorro energético diario de 111,6 USD con respecto a la fábrica de nuestro caso de estudio. En este sentido, la DA ofrece una excelente oportunidad para la gestión de residuos y la generación de energía para las fábricas de queso.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

Abbas, Y., Yun, S., Wang, Z., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, K., 2021. Recent advances in bio-based carbon materials for anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 135, 110378. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110378>.

Al-Wabel, M. I., Al-Omran, A., El-Naggar, A. H., Nadeem, M., Usman, A. R., 2013. Pyrolysis temperature induced changes in characteristics and chemical composition of biochar produced from conocarpus wastes. *Bioresource technology*, 131, 374-379. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.165>.

APHA-AWWA-WEF, 2017. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23rd ed. American Public Health Association, USA.

Bajan, B., Mrówczyńska-Kamińska, A., Poczta, W., 2020. Economic energy efficiency of food production systems. *Energies*, 13(21), 5826. <https://doi.org/10.3390/en13215826>.

Carvalho, F., Prazeres, A. R., Rivas, J., 2013. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the total environment*, 445, 385-396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>.

Charalambous, P., Shin, J., Shin, S. G., Vyrides, I., 2020. Anaerobic digestion of industrial dairy wastewater and cheese whey: performance of internal circulation bioreactor and laboratory batch test at pH 5-6. *Renewable Energy*, 147, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.08.091>.

Chatzipaschali, A. A., Stamatis, A. G., 2012. Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: current status and prospects. *Energies*, 5(9), 3492-3525. <https://doi.org/10.3390/en5093492>.

Chen, Y., Cheng, J. J., Creamer, K. S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>.

Chiappero, M., Norouzi, O., Hu, M., Demichelis, F., Berruti, F., Di Maria, F., Mašek, O., Fiore, S., 2020. Review of biochar role as additive in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 131, 110037. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110037>.

Cimon, C., Kadota, P., Eskicioglu, C., 2020. Effect of biochar and wood ash amendment on biochemical methane production of wastewater sludge from a temperature phase anaerobic digestion process. *Bioresource Technology*, 297, 122440. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122440>.

Creamer, A. E., Gao, B., Zhang, M., 2014. Carbon dioxide capture using biochar produced from sugarcane bagasse and hickory wood. *Chemical Engineering Journal*, 249, 174-179. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.03.105>.

Cruz Viggi, C., Simonetti, S., Palma, E., Pagliaccia, P., Braguglia, C., Fazi, S., Baronti, S., Navarra, M. A., Pettiti, I., Koch, C., Harnisch, F., Aulenta, F., 2017. Enhancing methane production from food waste fermentate using biochar: The added value of electrochemical testing in pre-selecting the most effective type of biochar. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0994-7>.

Escalante, H., Castro, L., Amaya, M. P., Jaimes, L., Jaimes-Estévez, J., 2018. Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. *Waste Management*, 71, 711-718. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.026>.

Fagbohunge, M. O., Herbert, B. M., Hurst, L., Ibeto, C. N., Li, H., Usmani, S. Q., Semple, K. T., 2017. The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion. *Waste management*, 61, 236-249. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.028>.

Fagbohunge, M. O., Herbert, B. M., Hurst, L., Li, H., Usmani, S. Q., Semple, K. T., 2016. Impact of biochar on the anaerobic digestion of citrus peel waste. *Bioresource technology*, 216, 142-149. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.106>.

FAO, 2019. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crops and livestock products. Available online: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (accessed on 16 August 2022).

Gonzalez-Piedra, S., Hernández-García, H., Perez-Morales, J. M., Acosta-Domínguez, L., Bastidas-Oyanedel, J. R., Hernandez-Martinez, E., 2021. A study on the feasibility of anaerobic co-digestion of raw cheese whey with coffee pulp residues. *Energies*, 14(12), 3611. <https://doi.org/10.3390/en14123611>.

Hafner, S. D., Fruteau de Laclos, H., Koch, K., Holliger, C., 2020. Improving interlaboratory reproducibility in measurement of biochemical methane potential (BMP). *Water*, 12(6), 1752. <https://doi.org/10.3390/w12061752>.

Hafner, S. D., Rennuit, C., Triolo, J. M., Richards, B. K., 2015. Validation of a simple gravimetric method for measuring biogas production in laboratory experiments. *Biomass and Bioenergy*, 83, 297-301. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.10.003>.

Indren, M., Birzer, C. H., Kidd, S. P., Hall, T., Medwell, P. R., 2020. Effects of biochar parent material and microbial pre-loading in biochar-amended high-solids anaerobic

digestion. *Bioresource technology*, 298, 122457.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122457>.

Jaimes-Estévez, J., Castro, L., Escalante, H., Carrillo, D., Portillo, S., Sotres, A., Morán, A., 2020. Cheese whey co-digestion treatment in a tubular system: Microbiological behaviour along the axial axis. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-10.  
<https://doi.org/10.1007/s13399-020-00988-4>.

Jaimes-Estévez, J., Mercado, E. V., Jaramillo, J. G., Rodríguez, P., Martí-Herrero, J., Escalante, H., Castro, L., 2022. From laboratory to farm-scale psychrophilic anaerobic co-digestion of cheese whey and cattle manure. *Bioresource Technology Reports*, 101168.  
<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101168>.

Jang, H. M., Choi, Y. K., Kan, E., 2018. Effects of dairy manure-derived biochar on psychrophilic, mesophilic and thermophilic anaerobic digestions of dairy manure. *Bioresource technology*, 250, 927-931. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.074>.

Jiang, Q., Chen, Y., Yu, S., Zhu, R., Zhong, C., Zou, H., Gu, L., He, Q., 2020. Effects of citrus peel biochar on anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge and its direct interspecies electron transfer pathway study. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125643. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125643>.

Jiang, Q., Zhang, C., Wu, P., Ding, P., Zhang, Y., Cui, Min-hua, C., Liu, H., 2021. Algae biochar enhanced methanogenesis by enriching specific methanogens at low inoculation ratio during sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 338, 125493. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125493>.

Jobling, B.J., Thai, S.M., Fritz, T., Esteves, S.R., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2014. An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste. *Water research*, 61, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.020>.

Justesen, C. G., Astals, S., Mortensen, J. R., Thorsen, R., Koch, K., Weinrich, S., Triolo, J. M., Hafner, S. D., 2019. Development and validation of a low-cost gas density method for measuring biochemical methane potential (BMP). *Water*, 11(12), 2431. <https://doi.org/10.3390/W11122431>.

Kim, P., Johnson, A., Edmunds, C. W., Radosevich, M., Vogt, F., Rials, T. G., Labbé, N., 2011. Surface functionality and carbon structures in lignocellulosic-derived biochars produced by fast pyrolysis. *Energy & fuels*, 25(10), 4693-4703. <https://doi.org/10.1021/ef200915s>.

Lago, B. C., Silva, C. A., Melo, L. C. A., de Morais, E. G., 2021. Predicting biochar cation exchange capacity using Fourier transform infrared spectroscopy combined with partial least square regression. *Science of The Total Environment*, 794, 148762. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148762>.

Li, Y., Liu, H., Yan, F., Su, D., Wang, Y., Zhou, H., 2017. High-calorific biogas production from anaerobic digestion of food waste using a two-phase pressurized biofilm (TPPB) system. *Bioresource technology*, 224, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.070>.

Magdziarz, A., Mlonka-Mędrala, A., Sieradzka, M., Aragon-Briceño, C., Pożarlik, A., Bramer, E. A., Brem, G., Niedzwiecki, L., Pawlak-Kruczek, H., 2021. Multiphase analysis of hydrochars obtained by anaerobic digestion of municipal solid waste organic fraction. *Renewable energy*, 175, 108-118. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.05.018>.

- Mainardis, M., Cabbai, V., Zannier, G., Visintini, D., Goi, D., 2018. Characterization and BMP tests of liquid substrates for high-rate anaerobic digestion. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 31(4), 508–518. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2017.1083>.
- Mainardis, M., Flaibani, S., Trigatti, M., Goi, D., 2019. Techno-economic feasibility of anaerobic digestion of cheese whey in small Italian dairies and effect of ultrasound pretreatment on methane yield. *Journal of Environmental Management*, 246, 557–563. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.014>.
- MIDAGRI, 2021. Ministry of Agrarian Development and Irrigation - Perú. Available online: <https://www.gob.pe/midagri> (accessed on 9 August 2022).
- Mostafa Imeni, S., Pelaz, L., Corchado-Lopo, C., Maria Busquets, A., Ponsá, S., Colón, J., 2019. Techno-economic assessment of anaerobic co-digestion of livestock manure and cheese whey (Cow, Goat & Sheep) at small to medium dairy farms. *Bioresource Technology*, 291, 121872. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121872>.
- Opurum, C. C., Nweke, C. O., Nwanyanwu, C. E., Nwogu, N. A., 2021. Modelling of Biphasic Biogas Production Process from Mixtures of Livestock Manure Using Bilogistic Function and Modified Gompertz Equation. *Annual Research & Review in Biology*, 116-129. <https://doi.org/10.9734/arrb/2021/v36i330358>.
- Pan, J., Ma, J., Liu, X., Zhai, L., Ouyang, X., Liu, H., 2019. Effects of different types of biochar on the anaerobic digestion of chicken manure. *Bioresource Technology*, 275, 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.068>.

- Pan, X., Angelidaki, I., Alvarado-Morales, M., Liu, H., Liu, Y., Huang, X., Zhu, G., 2016. Methane production from formate, acetate and H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>; focusing on kinetics and microbial characterization. *Bioresource Technology*, 218, 796-806. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.032>.
- Papirio, S., Matassa, S., Pirozzi, F., Esposito, G., 2020. Anaerobic co-digestion of cheese whey and industrial hemp residues opens new perspectives for the valorization of agri-food waste. *Energies*, 13(11), 2820. <https://doi.org/10.3390/en13112820>.
- Pramanik, S. K., Suja, F. B., Porhemmat, M., Pramanik, B. K., 2019. Performance and kinetic model of a single-stage anaerobic digestion system operated at different successive operating stages for the treatment of food waste. *Processes*, 7(9), 600. <https://doi.org/10.3390/pr7090600>.
- Qin, Y., Yin, X., Xu, X., Yan, X., Bi, F., Wu, W., 2020. Specific surface area and electron donating capacity determine biochar's role in methane production during anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 303, 122919. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122919>.
- Rico, C., Muñoz, N., Rico, J. L., 2015. Anaerobic co-digestion of cheese whey and the screened liquid fraction of dairy manure in a single continuously stirred tank reactor process: Limits in co-substrate ratios and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 189, 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.032>.
- Salam, A., Bashir, S., Khan, I., Hu, H., 2022. Biochar production and characterization as a measure for effective rapeseed residue and rice straw management: an integrated spectroscopic examination. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(7), 2687–2696. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00820-z>.

- Shamurad, B., Gray, N., Petropoulos, E., Tabraiz, S., Membere, E., Sallis, P., 2020. Predicting the effects of integrating mineral wastes in anaerobic digestion of OFMSW using first-order and Gompertz models from biomethane potential assays. *Renewable Energy*, 152, 308-319. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.01.067>.
- Shen, Y., Linville, J. L., Ignacio-de Leon, P. A. A., Schoene, R. P., Urgan-Demirtas, M., 2016. Towards a sustainable paradigm of waste-to-energy process: Enhanced anaerobic digestion of sludge with woody biochar. *Journal of Cleaner Production*, 135, 1054–1064. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.144>.
- Shen, Y., Linville, J. L., Urgan-Demirtas, M., Schoene, R. P., Snyder, S. W., 2015. Producing pipeline-quality biomethane via anaerobic digestion of sludge amended with corn stover biochar with in-situ CO<sub>2</sub> removal. *Applied Energy*, 158, 300–309. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.08.016>.
- Sugiarto, Y., Sunyoto, N. M. S., Zhu, M., Jones, I., Zhang, D., 2021. Effect of biochar addition on microbial community and methane production during anaerobic digestion of food wastes: The role of minerals in biochar. *Bioresource Technology*, 323, 124585. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124585>.
- Syaichurrozi, I., Sumardiono, S., 2013. Predicting kinetic model of biogas production and biodegradability organic materials: biogas production from vinasse at variation of COD/N ratio. *Bioresource technology*, 149, 390-397. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.088>.
- Tag, A. T., Duman, G., Ucar, S., Yanik, J., 2016. Effects of feedstock type and pyrolysis temperature on potential applications of biochar. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 120, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2016.05.006>.

Tang, S., Wang, Z., Liu, Z., Zhang, Y., Si, B., 2020. The role of biochar to enhance anaerobic digestion: A review. *Journal of Renewable Materials*, 8(9), 1033–1052. <https://doi.org/10.32604/jrm.2020.011887>.

Vivekanand, V., Mulat, D. G., Eijsink, V. G. H., Horn, S. J., 2018. Synergistic effects of anaerobic co-digestion of whey, manure and fish ensilage. *Bioresource Technology*, 249, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.169>.

Wang, D., Ai, J., Shen, F., Yang, G., Zhang, Y., Deng, S., Zhang, J., Zeng, Y., Song, C., 2017. Improving anaerobic digestion of easy-acidification substrates by promoting buffering capacity using biochar derived from vermicompost. *Bioresource Technology*, 227, 286–296. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.060>.

Yu, C. H., Huang, C. H., Tan, C. S., 2012. A review of CO<sub>2</sub> capture by absorption and adsorption. *Aerosol and Air Quality Research*, 12(5), 745–769. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2012.05.0132>.

Zhou, H., Brown, R. C., Wen, Z., 2020. Biochar as an additive in anaerobic digestion of municipal sludge: Biochar properties and their effects on the digestion performance.

*ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(16), 6391-6401. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c00571>

## 6. FIGURAS Y TABLAS

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica del sustrato e inóculo.

Parámetros	Unidades	Inóculo	Sustrato
pH	-	8.29	6.62
Ácidos Grasos Volátiles (AGV)	mg CH <sub>3</sub> COOH L <sup>-1</sup>	1540	2600
Alcalinidad Total (AT)	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	3683.33	2083.33
AGV/AT	mg CH <sub>3</sub> COOH mg <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	0.42	1.25
Sólidos Totales (ST)	g kg <sup>-1</sup>	36.41	59.12
Sólidos Volátiles (SV)	g kg <sup>-1</sup>	16.99	53.70
Lípidos	%	-	0.3
Proteína	%	-	2.5
Lactosa	%	-	3.7
Sales	%	-	0.5

**Tabla 2.** Caracterización del biocarbón de estiércol bovino.

Análisis	Contenido	Unidades	Valor
Superficie y tamaño de poros	Área Superficial Específica BET	m <sup>2</sup> /g	52.06
	T-plot-area de microporos	m <sup>2</sup> /g	8.64
	T-plot-superficie externa	m <sup>2</sup> /g	43.42
	BJH diámetro de poro promedio de adsorción	nm	5.78
	BJH diámetro de poro promedio de desorción	nm	11.44
Físico – Químico	pH	--	9.8
	Conductividad eléctrica	mS/cm	5.63
	Cenizas	%	4.9
	Capacidad de Intercambio catiónico (CEC)	meq/100g	26.2
Metales	Fe	%p/p	0.34
	Ca	%p/p	0.61
	Mg	%p/p	0.89
Análisis elemental	Carbono (C)	%	73.98
	Hidrógeno (H)	%	1.4
	Oxígeno (O)	%	23.72
	Nitrógeno (N)	%	1.27
	Azufre (S)	%	0.33

**Tabla 3.** Capacidad tampón (AGV/AT; mg CH<sub>3</sub>COOH mg<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>), ácidos grasos volátiles (AGV, mg CH<sub>3</sub>COOH L<sup>-1</sup>) y pH (-) en la digestión anaeróbica del suero de queso mediante la adición de biocarbón de bovino (gbiocarbón g<sup>-1</sup> SVsustrato).

Biocarbón	AGV/AT		AGV		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
0.0	0.35 ± 0.014	1.22 ± 0.032	1480 ± 35	6328 ± 164	8.24 ± 0.067	8.34 ± 0.020
0.5	0.38 ± 0.014	0.27 ± 0.017	1528 ± 30	780 ± 0.0	8.28 ± 0.040	8.46 ± 0.070
1.0	0.37 ± 0.003	0.26 ± 0.022	1460 ± 35	760 ± 92	8.32 ± 0.017	8.55 ± 0.025
2.0	0.41 ± 0.020	0.25 ± 0.020	1568 ± 14	760 ± 92	8.20 ± 0.036	8.53 ± 0.012

**Tabla 4.** Parámetros ajustados al modelo Gompertz modificado y al modelo de función bi-logística en la digestión anaeróbica del suero de queso mediante la adición de biocarbón de bovino.

Modelo cinético	Parámetro	(gbiocarbón g <sup>-1</sup> SV <sub>sustrato</sub> )				
		0.5	1.0	2.0		
Modelo de Gompertz modificado	Fase I	$y_{max}$	263.68	253.75	262.87	
		$r$	26.15	28.17	27.99	
		$\lambda$	1.48	1.72	2.27	
		Estadístico	$R^2$	99.86	99.82	99.80
			MAE	2.49	2.66	3.06
		$\Delta y_{max}$	-1.13	-0.66	-1.24	
	Fase II	$y_{max}$	100.10	99.41	96.43	
		$r$	11.62	12.74	13.23	
		$\lambda$	8.70	6.37	5.13	
		Estadístico	$R^2$	99.76	99.68	99.70
		MAE	1.59	1.79	1.43	
	$\Delta y_{max}$	0.33	0.20	0.04		
Modelo de función Bi-logística		$y_{max1}$	265.12	266.71	273.56	
		$y_{max2}$	357.04	356.95	357.47	
		$r_1$	26.85	27.98	27.16	
		$r_2$	12.45	13.52	14.51	
		$\lambda_1$	1.97	2.11	2.34	
		$\lambda_2$	26.77	24.19	23.33	
	Estadístico	$R^2$	99.84	99.86	99.77	
		MAE	2.85	2.70	3.52	
	$\Delta y_{max}$	-0.10	-0.17	-0.26		

**Nota:**  $y_{max}$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub>) es el potencial de producción de metano;  $r$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub> day<sup>-1</sup>) es la tasa máxima de producción de metano;  $\lambda$  (días) es el periodo de fase de retraso;  $y_{max1}$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub>) es el potencial de metano máximo antes del segundo retraso;  $y_{max2}$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub>) es el potencial máximo de metano en la segunda fase;  $r_1$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub> dia<sup>-1</sup>) es la tasa máxima de producción de metano antes del segundo retraso;  $r_2$  (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub> dia<sup>-1</sup>) es la tasa máxima de producción de metano en la segunda fase;  $\lambda_1$  (días) es el primer período de fase de retraso;  $\lambda_2$  (días) es el tiempo de la segunda fase de retardo;  $R^2$  (%) es el coeficiente de determinación; MAE (mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>VS<sub>add</sub>) es el error absoluto medio;  $\Delta y_{max}$  (%) es el error entre el valor experimental y el modelado.

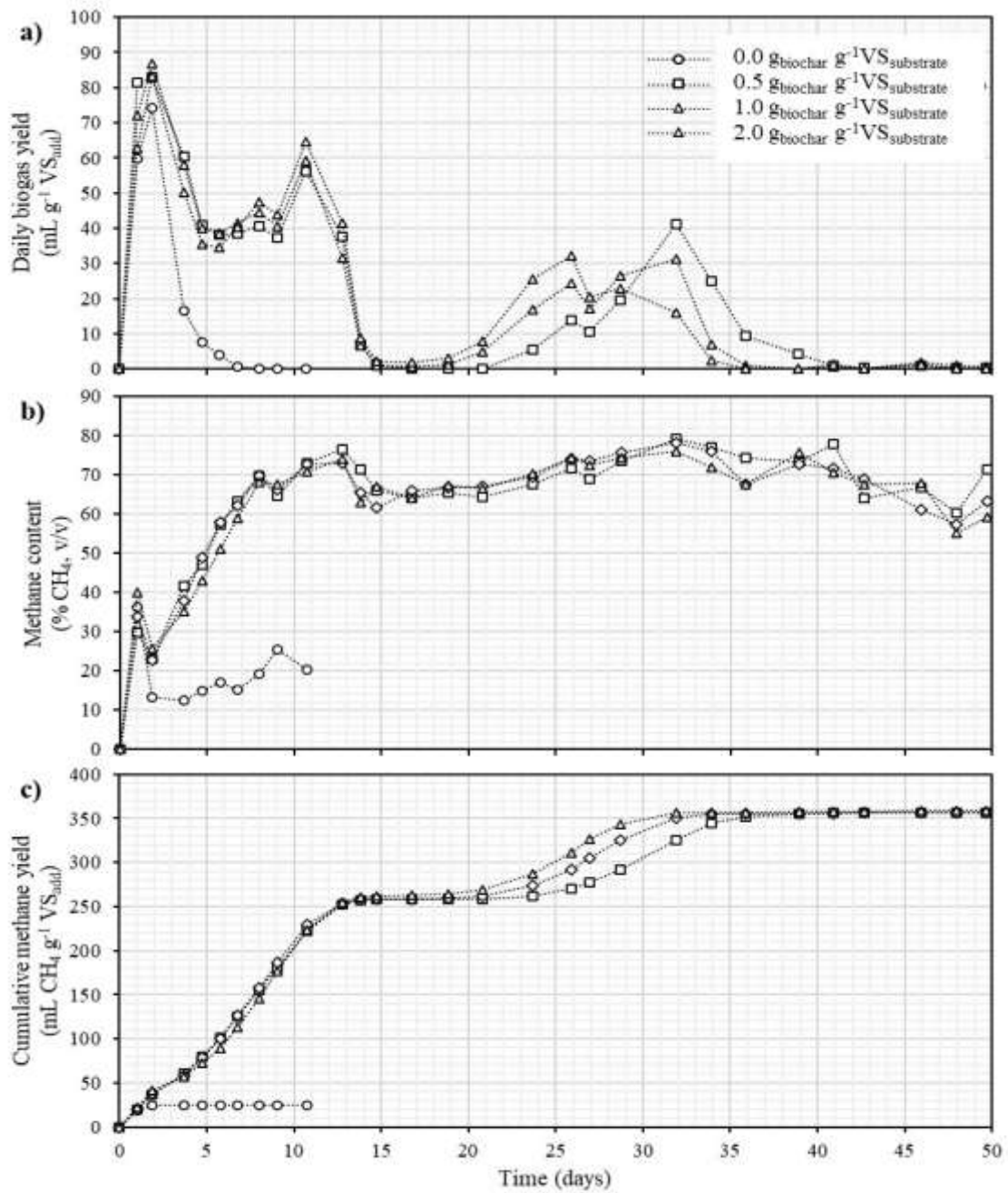


Figura 1. Potencial bioquímico de metano del suero de queso con la adición de biocarbón de bovino: a) rendimiento diario de biogás, b) contenido de metano, y c) rendimiento de metano acumulado.

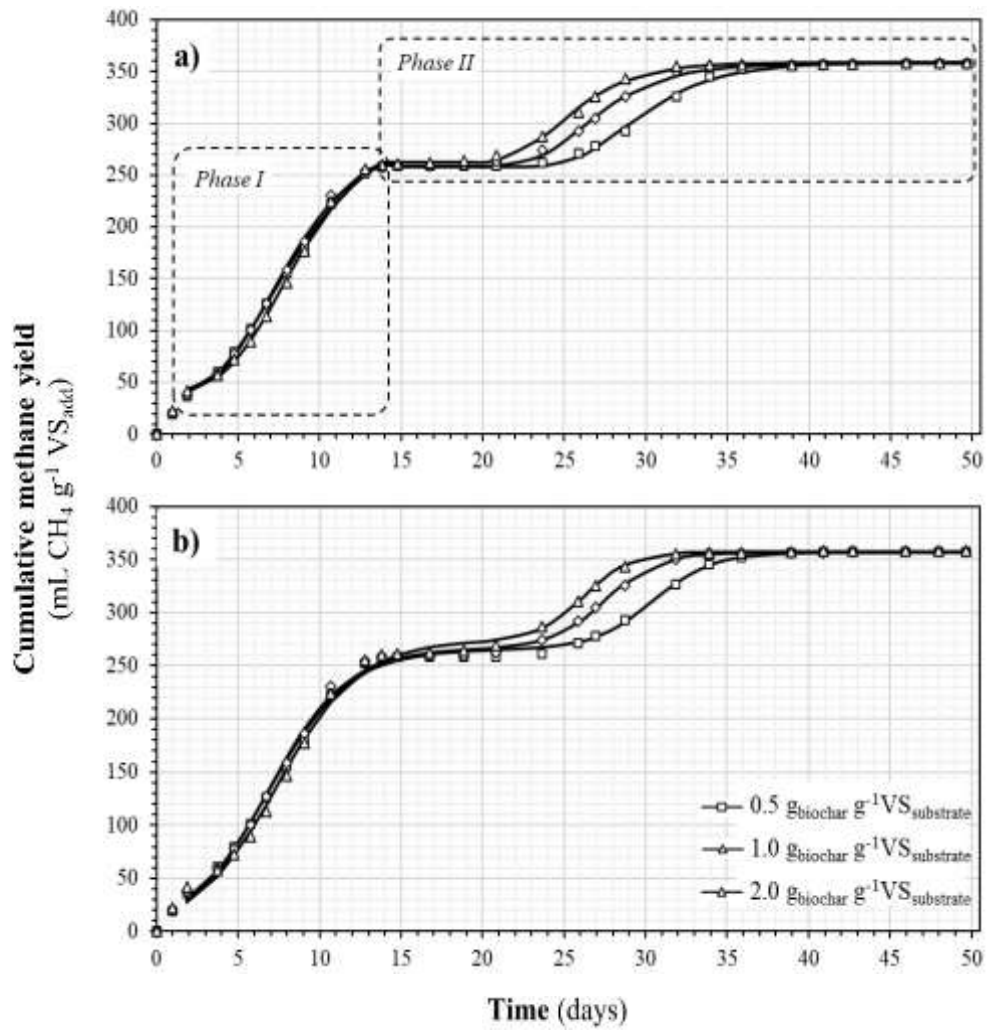


Figura 2. Modelización cinética de la digestión anaeróbica del suero de queso puro mediante la adición de biocarbón de bovino a diferentes concentraciones: a) modelo gompertz modificado, y b) modelo de función bi-logística.

## 7. ANEXOS

### Anexo A. Evidencia de sumisión

<b>Bioresource Technology</b> <b>Biochar from bovine manure as a sustainable additive to improve the anaerobic digestion of cheese whey</b> <b>--Manuscript Draft--</b>	
<b>Manuscript Number:</b>	BITE-D-22-05881
<b>Article Type:</b>	Original research paper
<b>Keywords:</b>	Bovine manure biochar; cheese industry; energetic potential; kinetic modeling
<b>Corresponding Author:</b>	Oscar Andrés Mendieta-Menjura, Ph.D. Corporacion Colombiana de Investigación Agropecuaria: AGROSAVIA Bucaramanga, COLOMBIA
<b>First Author:</b>	Glen Madrigal
<b>Order of Authors:</b>	Glen Madrigal Mery Huaraya Thania Sancho Oscar Andrés Mendieta-Menjura, Ph.D. Jaime Jaimes, Ph.D.
<b>Abstract:</b>	The cheese industry generates pure cheese whey (CWP) and bovine manure, which have high contents of organic matter that, when disposed directly into the environment, could create severe environmental challenges. Anaerobic digestion (AD) of CWP provides a sustainable valorization pathway for bioenergy production. However, AD is inhibited by direct CWP management. One way to avoid failures in the AD process is by adding biochar. Therefore, this research aims to evaluate the effect of bovine manure biochar on CWP methane production by testing the biochemical methane potential (BMP). The BMP of the CWP with 2g biochar g <sup>-1</sup> VS substrate was 358.4mLCH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> VS add <sup>-1</sup> . The bovine manure biochar contributed to the stability of the AD process. The results demonstrate the energetic and economic viability of treating waste with the characteristics of the CWP using additives such as biochar from bovine manure.
<b>Suggested Reviewers:</b>	<p>Marianna Garfi, Ph.D. Polytechnic University of Catalonia marianna.garfi@upc.edu Marianna Garfi has conducted different anaerobic digestion investigations focused on agro-industries in developing countries.</p> <p>Sergi Astals, Ph.D. University of Queensland s.astals@awmc.uq.edu.au Sergi Astals has conducted several investigations on modeling the anaerobic digestion process with different substrates. In addition, he performed inhibition and toxicity tests on different inocula.</p> <p>Cigdem Eskicioglu, Ph.D. The University of British Columbia Okanagan Cigdem.eskicioglu@ubc.ca Cigdem Eskicioglu has studied alternatives to increase methane production, including the effect of biochar on methane production.</p> <p>Kan Eunsung, Ph.D. Tarleton State University eunsung.kan@ag.tamu.edu Kan Eunsung has developed research on the benefits of biochar in anaerobic digestion under different operating conditions.</p>

Cover Letter

August 17, 2022

**Ashok Pandey**  
Editor-in-Chief  
Bioresource Technology

Dear Dr. Pandey,

I am pleased to submit an original research article entitled "**Biochar from bovine manure as a sustainable additive to improve the anaerobic digestion of cheese whey**" (word count: 7,410; tables 4; figures 2; references 54) by Madrigal G., Huaraya M., Sancho T., Mendieta O., and Jaimes-Estévez J., for consideration for publication in *Bioresource Technology*; subject classification: 30.040 Biogas production. This manuscript has not been published elsewhere and is not under consideration by another journal. Authors have read and understood your journal's policies and believe that neither the manuscript nor the study violates any of these. All authors agree with submission to your esteemed journal. There are no conflicts of interest to declare.

Thank you for your consideration. We hope our manuscript is suitable for publication in your journal.

Sincerely,

**Oscar Andres Mendieta Menjura**  
Ph.D. researcher - Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)  
E-mail: omendieta@agrosavia.co  
Colombia