



**UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA**

**CARRERA EN BIOTECNOLOGÍA**

**INFLUENCIA DEL BIOCARBÓN DE *GUADUA ANGUSTIFOLIA*  
EN LA DIGESTIÓN DE LACTOSUERO Y ESTIÉRCOL VACUNO  
PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGAS Y DIGESTATO.**

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTOR: ANDRÉS SEBASTIÁN CALDERÓN VELASCO**

**TUTOR: PhD. JAIME MARTI HERRERO**

**COTUTOR: Mgs. CRISTHIAN DAVID CHICAIZA ORTIZ**

Napo-Ecuador

2023

## **DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD**

Yo, Andrés Sebastián Calderón Velasco, con documento de identidad N° 1726431149, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología, son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en la presente investigación son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Tena, 15 de septiembre de 2023



Andrés Sebastián Calderón Velasco

1726431149

## **AUTORIZACION DE PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Yo, Andrés Sebastián Calderón Velasco, con documento de identidad N° 1726431149, en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación: “Efecto de la aplicación de biocarbón en la digestión anaerobia y suelos agrícolas”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Tena, 15 de septiembre de 2023



Andrés Sebastián Calderón Velasco

1726431149

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Certifico que el Trabajo de Integración Curricular Titulado: “Influencia del biocarbón de *Guadua angustifolia* en la digestión de lactosuero y estiércol vacuno para la producción de biogas y digestato.”, en la modalidad: proyecto de investigación en formato tesis fue realizado por: Andrés Sebastián Calderón Velasco, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Tena, 15 de septiembre de 2023



firmado electrónicamente por:  
JAIME EMILIO MARTI  
HERRERO

.....

Tutor: PhD. Jaime Marti Herrero

C.I: 1757205651



firmado electrónicamente por:  
CRISTHIAN DAVID  
CHICAIZA ORTIZ

.....

Co-tutor: Mgs. Cristhian David Chicaiza Ortiz

C.I: 1500637887

## DEDICATORIA

*A mis padres Carla Velasco e Iván Calderón,  
a mis hermanos Paulo, Iván, Camilo y Nicolas,  
a mi novia Natasha,  
a mi perrito Magni, que me acompañó en mis últimos semestres,  
a mis amistades, Paula, Liseth, Antonella y Esteban,  
a mis profesores que me ayudaron a lo largo de la carrera,  
Jaime Marti, Cristhian Chicaiza, Marco Viteri  
a Lizbeth Andi, por ayudarme en laboratorio,  
les dedico esta tesis, por darme su apoyo en todo momento,  
ayudarme a sacar esta investigación adelante a pesar de las dificultades,  
sin ese apoyo, este trabajo no hubiera sido finalizado.*

*A la Amazonía Ecuatoriana, por ofrecer sus misterios,  
sus enseñanzas, su protección y sencillez.*

*A Tena, por ser,  
la ciudad que me acogió durante toda mi carrera.*

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco a la ciencia por permitirme entender el caos y como este puede ser ordenado y mostrar cosas increíbles que nos rodean día a día. La biotecnología usa este orden para crear un bien a la humanidad, sin dejar de lado la ética en el uso de los recursos naturales.*

*A mi madre, que desde pequeño me enseñó a no rendirme y perseguir mis sueños, por impulsarme a seguir creciendo y nunca dejarme caer.*

*A mi padre, que me apoyó en todo momento de la carrera y me enseñó a resolver las cosas de manera sencilla.*

*A mi novia, por estar a mi lado en todo momento durante la carrera, por ayudarme a crecer y vernos crecer juntos como profesionales.*

*A mis hermanos quienes han sido parte de mi fuerza, a quienes espero haber servido como un ejemplo de que todo se puede.*

*A mi tutor, Jaime Marti, por su apoyo incondicional, paciencia y por confiar en mi para diferentes actividades.*

*A mi cotutor, Cristhian Chicaiza, por brindarme la oportunidad de apoyar en proyectos y poder enseñarme que siempre todo lo que hacemos, lo hacemos con el objetivo de ayudar a los demás.*

*A Lizbeth Andi, por tu ayuda en laboratorio y permitirme aprender nuevas cosas sobre la ciencia y la sociedad amazónica.*

*A mis amigos, Paula Iñiguez, Lizeth García y Antonella Ortiz, les agradezco por enseñarme a ser paciente, por darme sus puntos de vista, por apoyarme a todo momento y siempre estar ahí para lo que necesite. Aunque nos conocemos poco tiempo, les agradezco por siempre ser un pilar en mi vida.*

*Gracias a todos lo que permitieron que mis metas se vuelvan alcanzables.*

## TABLA DE CONTENIDO

|                                                                        |      |
|------------------------------------------------------------------------|------|
| PORTADA                                                                |      |
| DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD ..... | i    |
| AUTORIZACION DE PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL .....      | ii   |
| CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR .....    | iii  |
| DEDICATORIA .....                                                      | iv   |
| AGRADECIMIENTOS .....                                                  | v    |
| TABLA DE CONTENIDO .....                                               | vi   |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                                                | viii |
| ÍNDICE DE TABLAS .....                                                 | ix   |
| RESUMEN .....                                                          | x    |
| ABSTRACT .....                                                         | xi   |
| CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....          | 1    |
| 1.1 Antecedentes .....                                                 | 1    |
| 1.2 Planteamiento del problema .....                                   | 4    |
| 1.3 Justificación de la investigación .....                            | 5    |
| 1.4 Objetivos de la investigación .....                                | 6    |
| 1.4.1 General .....                                                    | 6    |
| 1.4.2 Específicos .....                                                | 6    |
| CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO .....                                  | 6    |
| 2.1 Recolección de biomasa .....                                       | 7    |
| 2.2 Caracterización de muestras .....                                  | 7    |
| 2.2.1 Caracterización de lactosuero y estiércol vacuno .....           | 7    |
| 2.2.1.1 Análisis de sólidos totales .....                              | 7    |
| 2.2.1.2 Análisis de sólidos volátiles .....                            | 8    |
| 2.2.1.3 Análisis de ácidos grasos volátiles y alcalinidad .....        | 8    |
| 2.2.1.4 Medición de pH y conductividad .....                           | 9    |
| 2.2.2 Producción del biocarbón .....                                   | 9    |
| 2.2.3 Caracterización del biocarbón .....                              | 10   |
| 2.2.3.1 Contenido de cenizas .....                                     | 10   |
| 2.2.3.2 Medición de pH y conductividad .....                           | 10   |

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2.3 Digestión Anaerobia .....</b>                                           | <b>10</b> |
| <b>2.3.1 Ensayo de potencial bioquímico de metano (BMP) .....</b>              | <b>10</b> |
| <b>2.3.2 Medición de metano/biogás producido.....</b>                          | <b>12</b> |
| <b>2.3.3 Frecuencia de muestreo.....</b>                                       | <b>13</b> |
| <b>2.3.4 Cálculos .....</b>                                                    | <b>13</b> |
| <b>2.4 Fitotoxicidad y desarrollo vegetativo.....</b>                          | <b>14</b> |
| <b>2.4.1 Experimentación a escala laboratorio.....</b>                         | <b>14</b> |
| <b>2.4.2 Experimentación en campo.....</b>                                     | <b>14</b> |
| 2.4.2.1 Trasplante.....                                                        | 15        |
| 2.4.2.2 Evaluación de cosecha .....                                            | 15        |
| <b>CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS .....</b>                  | <b>15</b> |
| <b>3.1 Caracterización de sustratos .....</b>                                  | <b>15</b> |
| <b>3.2 Caracterización del biocarbón .....</b>                                 | <b>16</b> |
| <b>3.3 Ensayo de potencial bioquímico del metano (BMP) .....</b>               | <b>17</b> |
| <b>3.3.1 Cuantificación de metano producido .....</b>                          | <b>17</b> |
| <b>3.3.2 Caracterización de digestatos .....</b>                               | <b>18</b> |
| <b>3.4 Prueba de fitotoxicidad .....</b>                                       | <b>20</b> |
| <b>3.5 Desarrollo vegetativo .....</b>                                         | <b>22</b> |
| <b>3.5.1 Largo del tallo y raíz de plántulas.....</b>                          | <b>23</b> |
| <b>3.5.2 Cosecha .....</b>                                                     | <b>25</b> |
| <b>CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN .....</b>                           | <b>28</b> |
| <b>4.1 Caracterización de sustratos .....</b>                                  | <b>28</b> |
| <b>4.2 Caracterización de biocarbón .....</b>                                  | <b>29</b> |
| <b>4.3 Ensayo del potencial bioquímico de metano.....</b>                      | <b>29</b> |
| <b>4.3.1 Caracterización de digestatos .....</b>                               | <b>29</b> |
| <b>4.3.2 Producción de metano.....</b>                                         | <b>30</b> |
| <b>4.4 Germinación.....</b>                                                    | <b>31</b> |
| <b>4.5 Efecto de los digestatos en el crecimiento de <i>R.sativus</i>.....</b> | <b>32</b> |
| <b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>                        | <b>33</b> |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                         | <b></b>   |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|                  |                                                                                                                                                                     |    |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1:</b> | De izquierda a derecha botellas con los diferentes ensayos BMPs (EGS, EBC3, EBC7, E, LEGS, LEBC3, LEBC7, LE) .....                                                  | 11 |
| <b>Figura 2:</b> | Diagrama simplificado del sistema de medición de biogás con un de manómetro en U.....                                                                               | 12 |
| <b>Figura 3:</b> | Sistema de extracción de biogás para medición por gravimetría y desplazamiento alcalino .....                                                                       | 13 |
| <b>Figura 4:</b> | a) Producción acumulada de metano de la monodigestión de EV, b) Producción acumulada de metano de la co-digestión de LS y EV.....                                   | 18 |
| <b>Figura 5:</b> | a) Comparación de pH inicial y final de los ensayos LEBC3 y LEBC7, b) Comparación de conductividad inicial y final de los ensayos LEBC3 y LEBC7 .....               | 19 |
| <b>Figura 6:</b> | a) Fotografías de cajas petri con semillas y sus respectivos tratamientos, b) Proporción de germinación, c) Índice de enraizamiento, d) Índice de germinación ..... | 22 |
| <b>Figura 7:</b> | a) Fotografías de plántulas en suelo y con sus respectivos digestatos b) Largo del tallo medido, c) Largo de raíces de ejemplares tratados con digestatos .....     | 24 |
| <b>Figura 8:</b> | a) Cajas con plantas de <i>R.sativus</i> , b) huerto usado para almacenar las cajas con plantas .....                                                               | 26 |
| <b>Figura 9:</b> | Efecto de la exposición a digestatos a características físicas de ejemplares de <i>R.sativus</i> .....                                                              | 28 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                 |                                                                                                                      |    |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1:</b> | Relaciones LS:EV para el ensayo BMP y la temperatura de pirólisis para la producción de biocarbón.....               | 11 |
| <b>Tabla 2:</b> | Características fisicoquímicas de los materiales orgánicos: lactosuero y estiércol vacuno.....                       | 16 |
| <b>Tabla 3:</b> | Caracterización fisicoquímica del biocarbón de <i>G.angustifolia</i> sintetizado a dos diferentes temperaturas ..... | 16 |
| <b>Tabla 4:</b> | Valores de pH y conductividad eléctrica de los digestatos antes y después del ensayo BMP .....                       | 19 |
| <b>Tabla 5:</b> | Sólidos totales, sólidos volátiles y metano acumulado de los ensayos BMP.....                                        | 20 |
| <b>Tabla 6:</b> | Número de especímenes de <i>R.sativus</i> involucrados en cada etapa del desarrollo vegetativo.....                  | 25 |
| <b>Tabla 7:</b> | Características del crecimiento de <i>R.sativus</i> influenciadas por la aplicación del digestato.....               | 27 |

## RESUMEN

El estudio del efecto de aditivos en la digestión anaerobia se ha centrado en el biogás, invisibilizando al digestato y sus potenciales aplicaciones. Uno de estos aditivos es el biocarbón, el cual se ha usado en la digestión anaerobia con la finalidad de aumentar la producción de metano. Asimismo, ha ganado relevancia en la agronomía por su alta potencialidad para fertilizar el suelo. En este estudio, se analizó la influencia del biocarbón de guadua (*Guadua angustifolia*) en la monodigestión de estiércol vacuno y la codigestión lactosuero:estiércol. De igual manera, como los digestatos enriquecidos afectan al crecimiento y germinación de *Raphanus sativus*. Se llevó a cabo un ensayo BMP para ambas digestiones, donde se añadió biocarbón sintetizado por pirólisis a 300°C (BC3) y 700°C (BC7). Como referencia se contó con un ensayo sin aditivos y otro con guadua. Se caracterizaron los digestatos obtenidos y fueron empleados en un ensayo de fitotoxicidad con semillas de rábano (*Raphanus sativus*) y finalmente fueron aplicados en un suelo agrícola. En el caso de la monodigestión de estiércol vacuno (EV) el ensayo que contó con guadua tuvo la más alta producción de metano con 314,42 ml CH<sub>4</sub>/gSV. Por otro lado, la adición de BC3 y BC7 en la codigestión tuvo una producción de metano de 55,50 y 73,33 ml CH<sub>4</sub>/gSV, respectivamente. La presencia de biocarbón disminuyó la fitotoxicidad de los digestatos, lo que se evidenció en el incremento del índice de germinación entre el 40-50%. Mientras tanto, en el desarrollo vegetativo de *R. sativus* se notó un incremento del 99-103% en las cualidades físicas como longitud de raíz, tallos, hojas y diámetro de la raíz.

**Palabras claves:** biocarbón, codigestión anaerobia, digestatos, fitotoxicidad, lactosuero.

## ABSTRACT

The study of the effect of additives on anaerobic digestion has focused on biogas, overshadowing digestate and its potential applications. One of these additives is biochar, which has been used in anaerobic digestion to increase methane production. Additionally, it has gained significance in agronomy due to its high potential for soil fertilization. In this study, the influence of guadua bamboo biochar (*Guadua angustifolia*) was analyzed in the monodigestion of cattle manure and the co-digestion of whey:cattle manure. Similarly, the effect of enriched digestates on the growth and germination of *Raphanus sativus* was examined. A biochemical methane potential (BMP) assay was conducted for both digestions, in which biochar synthesized through pyrolysis at 300°C (BC3) and 700°C (BC7) was added. As a reference, assays without additives and with guadua were included. The obtained digestates were characterized and used in a phytotoxicity test with radish (*Raphanus sativus*) seeds, and ultimately applied to agricultural soil. In the case of monodigestion of cattle manure (CM), the assay with guadua had the highest methane production at 314.42 ml CH<sub>4</sub>/gVS. On the other hand, the addition of BC3 and BC7 in co-digestion resulted in methane production of 55.50 and 73.33 ml CH<sub>4</sub>/gVS, respectively. The presence of biochar reduced the phytotoxicity of the digestates, as evidenced by an increase in germination index between 40-50%. Meanwhile, in the vegetative development of *R. sativus*, a 99-103% increase was observed in physical attributes such as root length, stems, leaves, and root diameter.

**Keywords:** anaerobic digestion, cheese whey, biochar, digestate, phytotoxicity

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **1.1 Antecedentes**

En Latinoamérica la actividad agropecuaria es una de las actividades de mayor interés económico, causando un aumento de las zonas destinadas para este propósito [1,2]. De igual manera, las industrias relacionadas con esta actividad también han aumentado, como la producción láctea y quesera [3]. Ecuador también ha tenido el mismo crecimiento agropecuario, existiendo en la actualidad un consumo de 1.5 toneladas al año de productos lácteos, abastecida con 1,5 toneladas de producción nacional y 3 mil toneladas que son importadas [3,4].

Este incremento ha derivado en un alza del 25% en la densidad poblacional de ganado vacuno, dando un aumento en la cantidad de estiércol vacuno (EV) generado durante el ciclo de vida de un bovino [5]. Por otro lado, las industrias lácteas y queseras, en la producción de ciertos productos que se destinan al consumo humano, generan lactosuero (LS) como subproducto [5,6]. El LS es un elemento que representa, en volumen, el 90% de la leche empleada [7,8]. De igual manera, es considerado como un recurso de interés, el cual es rico en proteínas, carbohidratos y minerales, también a su vez requiere tratamiento para evitar cargas ambientales [1,7,9].

La digestión anaerobia (DA) emplea biodigestores, que representa una alternativa para tratar y aprovechar estos subproductos generados en la línea de producción en las industrias agropecuaria y láctea [10–12]. Estos biodigestores pueden variar en forma y tamaño dependiendo de la cantidad de desechos a tratar [13]. Asimismo, el tipo de digestor varía dependiendo de varios factores, entre los más destacables están: la presencia de sistemas de calefacción y/o agitación, el tiempo de retención (HRT, por sus siglas en inglés), presupuesto, temperatura, ambiente y fines investigativos [13]. Sin embargo, el más empleado en Latinoamérica es el biodigestor tubular de bajo costo, el cual se caracteriza por su forma cilíndrica alargada y que funciona de forma continua, trabajaba en condiciones psicrófilas y no requiere de sistemas activos de agitación ni calefacción [13,14].

Los principales productos de la DA son el biogás y el digestato [15]. El biogás es una mezcla de gases producida por la DA, y se distingue por tener un 50%-70% de metano,

40-20% de dióxido de carbono y otros, como el ácido sulfhídrico [13,15]. El metano generado en la DA es un combustible, el cual puede ser capturado y combustionado, siendo una alternativa sustentable al gas común [16,17]. Asimismo, el uso del biogás ayuda a la salud de las personas que cocinan con leña en espacios reducidos y no ventilados, evitando de esa manera las emisiones nocivas causadas por la cocina tradicional [17].

Por otro lado, el digestato es un efluente rico en nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), entre otros, estas características permiten usarlo como biofertilizante en la agricultura [13,18]. Este mismo llega a optimizar la productividad de los cultivos y de esa forma, en el contexto de América Latina, aportar a las comunidades rurales que se dedican al sector agrícola [18]. Actualmente, la mayoría de sistemas DA utilizan un sistema de monodigestión, es decir, sistemas que emplean una sola materia prima [19]. Sin embargo, existen problemas sustanciales en este proceso de monodigestión, como la inestabilidad del propio digestor, la limitada disponibilidad de ciertas materias primas, la presencia de metales pesados y comúnmente el bajo rendimiento de biogás/metano [20–22].

La codigestión anaerobia (COD) es una alternativa que ofrece la oportunidad de superar los inconvenientes de la monodigestión mediante la digestión simultánea de dos o más residuos [23]. Los principales beneficios de la codigestión incluyen una mayor estabilidad del sistema y mejor rendimiento de metano a través de los efectos sinérgicos de un consorcio microbiano más diverso [19]. Además, se ha mostrado que la aplicación de digestatos provenientes de codigestión como biofertilizantes mejoran la producción de cultivos [24]. Sin embargo, el digestato aún es producto en estudio, ya que ciertos sustratos ácidos tienden a generar toxicidad en semillas y cultivos [25]. En Sudamérica, una de las COD más estudiada es la que incluye el lactosuero (LS) y el estiércol vacuno (EV), estos residuos son utilizados con frecuencia por su alta disponibilidad en la zona y su fácil manejo [7].

Según Bella y Rao [26] (2021) la codigestión de LS y EV permite aumentar el rendimiento de la mezcla, ya que, presenta una buena sinergia, lo que permite potenciar la DA, a comparación de estos sustratos digeridos de forma independiente. El LS contiene un importante contenido de macronutrientes como lactosa, proteínas, materia orgánica, minerales y lípidos [27,28]. Por esa razón, el LS tiene una alta potencialidad para ser biodegradado, ya que se lo puede aprovechar en un 99% [27]. Estas

características hacen que el LS sea un adecuado sustrato para los consorcios generadores de metano [14]. Por otro lado, el EV se caracteriza por su alta alcalinidad, aporta una diversa comunidad microbiana y complementa su aporte a la digestión con nutrientes y oligoelementos que ayudan al crecimiento de bacterias [2].

Jaimes-Estévez *et al.* [2] en 2022, plantea a escala laboratorio diferentes relaciones entre LS y EV, para la codigestión. Es así que se llegó a la relación 70:30 de LS frente a EV, en base a los sólidos volátiles (VS), la cual dio paso a la estabilización y optimización del proceso de DA. Asimismo, Jaimes-Estévez *et al.* [29] previamente, en un digestor tubular de 8 m<sup>3</sup> a 25 °C con una COD de LS:EV (70:30), en el cual obtuvieron potenciales de metano que se encontraban entre 0.33 y 0.44 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg SV y un tiempo de retención de 69 días. A pesar de estos hallazgos, existen aún limitaciones, como la disminución del rendimiento de metano a partir del LS y la posterior inhibición de la reducción de COD [14,20]. Para minimizar estas limitaciones, ciertos estudios recientes han empezado a centrarse en complementar el sistema de digestión con aditivos, como enzimas, nutrientes y soportes para la adhesión de microorganismos [19,30]. Uno de estos aditivos es el biocarbón (BC), el cual ha ganado popularidad por ser un material rentable [31,32].

El BC, es un típico producto sólido rico en carbono, se genera termoquímicamente a partir de biomasa residual, como residuos leñosos, residuos agrícolas, desechos domésticos, entre otros [33]. El BC presenta varias ventajas sobre otros aditivos, se puede producir con una amplia variedad de propiedades fisicoquímicas de la pirólisis y también el proceso de su activación [34].

Varios autores confirman la posibilidad de aumentar la producción de metano mediante la adición de BC, mostrando diferentes mecanismos en los que intervendría el BC: aumento de la capacidad amortiguadora del sistema de DA [34,35], mitigación de agentes inhibidores [36], soporte para la movilización de la biomasa [37] y mejora del biogás [38]. Por otro lado, se ha observado que el BC mejora su calidad cuando de nutrientes se trata, también hay un aumento de la relación carbono-nitrógeno y la disminución de la lixiviación de nutrientes [39]. Como resultado, no es necesario separar el BC del digestato una vez finalizada la DA [40].

El tipo de materia prima para elaborar el BC es un factor que influye en el rendimiento y las características del BC generado [41,42]. La biomasa de origen vegetal, como

residuos leñosos, residuos de jardinería y residuos agrícolas, tienen un mayor rendimiento de producción de BC a altas temperaturas, también presentan un contenido mayor de carbono [43]. Pero esta biomasa vegetal tiene poco contenido de cenizas y un valor de pH menos elevado en comparación con el BC derivado de biomasa no vegetal [44]. La biomasa no vegetal, como estiércol de animal y lodos depurados al tener un menor poder calorífico, presentan más cantidad de ceniza y un valor de pH mucho más elevado [45].

En los últimos años, se han estudiado varios recursos de biomasa residual para la producción de BC, como las plumas de pollo [46], las hojas de plátano [47], la cáscara de arroz [48], paja de trigo [39] y desechos de bambú [49]. Este último ha ganado cierta importancia por la importancia de *Guadua angustifolia*, la cual es una especie de bambú endémico de ciertos países sudamericanos [50]. Este material ha sido ampliamente utilizado en la construcción y varias industrias [50]. Sin embargo, estas actividades solo emplean el 20%-30% y el resto es desechado por las empresas [51].

Últimamente, el biocarbón ha ganado cierta importancia en la agronomía, esto debido a su alta potencialidad para mejorar la fertilidad del suelo y la productividad agrícola [52]. La composición química heterogénea del biocarbón sugiere que este influye en las características del suelo [53,54]. Varios autores han llevado investigaciones con biocarbón [55,56], con la finalidad de mejorar la calidad de varias especies vegetales. Asimismo, el biocarbón en la agronomía en los últimos años se ha enfocado en el encapsulamiento del BC [57], la co-pirólisis [58], modificación del BC por métodos físicos [59,60] y en métodos de aplicación del BC [61,62].

## **1.2 Planteamiento del problema**

En los últimos años, la contaminación por LS y EV ha aumentado en el Ecuador. Por un lado, la comercialización de LS en Ecuador está permitida para 94 empresas, que representan el 0,09% del total de micro y macro empresas que manufacturan productos lácteos a nivel nacional [63]. Esto ha generado que las empresas que no puedan comercializar LS opten por desecharlo al medio ambiente, contaminando así ríos y suelos [63]. Asimismo, las grandes cantidades de estiércol que se generan por la elevada cantidad de ganado existente, lo que dificulta el manejo de este residuo por métodos tradicionales como compostaje [64].



La DA ha dado soluciones parciales para tratar estos contaminantes de la industria agropecuaria del Ecuador [65]. Por un lado, se ha logrado usar el estiércol vacuno en la monodigestión generando una alternativa de tratamiento, pero el problema radica en el agua que se emplea para esta monodigestión, ya que se usan altas proporciones de esta. Asimismo, el LS presenta complicaciones en el proceso de DA, puesto que tiende a acidificarse rápidamente. Sin embargo, en los últimos años se ha dado un enfoque en el uso de biocarbón como aditivo en el proceso de DA, siendo esta una posible solución al problema mencionado [66].

Al mismo tiempo, la codigestión de ambos sustratos (LS y EV) ha logrado respuestas positivas a problemáticas específicas que presenta la digestión de manera independiente [19,65]. No obstante, la mayoría de las investigaciones están direccionados a la producción de biogás/metano, invisibilizando al digestato y sus potenciales aplicaciones agrícolas. Por esa razón, es importante estudiar la aplicación de nuevos aditivos, como el biocarbón de *G.angustifolia* en el proceso de DA, con la finalidad de evaluar su efecto en la calidad del digestato y su potencial uso como biofertilizante.

### **1.3 Justificación de la investigación**

Las proyecciones indican un aumento de la producción lechera y ganadera en Ecuador, lo que provocará una mayor contaminación de las fuentes de agua para consumo humano [67]. Las investigaciones de Jaimes-Estévez *et al.* [2], Chiappero *et al.* [34], Madrigal *et al.* [68], y Fagbohunge *et al.* [15], sugieren que el biocarbón como aditivo puede mejorar las características fisicoquímicas de los productos de la DA al mejorar la transferencia de electrones entre acetógenos y metanógenos. Además, la adición de biocarbón mejora la actividad microbiana en la monodigestión de VE, lo que conduce a una mejor producción de metano y al enriquecimiento del digestato [65].

Estas investigaciones han proporcionado soluciones a estos contaminantes y también han proporcionado referencias numéricas sobre la cantidad de materia prima necesaria para llevar a cabo una investigación en laboratorio y campo. Sin embargo, es necesario estudiar el efecto de estas materias primas en la eficiencia del proceso.

Esto permitiría obtener una referencia investigativa de cómo la presencia de biocarbón afecta a la DA y cómo este interactúa en los suelos agrícolas. A su vez, es importante

conocer como el BC interactúa con los sustratos seleccionados durante una monodigestión y una codigestión, para de esa forma tener una referencia comparativa de la dinámica del BC en estos procesos [69]. Por otro lado, con la presente investigación se podrá conocer cómo actúa el digestato enriquecido con BC al entrar en contacto con un suelo destinado a la agricultura y a cultivos de interés comercial. Finalmente, esta información es de relevancia para proyectos enfocados en tratar estas biomásas residuales a gran escala con el uso de biodigestores.

## **1.4 Objetivos de la investigación**

### **1.4.1 General**

Analizar la influencia de la adición de biocarbón de *Guadua angustifolia* en la digestión anaerobia de lactosuero y estiércol vacuno para la producción de biogás y digestato.

### **1.4.2 Específicos**

- Sintetizar biocarbón de *Guadua angustifolia* mediante pirólisis lenta a dos diferentes temperaturas, 300°C y 700°C.
- Comparar el efecto del biocarbón en la producción de biogás y la calidad del digestato de la monodigestión de estiércol vacuno y la codigestión de lactosuero con estiércol vacuno mediante un ensayo de potencial bioquímico de metano.
- Evaluar la influencia del biocarbón de *Guadua angustifolia* sobre digestatos a través de un ensayo de fitotoxicidad y desarrollo vegetal en *Raphanus sativus*.

## **CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO**

La metodología se llevó a cabo en dos etapas, la primera etapa consta del proceso de digestión anaerobia, en la cual se realizó una monodigestión de EV y una codigestión de LS y EV, en estos dos tipos de ensayos se adicionó biocarbón. Sin embargo, previo a esta etapa, se realizó la caracterización de los sustratos utilizados y del biocarbón. Posteriormente, para la segunda etapa, se emplearon los digestatos obtenidos, en un ensayo de germinación y en el crecimiento de semillas de *R.sativus*.

## **2.1 Recolección de biomasa**

El lactosuero y el estiércol fueron recolectados en la ciudad de Carchi, Ecuador (0.7461827324104952, -77.70615774645724). Para el transporte de las muestras se utilizaron bidones de plástico de 20 L, uno para el lactosuero y otro para el estiércol, estos fueron llevados a las instalaciones de Ikiam, ubicadas en Napo, Ecuador. En la presente investigación se usó el lactosuero y el estiércol provenientes del ganado manejado en la hacienda “Troya”, en los corrales 1 y 2.

## **2.2 Caracterización de muestras**

### ***2.2.1 Caracterización de lactosuero y estiércol vacuno***

#### ***2.2.1.1 Análisis de sólidos totales***

Previo al ensayo de ST, se prepararon 6 crisoles de 30 ml, los cuales se introdujeron en una estufa Thermo Scientific Heratherm OGS60 a 105 °C durante una hora. Una vez finalizado ese tiempo, se depositó los crisoles en un desecador durante 40 minutos, para registrar los pesos mediante una balanza analítica RADWAG AS60/220.R2 de los crisoles vacíos. Se agregó 25 ml de estiércol vacuno en 3 crisoles y 25 ml de lactosuero en los 3 restantes. Los crisoles con las muestras fueron pesados y se introdujeron en la estufa a 105 °C por 24 h. Al finalizar este proceso en la estufa, los crisoles se pasaron al desecador por 40 min, para posteriormente ser pesados (método 2540B, [70]). La cantidad de sólidos totales presente en las muestras se calculó usando la Ecuación 1.

$$\text{Sólidos totales } \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{C-A}{B-A} \quad (1)$$

Donde, A es el peso del crisol vacío, B es el peso del crisol con la muestra a temperatura ambiente y C es el peso del crisol con la muestra seca. Estos valores se registraron en gramos (g).

#### *2.2.1.2 Análisis de sólidos volátiles.*

Para este análisis se usaron los crisoles con las muestras secas obtenidas en el proceso anterior (2.2.1.1.). Se empleó la mufla JP Selecta 2200854 a una temperatura de 550 °C con una rampa de calentamiento de 20 °C/min para calcinar las muestras, esta fue programada con un tiempo de mantenimiento de 30 min. Después de finalizar el proceso de calcinación se colocaron los crisoles con muestra calcinada en un desecador durante 30 min. El desecador se cerró parcialmente durante 10 min para evitar que la tapa rebote por el efecto del aire caliente. Este proceso se repitió varias veces hasta obtener un peso constante, es decir, el peso del final debía tener una diferencia menor a 0,1 mg (método 2540E, [70]).

La cantidad de sólidos volátiles se calculó mediante la Ecuación 2.

$$\text{Sólidos volátiles} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{C-D}{B-A} \quad (2)$$

Donde D es el peso del crisol con la muestra calcinada.

#### *2.2.1.3 Análisis de ácidos grasos volátiles y alcalinidad*

Los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad total se determinaron empleando la metodología de Anderson y Yang [71]. Se centrifugó 15 ml de cada sustrato a 5000 rpm por 30 min en tubos Falcon de 50 ml. Este paso se realizó por triplicado para garantizar una medición adecuada. Se colocó 5 ml del sobrenadante en un vaso de precipitación para la posterior medición de pH.

A este volumen de los sobrenadantes, se le adicionó 25 ml de agua destilada y se homogenizó empleando un agitador magnético. Se agregó HCl 0,1 N hasta alcanzar un pH de 6,5; posteriormente, mediante titulación con HCl 0,1 N se alcanzó un valor de pH igual a 3. Finalizado este proceso, se pasó la muestra a un balón de destilación y se calentó en la estufa hasta obtener una ligera ebullición por 2 min. Finalmente, se sometió al balón de destilación a un choque térmico, se registró el pH y se colocó la muestra a agitar. Simultáneamente, se añadió gradualmente NaOH 0,1 N hasta conseguir un pH de 6,5. Para hallar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad (AT), se usaron las Ecuaciones 3 y 4, respectivamente:

$$AT(\text{mg CaCO}_3/\text{L}) = \frac{A \cdot N \text{ HCl}}{\text{Vol. muestra}} * 50000 \quad (3)$$

En donde:

A es el volumen de HCl utilizado; N HCl en este caso corresponde a 0,1; mientras que el Vol. muestra corresponde a 5ml.

$$AGV(\text{mg Ac. Acético/L}) = \frac{B \cdot N \text{ NaOH}}{\text{Vol.muestra}} * 60000 \quad (4)$$

En donde:

B es el volumen que se usó de NaOH para aumentar el pH de la muestra y N NaOH es 0,1.

#### **2.2.1.4 Medición de pH y conductividad**

El pH y la conductividad eléctrica se determinaron utilizando el multiparámetro Thermo Scientific Orion Star A325. El mismo que se calibró con una solución buffer de pH 7 y una solución estándar con una conductividad de 1413  $\mu\text{S}/\text{cm}$  como límite mínimo y 12300  $\mu\text{S}/\text{cm}$  como límite máximo. Se procuró sumergir los electrodos en su totalidad para la medición de pH y conductividad de las muestras de cada sustrato.

#### **2.2.2 Producción del biocarbón**

Las temperaturas de pirólisis fueron planteadas según la investigación de Nanda *et al.* [31], en la cual indica que estas temperaturas son la mínima y máxima en la que se opera cuando se trata de una pirólisis lenta como la planteada en esta investigación. Se utilizó *G.angustifolia* como biomasa para la elaboración de biocarbón. Se usaron 10 crisoles de 30 ml, para los cuales la guadua fue cortada en rectángulos de 2x1 cm para que puedan ser depositados en los crisoles y puedan ser tapados. Posteriormente, la guadua fue pirolizada a 300 °C durante 1 h en la mufla con una rampa de 5 °C/min [72]. Este mismo proceso se realizó para una temperatura de 700 °C. Una vez obtenido el biocarbón, se trituró a mano con un mortero y se tamizó con una malla de acero inoxidable de 250  $\mu\text{m}$  para obtener un tamaño de partícula uniforme. El biocarbón pirolizado a 300 °C se lo denominó BC3, mientras que, el biocarbón obtenido a 700 °C se lo denotó como BC7.

### **2.2.3 Caracterización del biocarbón**

#### **2.2.3.1 Contenido de cenizas**

Para este apartado se adaptó la metodología de Sluiter *et al.* [73]. En primer lugar, se tomaron 3 rectángulos de biocarbón por cada temperatura de pirolización, estos fueron colocados dentro de crisoles y fueron pesados con una balanza analítica. Se colocaron los crisoles en la mufla con una temperatura de 550 °C con tiempo de mantenimiento de 1 h. Una vez que el biocarbón se incineró, se retiró la muestra de la mufla y se la dejó enfriar en el desecador durante 30 min, posterior a esto se pesaron los crisoles. Este proceso se repitió hasta tener un peso constante como se detalla en el apartado 2.2.1.2. El porcentaje de cenizas se calculó con la Ecuación 5:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{F-E}{G-E} * 100 \quad (5)$$

Donde: F es el peso del crisol con las cenizas, E es el peso del crisol vacío y G es el peso del crisol más la muestra de biocarbón. Estos valores fueron reportados en g, mientras que la las cenizas en %.

#### **2.2.3.2 Medición de pH y conductividad**

En esta sección se siguió el procedimiento descrito por Pradhan *et al.* [72]. Se mezcló biocarbón con agua en una relación 1:5 en peso. Se mezcló con una varilla de agitación y se colocó en un agitador con una perla magnética durante 1 h. Se dejó reposar la mezcla por 20 min, se midió el pH y la conductividad con el multiparámetro. Este proceso se hizo por triplicado para los dos tipos de biocarbón (BC3 y BC7).

## **2.3 Digestión Anaerobia**

### **2.3.1 Ensayo de potencial bioquímico de metano (BMP)**

Las pruebas BMP se realizaron por triplicado en botellas de vidrio con tapa antiderrames de 500 ml, las cuales fueron incubadas a 30 °C. Las proporciones del sustrato (LS) y del co-sustrato (EV) para cada ensayo fueron 0:100 y 70:30 en base a los sólidos volátiles, esto según Jaimes-Estévez *et al.* [2]. En primer lugar, se preparó una mezcla madre de 900 ml considerando las relaciones establecidas y posteriormente se trasvasan 300 ml

a cada botella, para de esa forma dejar un espacio de cabeza del 40%. Posterior a eso se colocó el biocarbón en una relación 1:1 (p/p) según los gramos de sólidos volátiles. A continuación, se muestra en la Tabla 1 el resumen de las condiciones usadas en el ensayo de BMP. Asimismo, en la Figura 1 se da una muestra visual de los ensayos BMP.

**Tabla 1:** Relaciones LS:EV para el ensayo BMP y la temperatura de pirólisis para la producción de biocarbón

| ID    | Biomasa | Relación (en base a SV) | Material de soporte | Temperatura de pirólisis |
|-------|---------|-------------------------|---------------------|--------------------------|
| EGS   | H2O:EV  | 0:100                   | Guadua              | N/A                      |
| EBC3  | H2O:EV  | 0:100                   | Biocarbón           | 300°C                    |
| EBC7  | H2O:EV  | 0:100                   | Biocarbón           | 700°C                    |
| E     | H2O:EV  | 0:100                   | N/A                 | -                        |
| LEGS  | LS:EV   | 70:30                   | Guadua              | N/A                      |
| LEBC3 | LS:EV   | 70:30                   | Biocarbón           | 300°C                    |
| LEBC7 | LS:EV   | 70:30                   | Biocarbón           | 700°C                    |
| LE    | LS:EV   | 70:30                   | N/A                 | -                        |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

Las filas que presentan las siglas N/A hacen referencia a que se colocó guadua sin pirolizar los parámetros para su preparación fueron los mismos con los que se elaboró el BC (tamaño de partícula 250  $\mu$ m y relación 1:1 en base a los sólidos volátiles).

Por otro lado, se midió el pH y la conductividad de la muestra antes de colocar el biocarbón en cada botella y al final del ensayo BMP, esto se realizó utilizando el multiparámetro.

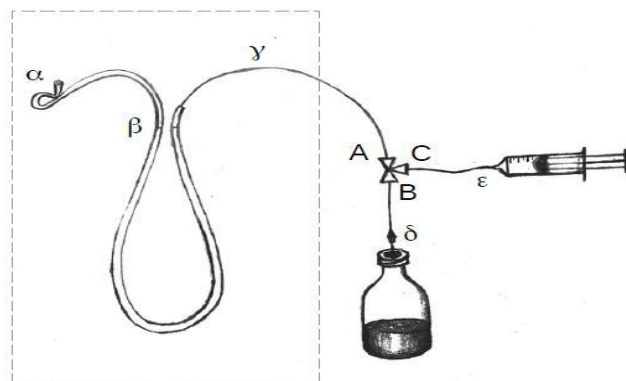


**Figura 1:** De izquierda a derecha botellas con los diferentes ensayos BMPs (EGS, EBC3, EBC7, E, LEGS, LEBC3, LEBC7, LE)

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

### 2.3.2 Medición de metano/biogás producido

Se utilizaron dos metodologías para medir la producción de metano/biogás. La primera metodología fue por gravimetría usando el método propuesto por Hafner *et al.* [74]. Para esto se empleó un manómetro en forma de U elaborado en el laboratorio (Figura 2) y una balanza Bidalli LS-HKD. La Figura 2 resume el sistema de Hafner *et al.*, para medir el biogás producido.



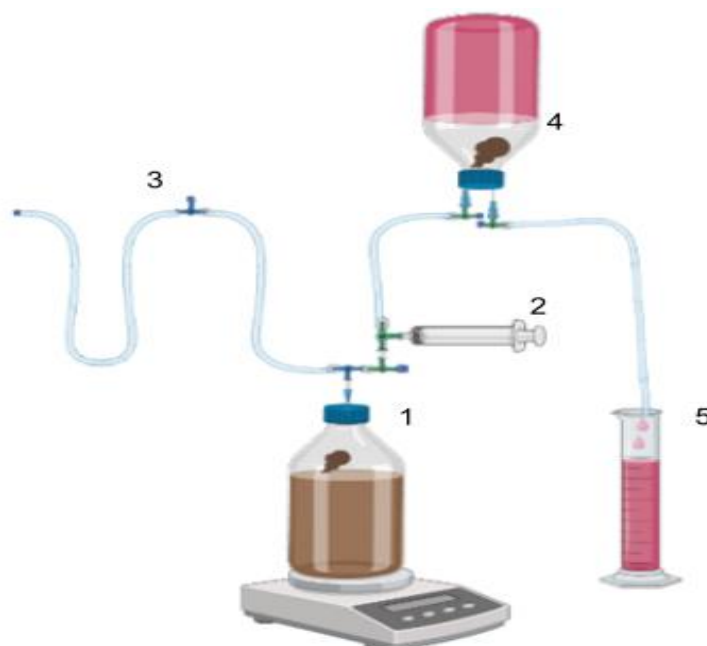
**Figura 2:** Diagrama simplificado del sistema de medición de biogás con un de manómetro en U

**Fuente:** Hafner *et al.*, 2021

Asimismo, el paso a paso para medir el volumen de biogás usando el manómetro en U fue el propuesto por Hafner *et al.* [74].

Por otro lado, la segunda metodología utilizada fue el desplazamiento alcalino el cual fue adaptado de Jaimes-Estévez *et al.* [2]. En la Figura 3 se muestra el sistema usado en la presente investigación. Se empieza pesando la botella que contiene la mezcla de sustratos (1). Posteriormente, el biogás es atrapado en la jeringa (2), este mismo se conectó al manómetro en forma de U (3), y una vez cuantificada la cantidad de biogás generado, este se inyectó a una solución de NaOH 0,1N (4), en la cual el CO<sub>2</sub> del biogás es absorbido y el volumen de metano que entra desplaza un volumen igual de la solución alcalina, el cual es medido en una probeta (5). Una vez obtenidos los datos, estos fueron normalizados a 0°C y 101,325 kPa.





**Figura 3:** Sistema de extracción de biogás para medición por gravimetría y desplazamiento alcalino  
**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

### 2.3.3 Frecuencia de muestreo

Se realizó un evento de muestreo cada día al inicio del ensayo y se fue reduciendo la frecuencia del muestreo a medida que la producción de biogás disminuyó, esta frecuencia se pasó a 2 o 3 días dependiendo de la cantidad de biogás que se produjo y el muestreo llegó a su fin cuando el volumen de biogás posterior a 3 días fue de <1% del total producido. Esto según lo recomendado por Hafner *et al.* [74].

### 2.3.4 Cálculos

Los cálculos para la obtención de metano se realizaron según el documento 204 de la colección de documentos de Hafner *et al.* [75], esta explica detalladamente las ecuaciones necesarias para el método BMP, los cuales permiten estandarizar los datos obtenidos a 0°C y 101,325 kPa.

## 2.4 Fitotoxicidad y desarrollo vegetativo

### 2.4.1 Experimentación a escala laboratorio

Para esta sección se empleó el procedimiento propuesto por Gerber *et al.* [76] para lo cual se expuso 20 semillas de rábano (*R. sativus*) a los diferentes digestatos obtenidos una vez finalizados los análisis BMP. Las semillas se colocaron en cajas Petri con papel filtro y se añadió 5 ml de digestato. Las cajas Petri fueron selladas durante 48 horas a 25 °C en oscuridad. Asimismo, se contó con grupo control, en el cual las semillas fueron expuestas únicamente a agua destilada. La proporción de germinación (PG), el índice de enraizamiento (IE) y el índice de germinación (IG) [77] se calcularon empleando las siguientes ecuaciones:

$$PG(\%) = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Total de semillas}} * 100 \quad (6)$$

$$IE(\%) = \frac{\text{Total acumulado de largo de raíces}}{\text{Total acumulado de largo de raíces control}} * 100 \quad (7)$$

$$IG(\%) = \frac{\text{Número de semillas germinadas} * \text{total acumulado de largo de raíces}}{\text{Número de semillas germinadas en grupo control} * \text{total acumulado de largo de raíces en el grupo control}} * 100 \quad (8)$$

El IE se usó para evaluar el éxito de la formación de raíces en las semillas que fueron expuestas a los digestatos obtenidos de los BMP. El PG nos brinda información del porcentaje de semillas que germinaron en un ensayo donde se emplearon sustancias que pueden alterar la germinación normal de las semillas. Finalmente, el IG evaluó la viabilidad y la eficiencia de la germinación de las semillas, considerando el acumulado de raíces y el número de semillas germinadas.

### 2.4.2 Experimentación en campo

Una vez finalizada el ensayo de germinación, las semillas germinadas fueron trasplantadas a recipientes redondos de plástico, los cuales se llenaron con tierra fértil y fueron expuestas a 10 ml de los digestatos diariamente. De igual forma, las semillas que sirvieron de control en el ensayo de germinación, fueron usadas como control en esta etapa y fueron expuestas a 10 ml de agua destilada. Las plantas estuvieron en estos recipientes hasta la aparición de cotiledones. Al momento de la aparición de las primeras plántulas, se trasplantaron a cajas de 30x40 cm y 20 cm de alto.

#### 2.4.2.1 *Trasplante*

Las plántulas fueron sacadas de los recipientes de plástico y se retiró la tierra de las raíces, cuando existió la aparición de las primeras hojas verdaderas. Posteriormente, se midió el largo del tallo y de las raíces. Asimismo, se hizo un control de calidad y las plántulas que presentaron daños en el tallo o marchitaron se descartaron. La tierra presente en los recipientes se colocó en las cajas y se mezclaron con nueva tierra. Luego las plántulas en buen estado fueron trasplantadas a las cajas, cuidando la integridad de la raíz y el tallo. En las nuevas cajas, se siguió con el mismo riego de 10 ml. Sin embargo, esta vez cada planta fue expuesta a 10 ml de digestato.

#### 2.4.2.2 *Evaluación de cosecha*

Cuando las plantas estuvieron listas para cosechar, fueron extraídas con cuidado de su lugar de siembra y se evaluaron los parámetros: peso fresco, longitud de raíz, diámetro del rábano, número de hojas, área foliar, altura de la planta y color del rábano.

### **CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS**

Los resultados de este estudio se dividen en tres fases. La fase 1 evaluó el efecto del BC en la monodigestión de EV y en la codigestión de EV y LS. Asimismo, se caracterizaron los sustratos, el BC y los digestatos, en estos últimos se evaluaron sus propiedades antes y después del ensayo BMP. La fase 2 exploró los efectos de los digestatos en la germinación de semillas de *R. sativus* y como estos afectaban al enraizamiento y crecimiento. Finalmente, la fase 3 probó el potencial de los digestatos para su uso como biofertilizante en suelos agrícolas.

#### **3.1 Caracterización de sustratos**

Los resultados de los análisis realizados a los sustratos se resumen en la Tabla 2 se presentan los promedios medidos de cada uno, esto debido a que se realizó por triplicado la cuantificación de cada uno de los parámetros. Por un lado, se evidenció que el lactosuero es ácido, por el pH de 4,31 y el estiércol usado en este estudio es ligeramente ácido por su proximidad a la escala 6. Asimismo, debido a que la

composición del LS en su mayoría es agua, la cantidad de ST y SV es inferior a las de EV. Esto cambia para los AGVs y la alcalinidad, por parte del LS hay una cantidad de 3600 mg CH<sub>3</sub>COOH/L y 4300 mg CaCO<sub>3</sub>/L, las cuales son mayores a comparación a los 2600 mg CH<sub>3</sub>COOH/L y 2100 mg CaCO<sub>3</sub>/L que presenta el EV.

**Tabla 2:** Características fisicoquímicas de los materiales orgánicos: lactosuero y estiércol vacuno

| Parámetro               | Unidades                  | Lactosuero | Estiércol vacuno |
|-------------------------|---------------------------|------------|------------------|
| pH                      | -                         | 4,31       | 6,61             |
| Sólidos totales         | g/L                       | 68,9       | 123,6            |
| Sólidos volátiles       | g/L                       | 52,8       | 83,2             |
| Conductividad eléctrica | ms/cm                     | 5,264      | 8,8              |
| Ácidos grasos volátiles | mg CH <sub>3</sub> COOH/L | 3600       | 2600             |
| Alcalinidad total       | mg CaCO <sub>3</sub> /L   | 4300       | 2100             |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

### 3.2 Caracterización del biocarbón

En la medición de parámetros, se evidencia una diferencia en el pH en el BC a diferentes temperaturas, siendo el BC a 300 °C (BC3) menos básico a comparación al de 700 °C (BC7), esto se nota en el pH del primero el cual es de 7,66 en comparación del 9,3 que presenta el BC7. Asimismo, en el contenido de ceniza es mayor en BC7, lo cual podría influenciar en el pH del mismo. De acuerdo a Nanda *et al.* [31], este comportamiento se debe a la presencia de compuestos alcalinos en las cenizas como carbonatos y óxidos metálicos, estos compuestos liberan iones hidróxido que aumentan el pH del BC [78]. La Tabla 3 muestra un resumen de lo previamente mencionado.

**Tabla 3:** Caracterización fisicoquímica del biocarbón de *G.angustifolia* sintetizado a dos diferentes temperaturas

| Parámetro                | Unidades | BC3  | BC7  |
|--------------------------|----------|------|------|
| Temperatura de pirólisis | °C       | 300  | 700  |
| Conductividad eléctrica  | ms/cm    | 5,45 | 6,38 |
| Ceniza                   | % (p/p)  | 4,3  | 5,7  |
| pH                       | -        | 7,66 | 9,3  |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

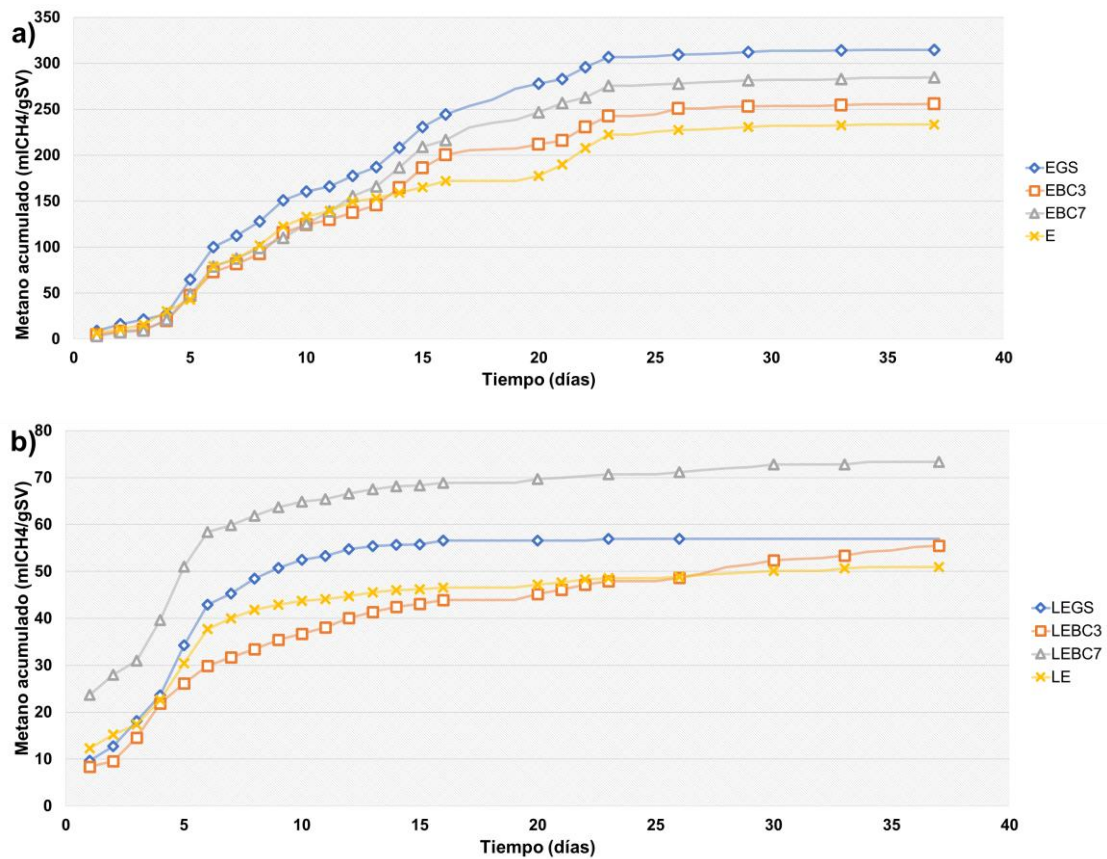
### **3.3 Ensayo de potencial bioquímico del metano (BMP)**

#### **3.3.1 Cuantificación de metano producido**

La producción de metano fue medida durante 37 días. En los cuales los primeros 16 días se tuvo una medición diaria del metano y a partir del día 17, la frecuencia del muestreo empezó a variar para los BMP que contenían LS y EV, ya que paso de una frecuencia diaria a tener una medición cada dos días y finalmente cada tres días. Sin embargo, el ensayo LEGS finalizó en el día 25, porque presentó una producción nula de metano.

No obstante, el ensayo LEBC3 a partir del día 26 presentó un ligero crecimiento del 3% en relación a la media de producción de metano que presentaba normalmente, por lo que se cambió la frecuencia de muestreo a cada dos días, hasta finalmente llegado el día 33, donde la producción tuvo un declive. Llegado a este punto el ensayo LEBC3 había superado al ensayo LE en metano acumulado. Así que llegado el día 37 se notó una mayor producción por parte del ensayo LEBC7 y LEBC3, los cuales acumularon 73,33 y 55,50 (mlCH<sub>4</sub>/gSV).

De manera similar, los BMP en los cuales se monodigestionaba EV tuvieron una producción de metano durante 37 días. Hasta del día 16 se hicieron medidas diarias de producción y a partir de este día se varió la frecuencia del muestreo cada 2 o 3 días, dependiendo de la producción de metano. Lo previamente mencionado se indica de manera gráfica en la Figura 4. Donde las leyendas representan lo siguiente: EGS (Estiércol + Guadua sin tratar); EBC3 (Estiércol + Biocarbón 300°C); EBC7 (Estiércol + Biocarbón 700°C); E (Estiércol); LEGS (Lactosuero + Estiércol + Guadua sin tratar); LEBC3 (Lactosuero + Estiércol + Biocarbón 300°C); LEBC7 (Lactosuero + Estiércol + Biocarbón 700°C); LE (Lactosuero + Estiércol).



**Figura 4:** a) Producción acumulada de metano de la monodigestión de EV, b) Producción acumulada de metano de la co-digestión de LS y EV.  
**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

### 3.3.2 Caracterización de digestatos

El pH y la conductividad eléctrica de los BMP se resumen en la Tabla 4, los BMP que contenían solo EV y estaban destinados a la monodigestión, presentaron en promedio un pH de 7,08, esto se debe a la presencia de agua en la solución que se realizó. Por otro lado, la conductividad eléctrica de los mismos se encuentra en un rango entre 5,100 y 5,425 ms/cm. De igual manera, el pH medido para los ensayos que contenían LS y EV, reflejaban un pH ligeramente ácido, ya que se promedió un pH de 5,80. El valor del pH se debe en su mayoría por el LS, el cual es moderadamente ácido. La conductividad eléctrica en todos los BMP de LS y EV son altas, por lo que en ese estado no son ideales para ser usados en suelos agrícolas, considerando que el rango ideal de conductividad va desde 2,300 a 4,100 ms/cm [69]. Sin embargo, los ensayos LEBC3 y LEBC7 presentan un rango aceptable para ser aplicados a suelo.

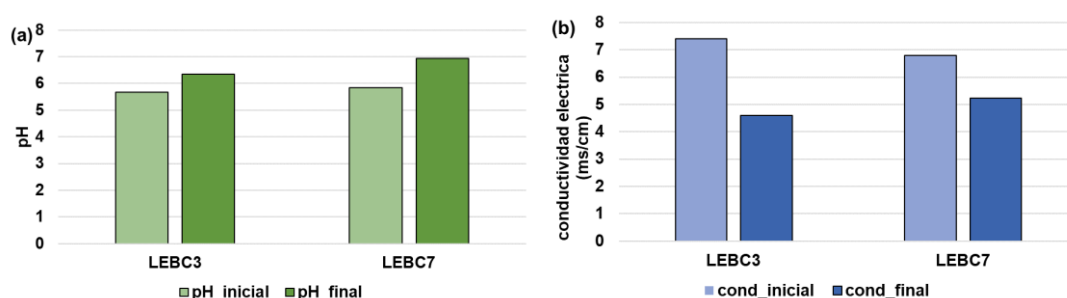
**Tabla 4:** Valores de pH y conductividad eléctrica de los digestatos antes y después del ensayo BMP

| ID    | pH     |       | Conductividad eléctrica (ms/cm) |       |
|-------|--------|-------|---------------------------------|-------|
|       | Inicio | Final | Inicio                          | Final |
| EGS   | 7,05   | 6,44  | 5,234                           | 3,599 |
| EBC3  | 6,94   | 6,52  | 5,422                           | 3,560 |
| EBC7  | 7,33   | 6,64  | 5,345                           | 3,604 |
| E     | 7,02   | 6,47  | 5,148                           | 3,502 |
| LEGS  | 5,87   | 3,63  | 7,159                           | 8,223 |
| LEBC3 | 5,67   | 6,34  | 7,412                           | 4,599 |
| LEBC7 | 5,85   | 6,94  | 6,791                           | 5,235 |
| LE    | 5,84   | 3,65  | 6,735                           | 8,523 |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

Una vez finalizada la monodigestión de EV y la codigestión de EV con LS, se determinó nuevamente el pH y conductividad eléctrica. Los BMPs que contenían EV presentaron un pH menor (6,40) en comparación a antes de la digestión (7,08). También ocurrió una disminución en la conductividad eléctrica, la cual paso de 5,250 a 3,566 en promedio.

Mientras tanto, los ensayos que contenían LS y EV presentaron dos escenarios diferentes. Por un lado, los BMPs que no contenían BC, disminuyeron su pH a un promedio de 3,64 y la conductividad eléctrica aumento a 8,300 ms/cm aproximadamente. Al contrario de lo que sucedió con los BMPs, LEBC3 y LEBC7 que, si contenían BC, los cuales aumentaron su pH a 6,94 y 6,34, respectivamente. Sin embargo, su conductividad eléctrica disminuyó a 4,599 ms/cm para el primero y 5,235 ms/cm para el segundo, tal y como se muestra en la Figura 5.



**Figura 5:** a) Comparación de pH inicial y final de los ensayos LEBC3 y LEBC7, b) Comparación de conductividad inicial y final de los ensayos LEBC3 y LEBC7

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

Con relación a los ST y SV, hubo una disminución en ambos casos. Como se muestra en la Tabla 5, la cantidad de ST disminuyó notoriamente a comparación de los ST que se analizaron previo al ensayo BMP. Esto se debe a que parte de estos sólidos se

convierten en biogás, lo que da a entender que la fracción sólida que queda son compuestos inorgánicos y elementos que no lograron degradarse durante el proceso de digestión anaerobia.

De igual manera, los sólidos volátiles disminuyeron después de la DA. Los SV en su mayoría consisten en materia orgánica biodegradable. La acción de los microorganismos genera esta materia biodegradable en biogás. De acuerdo a los resultados la disminución de SV fue de 65% en la mayoría de los ensayos. En estos ensayos los que contienen BC presentan las cantidades más pequeñas de SV, por un lado, los ensayos EBC3 y EBC7, presentan valores de 0,940 y 0,990 g/l. Mientras tanto, el mismo comportamiento presentan LEBC3 y LEBC7, con cantidades de 1,0009 y 1,0592 g/l, respectivamente.

**Tabla 5:** Sólidos totales, sólidos volátiles y metano acumulado de los ensayos BMP.

| ID    | ST(g/l) |       | SV(g/l) |       | % remoción SV | BMP (ml CH <sub>4</sub> /g SV) |
|-------|---------|-------|---------|-------|---------------|--------------------------------|
|       | Inicio  | final | inicio  | final |               |                                |
| EGS   | 5,23    | 4,61  | 2,36    | 1,01  | 57,02         | 314,42                         |
| EBC3  | 6,04    | 5,54  | 2,37    | 0,94  | 60,31         | 255,87                         |
| EBC7  | 6,32    | 5,73  | 2,40    | 0,99  | 58,73         | 284,52                         |
| E     | 6,23    | 5,53  | 2,40    | 1,86  | 22,32         | 233,33                         |
| LEGS  | 9,23    | 8,09  | 5,83    | 1,21  | 79,18         | 56,90                          |
| LEBC3 | 7,14    | 6,27  | 6,01    | 1,00  | 83,35         | 55,51                          |
| LEBC7 | 9,18    | 8,99  | 5,92    | 1,06  | 82,11         | 73,34                          |
| LE    | 7,93    | 7,03  | 6,00    | 1,07  | 82,12         | 50,97                          |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

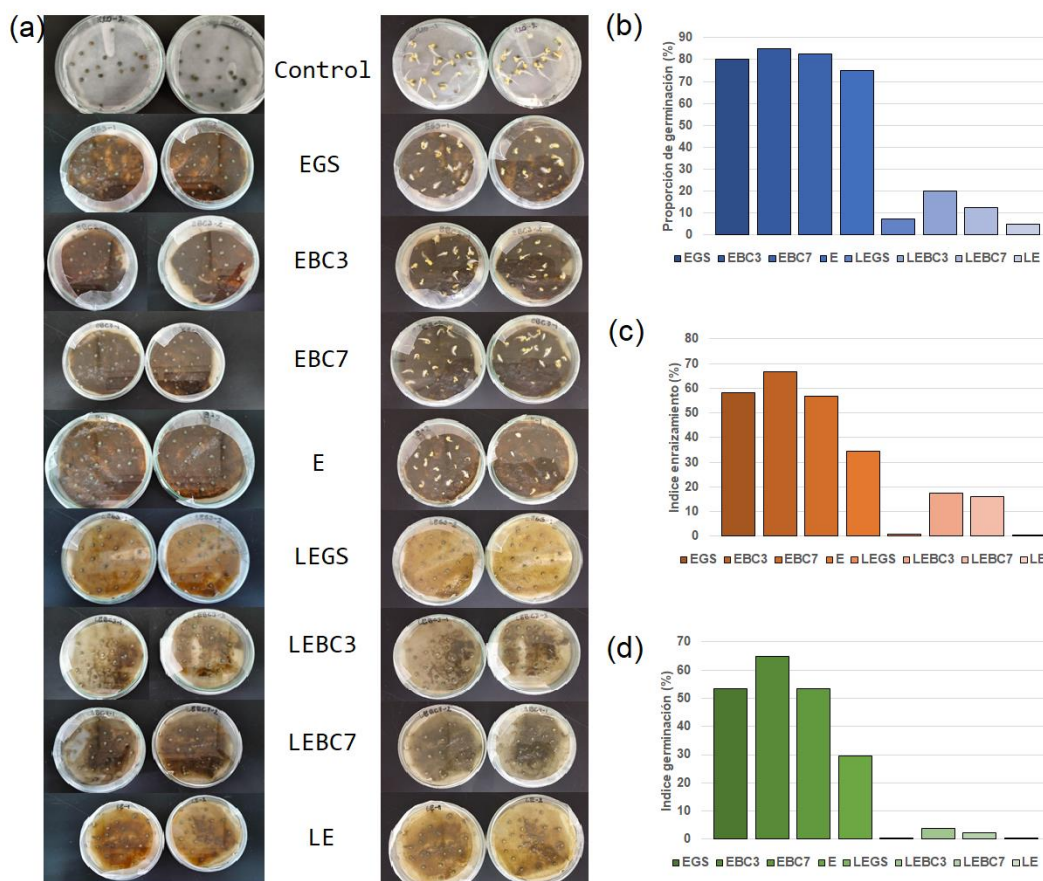
### 3.4 Prueba de fitotoxicidad

La prueba de fitotoxicidad brinda información sobre la posible toxicidad de las muestras de digestatos que afectan la germinación de semillas de diferentes cultivos [77]. Para eso se tomaron en cuenta varios parámetros como proporción de germinación (PG), índice de germinación (IG) e índice de enraizamiento (IE). Los radios de germinación de los BMP con EV fueron altos, todos presentaron una PG mayor al 70%. Los ensayos, EBC3 y EBC7, tuvieron los porcentajes más elevados, con una PG de 85% y 82,5%, respectivamente. En los ensayos con LS (LEGS, LEBC3, LEBC7 y LE), se obtuvieron porcentajes menores al 20%, siendo el ensayo LE el que presentó una PG de 5%. En presencia de BC (LEBC3 y LEBC7) obtuvieron porcentajes de 20% y 12,5%.



Por otra parte, los índices de enraizamiento obtenidos mostraron una semejanza a las tasas de germinación. Es decir, los ensayos con elevada tasa de germinación, también presentaron altos índices de enraizamiento. Sin embargo, el ensayo EBC7 fue la excepción, ya que obtuvo una PG de 82,5%, pero un IE de 56,72%, evidenciando una gran cantidad de semillas germinadas, pero que presentaban raíces cortas.

El índice de germinación muestra la capacidad de germinación de las semillas y su potencial de crecimiento. Los ensayos que contenían BC fueron los que mejores resultados obtuvieron, siendo nuevamente los ensayos EBC3 y EBC7 con un IG de 64,87% y 53,48%, los que presentaron una eficaz germinación. Sumando que estos ensayos presentaron un IE de 66,78% y 56,72%, se deduce que estas semillas son viables para el crecimiento. Finalmente, las semillas que fueron expuestas a los digestatos que contenían LS y EV combinados, presentaron los índices más pequeños. Pero de estos cuatro digestatos, los que contenían BC fueron los más elevados (LEBC3 y LEBC7), con un IE de 17,33% y 15,95%. Estos resultados, se resumen en la Figura 6.



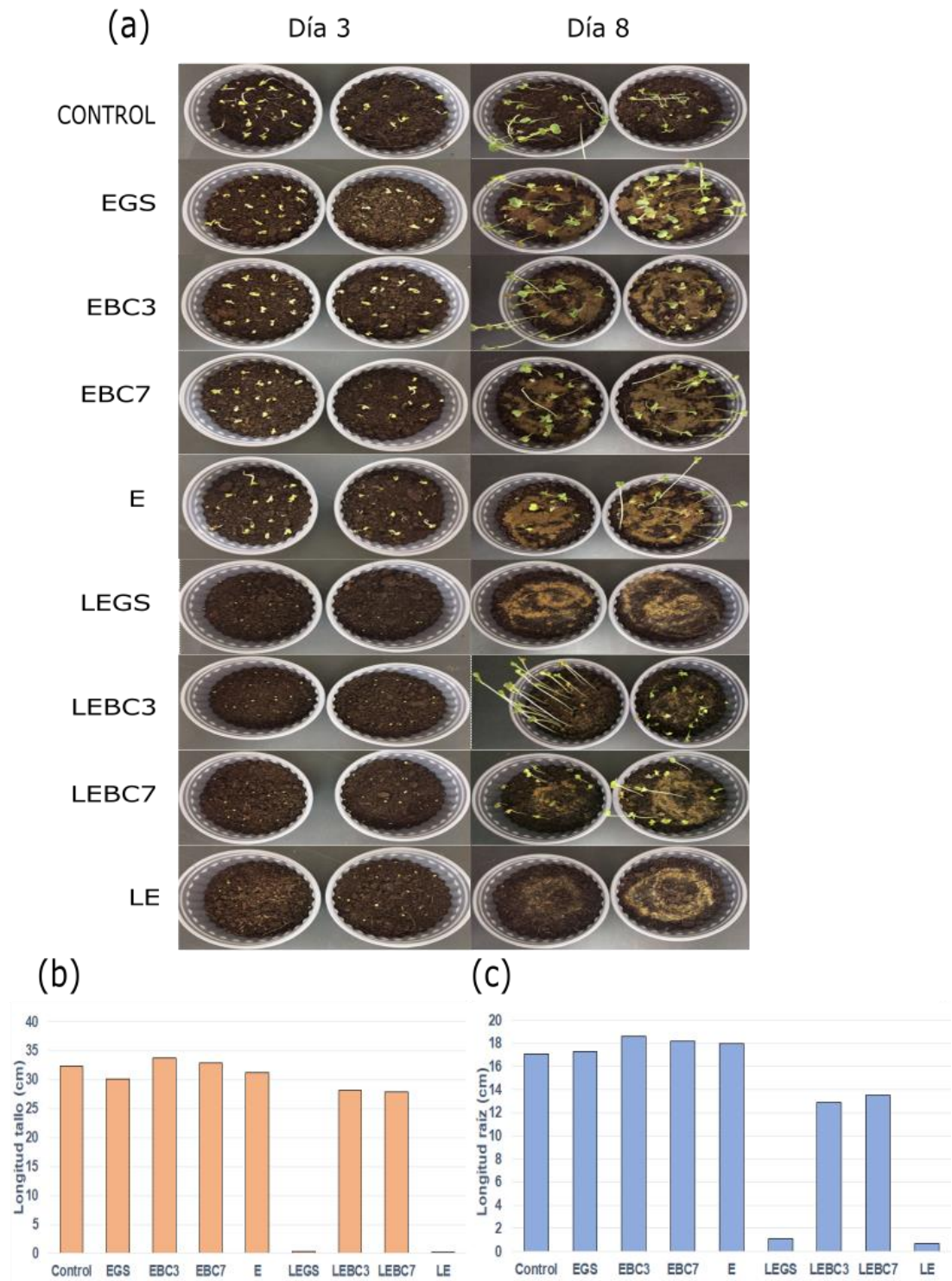
**Figura 6:** a) Fotografías de cajas petri con semillas y sus respectivos tratamientos, b) Proporción de germinación, c) Índice de enraizamiento, d) Índice de germinación  
**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

### 3.5 Desarrollo vegetativo

En este estudio, la mayoría de las semillas germinaron, después de 5 días de haber sido colocadas en tierra fértil. Por un lado, las semillas que fueron tratadas con los digestatos de LEBC3 y LEBC7, notaron una recuperación en la germinación, logrando alcanzar la germinación de 13 y 17 plántulas, respectivamente. Sin embargo, los ensayos LEGS y LE, presentaron una total inhibición de la germinación, ya que no se presentaba formación de plántulas ni de cotiledones, también se notó la formación de moho en ciertas semillas y en zonas donde se regaba el digestato. En el caso de las semillas que contaban solo con la presencia de EV, BC3 y BC7, mostraron un crecimiento y formación normal de plántulas y cotiledones. Se destacan los ensayos EBC3 y EBC7, los cuales presentaron ejemplares con mejor aspecto al de los demás ensayos y el control. Estas diferencias visuales se pueden notar en la Figura 7 apartado A.

### **3.5.1 Largo del tallo y raíz de plántulas**

Se evidenció una diferencia entre los tallos de las plántulas de cada uno de los ensayos. Siendo los ensayos EBC3, EBC7 y E, los que presentaron mejores longitudes. Por un lado, EBC3 presento un largo acumulado de 33,8 cm, superando al control, el cual tiene un largo acumulado de 32,4 cm. En cambio, las semillas que fueron expuestas a los ensayos LEGS y LE, tuvieron un crecimiento nulo, hubo ciertas semillas que presentaron raíces, pero estas no superaron ni 1 cm. Finalmente, el mismo fenómeno de crecimiento sucedió para las raíces, los mismos ensayos que presentaron tallos largos, mostraron raíces largas y frondosas. Siendo nuevamente las plántulas expuestas a EBC3 las que presentan el mejor total de longitud de raíces con 18,6 cm. Esta información se resume en la Figura 5 en los apartados B y C.



**Figura 7:** a) Fotografías de plántulas en suelo y con sus respectivos digestatos b) Largo del tallo medido, c) Largo de raíces de ejemplares tratados con digestatos  
**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

### 3.5.2 Cosecha

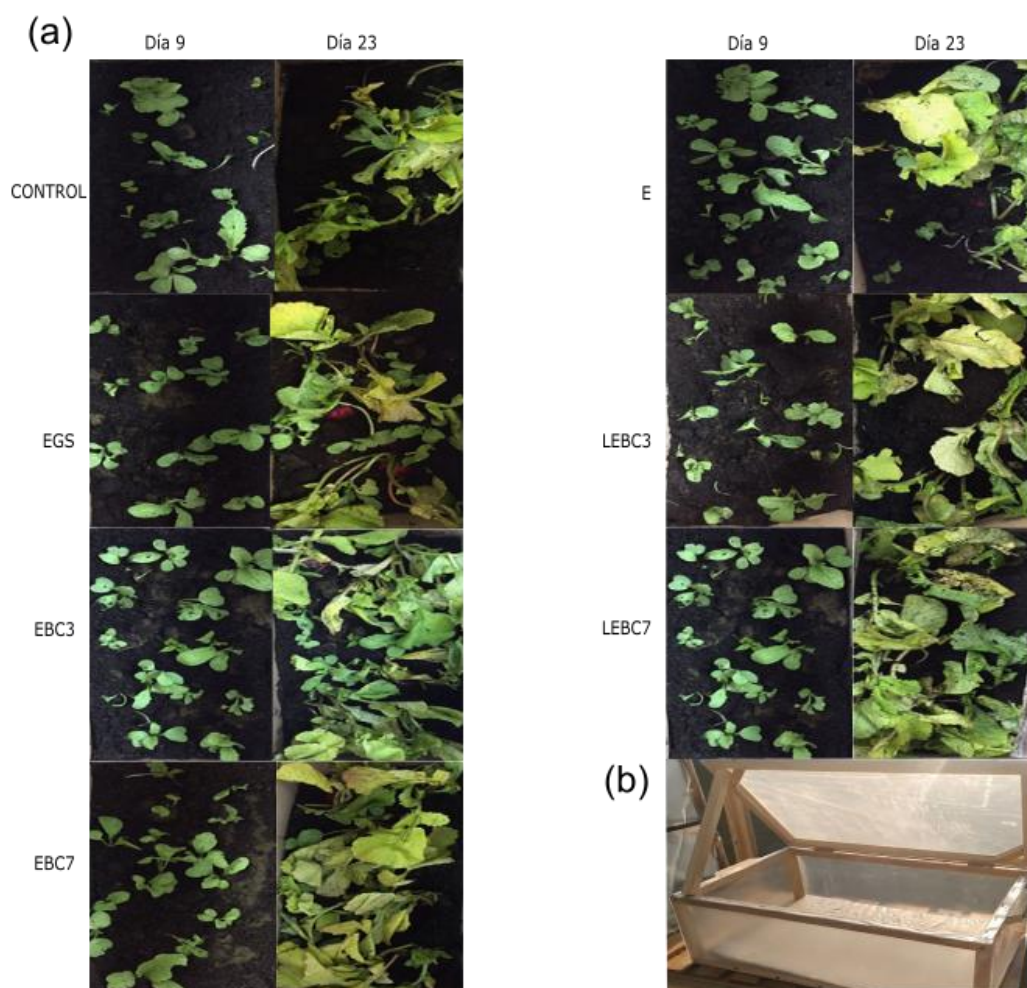
Después de 23 días, las plantas fueron cosechadas, ya que el rábano presentaba características de maduración. Se destaca que, en el transcurso del noveno al vigésimo tercer día, se descartaron ejemplares que presentaban marchitación o que mostraban señales de debilidad, lo que afecta a la viabilidad de su crecimiento. Esta acción no afectó a la población de cada ensayo, puesto que no fueron descartados más de 3 ejemplares por ensayo.

A simple vista se notaba diferencia en la frondosidad y cubierta vegetal que existía en cada caja. Siendo los ensayos control y EGS los que presentaban menos cantidad de materia vegetal a comparación de los ensayos que contenían BC, los cuales presentaban una mejor cubierta vegetal y daban un mejor aspecto visual. En la Figura 8, se nota esta diferencia visual que existió entre cada ensayo. Asimismo, en la Tabla 6 se puede observar el número de especímenes que estuvieron presentes en cada etapa del proceso, notando que algunas de las semillas germinadas no desarrollaron plántulas y en el caso de los ensayos LEGS y LE existió una inhibición del desarrollo.

**Tabla 6:** Número de especímenes de *R. sativus* involucrados en cada etapa del desarrollo vegetativo.

| ID      | Nº. Semillas | Nº. Semillas germinadas | Nº. Plantulas | Nº. Plantas desarrolladas |
|---------|--------------|-------------------------|---------------|---------------------------|
| Control | 40           | 35                      | 26            | 25                        |
| EGS     | 40           | 32                      | 24            | 24                        |
| EBC3    | 40           | 34                      | 24            | 23                        |
| EBC7    | 40           | 33                      | 28            | 26                        |
| E       | 40           | 30                      | 25            | 23                        |
| LEGS    | 40           | 3                       | 0             | 0                         |
| LEBC3   | 40           | 8                       | 12            | 10                        |
| LEBC7   | 40           | 5                       | 14            | 13                        |
| LE      | 40           | 2                       | 0             | 0                         |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023



**Figura 8:** a) Cajas con plantas de *R.sativus*, b) huerto usado para almacenar las cajas con plantas

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

Estas observaciones fueron verificadas con la caracterización fenotípica de la cosecha que se realizó una vez finalizado el proceso de crecimiento y maduración de los ejemplares de *R.sativus*. Donde se obtuvieron varios resultados. Por un lado, el ensayo EBC7, tal y como se muestra en la Figura 9, tuvo el mejor rendimiento en lo que respecta a largo de la raíz (L\_raíz), diámetro de la raíz (D\_raíz), longitud de hoja (L\_hoja) y largo del tallo (L\_tallo). Luego lo sigue EBC3 y EGS, los cuales presentaron hojas más grandes. Asimismo, LEBC7 tiene el segundo valor más elevado en la longitud de la raíz.

Como se muestra en la Figura 9, los ensayos que fueron expuestos a los digestatos provenientes de la monodigestión de EV, en general, tuvieron un óptimo rendimiento si tenemos como referencia al control. En cambio, los ensayos que contenían los digestatos de la codigestión de LS y EV, presentan las características menos favorables.



Sin embargo, al ser comparados con el control, se puede notar una cierta superioridad en las cuatro características evaluadas en la Figura 9.

Asimismo, se tomaron en cuenta otras características como el número de hojas (N\_hojas), peso, área foliar y la altura de la planta, teniendo esto en cuenta el ensayo EBC7 obtuvo los mejores valores, los cuales fueron  $12,83 \pm 3,13$ ,  $20,84 \pm 6,06$ ,  $27,00 \pm 7,71$  y  $25,88 \pm 2,28$ , respectivamente.

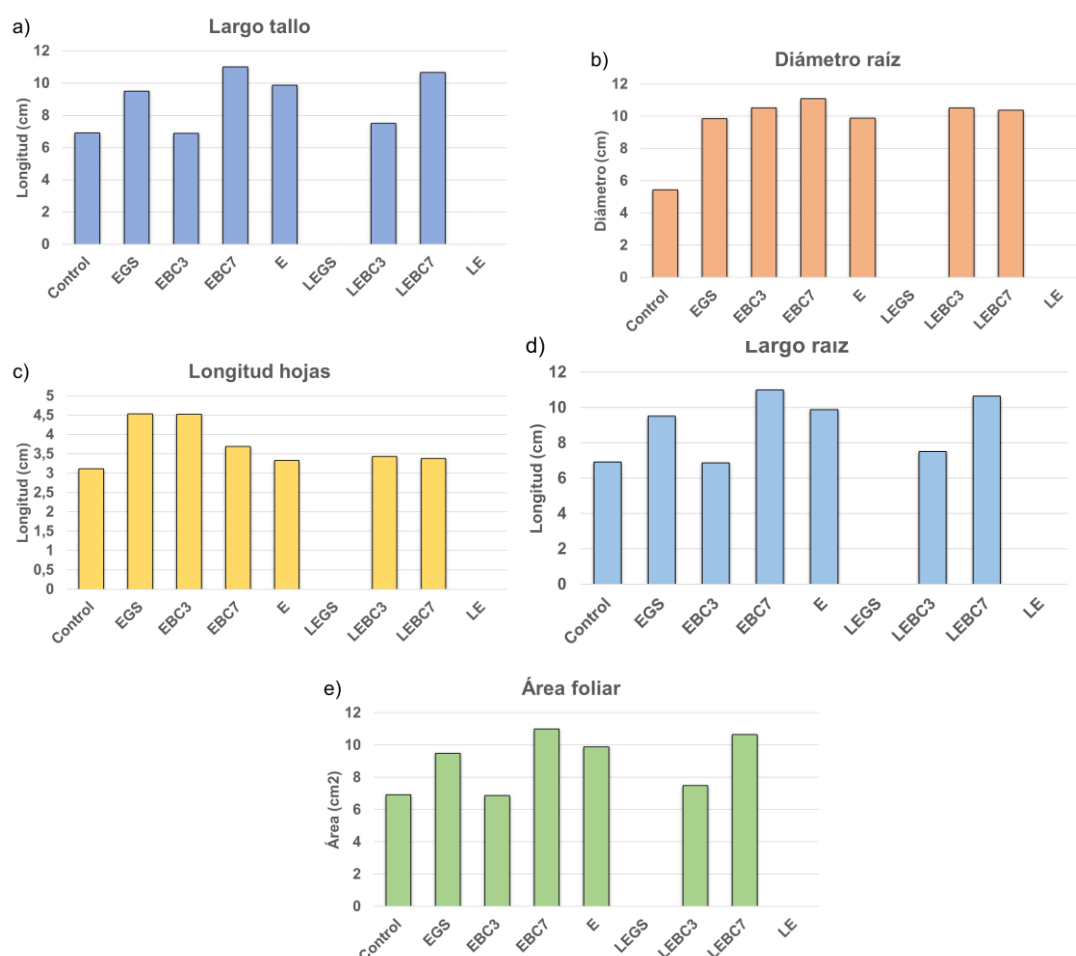
Por otro lado, en la Tabla 7 se vuelve a notar como EBC3 y EGS, son los ensayos que presentan mejores características después de EBC7, de esa manera mostrando una cierta eficiencia por parte de EBC7 en la obtención de mejores ejemplares de *R.sativus*. Del mismo modo, los ensayos LEBC3 y LEBC7, tuvieron las menos favorables características en comparación de sus homólogos que fueron expuestos a los digestatos de la monodigestión de EV. A pesar de estas condiciones desfavorables, siguen teniendo mejor rendimiento y mejores valores que el ensayo control.

Finalmente, los valores de LEGS y LE no fueron reportados, ya que estos ensayos presentaron una inhibición total del crecimiento y maduración de *R.sativus* posterior al ensayo de germinación, estos ensayos no desarrollaron plántulas y por ende no se dio el desarrollo de las mismas.

**Tabla 7:** Características del crecimiento de *R.sativus* influenciadas por la aplicación del digestato

| ID      | N_hojas          | Peso (g)         | Área foliar (cm <sup>2</sup> ) | A_planta (cm)    |
|---------|------------------|------------------|--------------------------------|------------------|
| Control | $8,80 \pm 5,45$  | $12,12 \pm 4,22$ | $16,25 \pm 4,67$               | $19,46 \pm 2,77$ |
| EGS     | $7,75 \pm 1,71$  | $14,75 \pm 4,84$ | $22,97 \pm 5,93$               | $20,38 \pm 1,80$ |
| EBC3    | $13,63 \pm 6,78$ | $17,68 \pm 7,57$ | $20,04 \pm 5,38$               | $20,66 \pm 4,63$ |
| EBC7    | $12,83 \pm 3,13$ | $20,84 \pm 6,06$ | $27,00 \pm 7,71$               | $25,88 \pm 2,28$ |
| E       | $12 \pm 5,61$    | $15,14 \pm 4,55$ | $25,16 \pm 6,09$               | $23,30 \pm 3,53$ |
| LEGS    | N/A              | N/A              | N/A                            | N/A              |
| LEBC3   | $5,50 \pm 0,58$  | $16,24 \pm 5,16$ | $22,94 \pm 9,04$               | $21,50 \pm 4,40$ |
| LEBC7   | $7,83 \pm 1,60$  | $15,46 \pm 4,65$ | $21,75 \pm 11,25$              | $22,18 \pm 5,91$ |
| LE      | N/A              | N/A              | N/A                            | N/A              |

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023



**Figura 9:** Efecto de la exposición a digestatos a características físicas de ejemplares de *R.sativus*

**Realizado por:** Calderón Andrés, 2023

## CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN

### 4.1 Caracterización de sustratos

Las características del LS dependen del tipo de productos lácteos generados, por ejemplo, la producción de queso fresco genera un LS de pH ácido (< 5) [79]. Como sustrato no es apto para la DA, por su alto nivel de lactosa que promueve el crecimiento de acidógenos, vinculado a la acumulación de AGVs y posteriormente la disminución del pH durante la DA [26,80]. En la Tabla 2 se evidencian las características del LS ácido, validado por Tirichine *et al.* [79], que tuvo inconvenientes al usar LS ácido en la DA, esto al no contar con un pretratamiento o ajuste de pH.



Por otro lado, los parámetros del EV son semejantes a los descritos por Kovacic *et al.* [81], y son los valores normales en el EV de un bovino. Según Wang *et al.* [82] la alimentación del ganado influye en el pH del EV, ya que ciertos alimentos como frutas cítricas y derivados lácteos como el mismo LS favorece la acidificación. El pH del EV reportado en este estudio es 6,61, el cual es ligeramente más bajo, por lo que se podría deber a la dieta del ganado.

## **4.2 Caracterización de biocarbón**

El BC en estudios como los de Tomczyk *et al.*, [83] y Kwak *et al.*, [78] aumenta su pH y conductividad eléctrica, de acuerdo al incremento de la temperatura de pirólisis. Según Kwak *et al.* [78] esto sucede por la baja cantidad de materia volátil presente en el BC después del proceso de pirólisis al que fue sometido la biomasa. Además, conforme aumenta la temperatura de pirólisis hay una mayor tendencia de acumulación de sales inorgánicas, carbonatos y álcalis inorgánicos [83]. Este mismo fenómeno ocurre en BC3 y BC7, en los cuales BC7 al ser pirolizado a mayor temperatura presenta un aumento en los parámetros presentados en la Tabla 3. Estas características del biocarbón permiten que sea usado en suelos agrícolas y en el mejoramiento de procesos como la DA [52,56].

Sin embargo, Samoraj *et al.* [25] reporta que el BC para ciertos cultivos como lechuga y tomate tiende a ser fitotóxico según la temperatura a la que fue pirolizado el BC. Es decir, el BC pirolizado a temperaturas mayores 600 °C es tóxico para la lechuga, mientras que BC elaborado a temperaturas menores a 400 °C se vuelve tóxico para el tomate. Los porcentajes de ceniza obtenidos en este estudio son levemente similares a lo descrito por Folgueras *et al.* [84], pero menores a los obtenidos por Fryda *et al.* [85]. Lo que según Folgueras *et al.* [84] son los porcentajes adecuados para que el biocarbón tenga una acción amortiguadora para la acidez de sustratos ácidos, como en este caso el lactosuero.

## **4.3 Ensayo del potencial bioquímico de metano**

### **4.3.1 Caracterización de digestatos**

La concentración final de ST y SV fue menor a la concentración inicial del ensayo BMP en un 57,20%. Estos resultados son similares a los reportados por Ivanchenko *et al.*

[86], el cual señala una disminución del 44% en SV al usar LS en un proceso de DA. Treu *et al.* [87] indica que esta disminución de SV es causada por el consorcio bacteriano proveniente del estiércol vacuno, ya que este consume estos SV para metabolizarlos en los diferentes gases generados en la DA, incluyendo el metano.

En relación con el pH, todos los ensayos de la monodigestión de EV presentaron una disminución de este. Según Alavi *et al.* [88], esto se debe a la acumulación de AGVs generados durante la DA. No obstante, los ensayos LEBC3 y LEBC7, presentaron un aumento de pH del 15% con relación al valor inicial. Nanda *et al.* [29], indica que características como el pH y las cenizas del BC apoyan a la estabilización de procesos de DA con sustratos ácidos, permitiendo de esa manera estabilizar el pH y evitar la acidificación del proceso.

#### **4.3.2 Producción de metano**

El BC funciona como soporte para metanógenos hidrogenotróficos, los cuales convierten el dióxido de carbono en metano, promueven la liberación de oligoelementos y mejoran la transferencia directa de electrones entre especies (DIET por sus siglas en inglés) [69,89–92].

En esta investigación, se usaron dos tipos de BC, uno elaborado a una temperatura de 300 °C (BC3) y el otro a 700 °C (BC7). Los ensayos en los que se adicionó BC a 300 °C, es decir, EBC3 y LEBC3, mostraron un aumento en la producción de metano de 9,79% y 9,17%. Por otro lado, los ensayos que contaban con la presencia de BC a 700 °C, aumentaron la producción de metano entre 18% y 31%. Estos porcentajes fueron obtenidos al comparar los resultados de los ensayos de BC con sus homólogos que no contenían material de soporte. Varios estudios [93–96] han mostrado este mismo comportamiento al comparar diferentes BC elaborados a distintas temperaturas. Siendo lo más común que el BC producido a mayor temperatura supere a su homólogo pirolizado a menor temperatura, esto debido a la alta porosidad, el área superficial, el porcentaje de ceniza y los compuestos aromáticos [72,73,78,89].

Al no existir homogenización las bacterias en la fase líquida, tienden a sedimentar adhiriéndose a la superficie interna de los recipientes, al agregar material de soporte, se aumenta la zona de adhesión y por ende se aumenta la presencia del consorcio bacteriano [13]. La adición de un material de soporte, como son anillos PET

provenientes de botellas plásticas, logra aumentar la producción de metano entre un 44-50% [97], por lo que añadir material de apoyo como botellas o guadua, en este caso, si aumenta la producción de metano [97–99].

Aunque los ensayos que contenían BC3 y BC7 obtuvieron un mejor rendimiento de metano en comparación a los ensayos que no contenían ningún aditivo (E y LE), el ensayo EGS presentó la mejor producción. La guadua sin tratar ayuda de mejor manera al proceso de DA, esto implica un potencial uso de restos de poda o restos de construcción en base a este material. Cabe recalcar que, esto solo sucedió en la monodigestión de EV, ya que la codigestión en el ensayo LEGS fue el primero en inhibirse, lo que desencadenó en la menor producción de metano.

Según lo planteado por Kumar *et al.* [100] esto posiblemente se debe al aumento del área disponible para que el consorcio microbiano se sujete. Asimismo, dependiendo del biomaterial que se use se obtiene una producción diferente de metano, tal y como lo muestra Qin *et al.* [101] al producir 194 mL g<sup>-1</sup> SV al usar paja de arroz como biomaterial, un valor bajo si es comparado con lo producido en este estudio. Sin embargo, Kumar *et al.* [100] recalca la idea de que este posible uso de biomaterial sin ser sintetizado en biocarbón solo es aprovechable siempre y cuando se digestione sustratos no ácidos, caso contrario al usar sustratos como LS ácido, aguas domesticas ácidas o residuos orgánicos cítricos, se dará una inhibición del sistema, semejante a lo ocurrido en este estudio con el ensayo LEGS.

#### 4.4 Germinación

El ensayo de germinación proporciona información sobre la potencialidad de un material como bioestimulante en cierto cultivo, también evalúa su posible toxicidad [102]. El uso de digestatos como biofertilizante ha sido probado en varias plantas como melón (*Cucumis melo L.*), espinaca (*Spinacia oleracea*), maíz (*Zea mays*) y tomate (*Solanum Lycopersicon*) [103–106]. En estos estudios se ha demostrado la efectividad del digestato proveniente de varios tipos de estiércol (incluido el vacuno), sobre el crecimiento de estas especies vegetales. La adición de BC también potencia de forma significativa el crecimiento de las plantas [107–109], aunque el BC elaborado a bajas temperaturas muestran cierta fitotoxicidad para ciertas especies [102]. Según Crespo *et al.* [102] el cultivo de rábano es el menos afectado por la fitotoxicidad del BC a temperaturas bajas y también este cultivo es el más beneficiado por la fitoestimulación

que el BC proporciona. En la presente investigación se obtuvieron índices de germinación de 64,87 % y 53,48%, para BC3 y BC7, estos valores son cercanos al de Crespo *et al.* [102], los cuales reportaron valores de 79,9% y 36,8%, esto al adicionar BC a 400 °C y BC a 600 °C a 10 semillas de *R.sativus*.

Por otro lado, los ensayos LEBC3 y LEBC7 no presentaron una germinación diferente de las semillas, a comparación de los que solo contenían EV y agua. Esto se debe a que el lactosuero inhibe esta germinación por la cantidad de AGVs, tal y como lo reporta Martins *et al.* [110], este mismo autor indica que la germinación de las semillas de *R.sativus* son sensibles a AGVs y pH ácidos.

Esta inhibición es visible en los ensayos LEGS y LE los cuales presentaron nula germinación, demostrando lo que menciona con anterioridad Martins *et al.* [110].

#### **4.5 Efecto de los digestatos en el crecimiento de *R.sativus***

La aplicación del digestato tiene un efecto estimulante en la descomposición de la materia orgánica del suelo, al proporcionarle una reserva adicional de nutrientes [81,111]. Teniendo esto en cuenta, la aplicación del digestato mejora los cultivos. En este estudio, los ensayos que contenían BC (BC3 y BC7) presentaron los mejores rendimientos en área foliar y la menor fitotoxicidad para *R.sativus*. Asimismo, las plántulas mostraron una mayor longitud de tallo y raíz respecto al control y los ensayos que no contenían BC.

El proceso de crecimiento de los cultivos con digestato ha sido poco estudiado en la amazonía ecuatoriana, especialmente para la aplicación en cultivos como de *R.sativus*. Actualmente, no se han llevado a cabo investigaciones que prueben el digestato de LS y EV enriquecido con BC en cultivos agrícolas, solo existe referencia bibliográfica que muestra como el digestato de LS sin enriquecer tiene potencial para ser usado como biofertilizante. Por un lado, Madrigal *et al.* [68] reportan que el digestato de LS y EV diluido en un 10% presenta mejor rendimiento como biofertilizante. Sin embargo, se deben evaluar los potenciales riesgos también, Kataki *et al.* [109] y Lv *et al.* [77] reportan que el uso de digestatos sin tratamiento es poco eficaz, por lo que es recomendable y emplear estabilizadores como biocarbón y carbón activado.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La temperatura de pirólisis a la que se sintetiza el biocarbón, es de importancia porque conforme esta se eleva, también aumentan los valores de las propiedades fisicoquímicas de este, como el pH y la conductividad eléctrica. Teniendo esto en cuenta, el biocarbón sintetizado a 700 °C es el más adecuado para la codigestión de lactosuero con estiércol vacuno, ya que disminuye la acidificación del proceso, esto debido a su alto pH y conductividad, como a su elevado porcentaje de ceniza.

La producción de metano es importante tomar en cuenta para conocer la estabilización y funcionamiento de la digestión, ya que una elevada producción de metano significa menor cantidad de AGVs presentes en el digestato. Por esa razón, se concluye que en un proceso de monodigestión de estiércol vacuno la adición de biocarbón como aditivo no es la mejor opción, sino solo agregando un biomaterial de soporte como *G. angustifolia* se puede aumentar la producción de metano. Sin embargo, al usar sustratos ácidos como el lactosuero en codigestión con estiércol vacuno, sí es necesario la adición de biocarbón para estabilizar el sistema de digestión y evitar la acidificación.

Por otra parte, los digestatos que cuentan con la presencia de lactosuero, estiércol vacuno y biocarbón pueden reemplazar potencialmente a fitoestimulantes químicos. Se pueden presentar problemas durante la germinación, cuando se aplica el digestato con biocarbón de forma directa a las semillas, como el bajo índice de germinación que presentaron los ensayos que contenían lactosuero. No obstante, este inconveniente es imperceptible al aplicar el digestato enriquecido con biocarbón en el suelo, logrando presentar un mejor rendimiento de crecimiento respecto al control. Lo que se evidencia con un crecimiento mayor entre 20-40% en aspectos morfológicos durante el crecimiento *R.sativus* como la raíz y el largo de tallo en las plántulas. Por lo que, si se busca la obtención de un digestato estimulador de cultivos, la mejor opción es la monodigestión de estiércol vacuno con biocarbón a 700 °C. Pero, si se plantea una forma de aprovechar residuos difíciles de manejar como el lactosuero, es mejor la codigestión, siempre y cuando exista un aditivo que contrarreste los inhibidores presentes en el lactosuero.

Esto lo evidenciamos, en las características fenotípicas cuantificadas en los ejemplares de *R.sativus*, ya que los ensayos que contenían biocarbón desarrollaron mejores

ejemplares a comparación del control. Aunque esta diferencia no es tan elevada, si genera un indicio de la viabilidad de los digestatos enriquecidos para ser usados en cultivos de interés comercial. Finalmente, se nota una diferencia en la interacción de los digestatos obtenidos de una monodigestión y los obtenidos de una codigestión, ya que en la monodigestión de EV la calidad de los digestatos no presenta tanta diferencia entre los que estaban enriquecidos y los que no. Suceso que no ocurre en la codigestión de LS y EV, ya que el biocarbón al funcionar como estabilizador del sistema permite obtener digestatos con alta potencialidad para funcionar como biofertilizante.

Basándose en los resultados sobre la monodigestión y la codigestión con biocarbón, es recomendable continuar con investigaciones para estabilizar y prevenir la acidificación del proceso. Además, se recomienda profundizar en técnicas de tratamiento del lactosuero antes de la digestión anaeróbica para su estabilización. Asimismo, se recomienda caracterizar a nivel de nutrientes las especies expuestas a estos digestatos. Y finalmente, es importante tener en cuenta el tratamiento de coliformes para estos digestatos, ya que es recomendable tratarlos previo a su uso en suelos agrícolas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Escalante H, Castro L, Amaya MP, Jaimes L, Jaimes-Estévez J. Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. *Waste Management*. 2018;71: 711–718. doi:10.1016/j.wasman.2017.09.026
2. Jaimes-Estévez J, Mercado EV, Jaramillo JG, Rodríguez P, Martí-Herrero J, Escalante H, *et al.*. From laboratory to farm-scale psychrophilic anaerobic co-digestion of cheese whey and cattle manure. *Bioresour Technol Rep*. 2022;19. doi:10.1016/j.biteb.2022.101168
3. Arias Chicaiza JF. Potencial energético del biogás de la co-digestión del suero lácteo y el estiércol bovino. Universidad de las Americas. 2019.
4. Requelme N, Afonso A. Limitations and Potentialities of Organic or Non-conventional Milk Production in Ecuador. Communication, Smart Technologies and Innovation for Society: Proceedings of CITIS 2021. Springer; 2021. pp. 217–228.
5. Pais Chanfrau JM, Núñez Pérez J, Lara Fiallos M V, Rivera Intriago LM, Abril Porras VH, Cuaran Guerrero MJ, *et al.*. Milk whey-from a problematic byproduct to a source of valuable products. *Prensa Med Argent*. 2017;103: 1. doi:10.4172/lpma.1000257
6. Asas C, Llanos C, Matavaca J, Verdezoto D. Whey: environmental impact, uses and applications via biotechnology mechanisms. *Agroindustrial Science*. 2021;11: 105–116.
7. Papirio S, Matassa S, Pirozzi F, Esposito G. Anaerobic Co-digestion of cheese whey and industrial hemp residues opens new perspectives for the valorization of agri-food waste. *Energies (Basel)*. 2020;13. doi:10.3390/en13112820
8. Mostafa Imeni S, Pelaz L, Corchado-Lopo C, Maria Busquets A, Ponsá S, Colón J. Techno-economic assessment of anaerobic co-digestion of livestock manure and cheese whey (Cow, Goat & Sheep) at small to medium dairy farms. *Bioresour Technol*. 2019;291. doi:10.1016/j.biortech.2019.121872
9. Dereli RK, van der Zee FP, Ozturk I, van Lier JB. Treatment of cheese whey by a cross-flow anaerobic membrane bioreactor: Biological and filtration performance. *Environ Res*. 2019;168: 109–117.
10. Rekleitis G, Haralambous K-J, Loizidou M, Aravossis K. Utilization of agricultural and livestock waste in anaerobic digestion (AD): Applying the biorefinery concept in a circular economy. *Energies (Basel)*. 2020;13: 4428.
11. Cremonez PA, Teleken JG, Meier TRW, Alves HJ. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *J Environ Manage*. 2021;281: 111854.
12. Sar T, Harirchi S, Ramezani M, Bulkan G, Akbas MY, Pandey A, *et al.*. Potential utilization of dairy industries by-products and wastes through microbial processes: A critical review. *Science of the Total Environment*. 2022;810: 152253.
13. Martí Herrero JE. Biodigestores Tubulares: Guía de diseño y Manual de instalación. 2019.
14. Rico C, Muñoz N, Rico JL. 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. *Bioresour Technol*. 2015;189: 327–333.
15. Fagbohunbe MO, Herbert BMJ, Hurst L, Ibeto CN, Li H, Usmani SQ, *et al.*. The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion. *Waste management*. 2017;61: 236–249.
16. Stančin H, Mikulčić H, Wang X, Duić N. A review on alternative fuels in future energy system. *Renewable and sustainable energy reviews*. 2020;128: 109927.
17. Bareschino P, Mancusi E, Urciuolo M, Paulillo A, Chirone R, Pepe F. Life cycle assessment and feasibility analysis of a combined chemical looping combustion and power-to-methane system for CO2 capture and utilization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2020;130: 109962.

18. Martí-Herrero J, Chipana M, Cuevas C, Paco G, Serrano V, Zymła B, *et al.*. Low cost tubular digesters as appropriate technology for widespread application: Results and lessons learned from Bolivia. *Renew Energy*. 2014;71: 156–165.
19. Karki R, Chuenchart W, Surendra KC, Shrestha S, Raskin L, Sung S, *et al.*. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd; 2021. doi:10.1016/j.biortech.2021.125001
20. Li K, Liu R, Cui S, Yu Q, Ma R. Anaerobic co-digestion of animal manures with corn stover or apple pulp for enhanced biogas production. *Renew Energy*. 2018;118: 335–342.
21. Mata-Alvarez J, Dosta J, Romero-Güiza MS, Fonoll X, Peces M, Astals S. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and sustainable energy reviews*. 2014;36: 412–427.
22. Neshat SA, Mohammadi M, Najafpour GD, Lahijani P. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017;79: 308–322.
23. Xie S, Higgins MJ, Bustamante H, Galway B, Nghiem LD. Current status and perspectives on anaerobic co-digestion and associated downstream processes. *Environ Sci (Camb)*. 2018;4: 1759–1770.
24. Longhurst PJ, Tompkins D, Pollard SJT, Hough RL, Chambers B, Gale P, *et al.*. Risk assessments for quality-assured, source-segregated composts and anaerobic digestates for a circular bioeconomy in the UK. *Environ Int*. 2019;127: 253–266.
25. Samoraj M, Mironiuk M, Izydorczyk G, Witek-Krowiak A, Szopa D, Moustakas K, *et al.*. The challenges and perspectives for anaerobic digestion of animal waste and fertilizer application of the digestate. *Chemosphere*. 2022;295: 133799.
26. Bella K, Rao PV. Anaerobic digestion of dairy wastewater: Effect of different parameters and co-digestion options—A review. *Biomass Convers Biorefin*. 2021; 1–26.
27. Comino E, Riggio VA, Rosso M. Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresour Technol*. 2012;114: 46–53.
28. Guimarães PMR, Teixeira JA, Domingues L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnol Adv*. 2010;28: 375–384.
29. Jaimes-Estévez J, Zafra G, Martí-Herrero J, Pelaz G, Morán A, Puentes A, *et al.*. Psychrophilic full scale tubular digester operating over eight years: complete performance evaluation and microbiological population. *Energies (Basel)*. 2020;14: 151.
30. Zhao W, Yang H, He S, Zhao Q, Wei L. A review of biochar in anaerobic digestion to improve biogas production: Performances, mechanisms and economic assessments. *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd; 2021. doi:10.1016/j.biortech.2021.125797
31. Nanda S, Dalai AK, Berruti F, Kozinski JA. Biochar as an Exceptional Bioresource for Energy, Agronomy, Carbon Sequestration, Activated Carbon and Specialty Materials. *Waste and Biomass Valorization*. Springer Netherlands; 2016. pp. 201–235. doi:10.1007/s12649-015-9459-z
32. González J, Sánchez M, Gómez X. Enhancing Anaerobic Digestion: The Effect of Carbon Conductive Materials. *C (Basel)*. 2018;4: 59. doi:10.3390/c4040059
33. Zhu Y, Zhu N, Sun E, Wang X, Jin H. Potential of hydrochar/pyrochar derived from sawdust of oriental plane tree for stimulating methanization by mitigating propionic acid inhibition in mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Heliyon*. 2023;9. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13984
34. Chiappero M, Norouzi O, Hu M, Demichelis F, Berruti F, Di Maria F, *et al.*. Review of biochar role as additive in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2020;131: 110037.
35. Pan Y, Zhi Z, Zhen G, Lu X, Bakonyi P, Li Y-Y, *et al.*. Synergistic effect and biodegradation kinetics of sewage sludge and food waste mesophilic anaerobic co-digestion and the underlying stimulation mechanisms. *Fuel*. 2019;253: 40–49.



36. Antonangelo JA, Sun X, Zhang H. The roles of co-composted biochar (COMBI) in improving soil quality, crop productivity, and toxic metal amelioration. *J Environ Manage*. 2021;277: 111443.
37. Ma H, Hu Y, Kobayashi T, Xu K-Q. The role of rice husk biochar addition in anaerobic digestion for sweet sorghum under high loading condition. *Biotechnology Reports*. 2020;27: e00515.
38. Wang C, Liu Y, Gao X, Chen H, Xu X, Zhu L. Role of biochar in the granulation of anaerobic sludge and improvement of electron transfer characteristics. *Bioresour Technol*. 2018;268: 28–35.
39. Zhang L, Lim EY, Loh K-C, Ok YS, Lee JTE, Shen Y, *et al.* Biochar enhanced thermophilic anaerobic digestion of food waste: focusing on biochar particle size, microbial community analysis and pilot-scale application. *Energy Convers Manag*. 2020;209: 112654.
40. Plaimart J, Acharya K, Mroziak W, Davenport RJ, Vinitnantharat S, Werner D. Coconut husk biochar amendment enhances nutrient retention by suppressing nitrification in agricultural soil following anaerobic digestate application. *Environmental Pollution*. 2021;268: 115684.
41. Nzediegwu C, Arshad M, Ulah A, Naeth MA, Chang SX. Fuel, thermal and surface properties of microwave-pyrolyzed biochars depend on feedstock type and pyrolysis temperature. *Bioresour Technol*. 2021;320: 124282.
42. Kumar M, Dutta S, You S, Luo G, Zhang S, Show PL, *et al.* A critical review on biochar for enhancing biogas production from anaerobic digestion of food waste and sludge. *J Clean Prod*. 2021;305: 127143.
43. Yaashikaa PR, Kumar PS, Varjani SJ, Saravanan A. Advances in production and application of biochar from lignocellulosic feedstocks for remediation of environmental pollutants. *Bioresour Technol*. 2019;292: 122030.
44. McBeath A V, Wurster CM, Bird MI. Influence of feedstock properties and pyrolysis conditions on biochar carbon stability as determined by hydrogen pyrolysis. *Biomass Bioenergy*. 2015;73: 155–173.
45. Ahmed MJ, Hameed BH. Insight into the co-pyrolysis of different blended feedstocks to biochar for the adsorption of organic and inorganic pollutants: a review. *J Clean Prod*. 2020;265: 121762.
46. Chen H, Awasthi SK, Liu T, Duan Y, Ren X, Zhang Z, *et al.* Effects of microbial culture and chicken manure biochar on compost maturity and greenhouse gas emissions during chicken manure composting. *J Hazard Mater*. 2020;389: 121908.
47. Chen W, Liao X, Wu Y, Liang JB, Mi J, Huang J, *et al.* Effects of different types of biochar on methane and ammonia mitigation during layer manure composting. *Waste Management*. 2017;61: 506–515.
48. He X, Yin H, Han L, Cui R, Fang C, Huang G. Effects of biochar size and type on gaseous emissions during pig manure/wheat straw aerobic composting: Insights into multivariate-microscale characterization and microbial mechanism. *Bioresour Technol*. 2019;271: 375–382.
49. Awasthi MK, Duan Y, Awasthi SK, Liu T, Zhang Z. Influence of bamboo biochar on mitigating greenhouse gas emissions and nitrogen loss during poultry manure composting. *Bioresour Technol*. 2020;303: 122952.
50. Zamora Bringas GP. El biochar de *Guadua angustifolia* Kunth procedente de los residuos del aprovechamiento de plantaciones forestales como enmienda orgánica para el suelo. 2020.
51. Gutiérrez GO, de Lira Fuentes RC. ELABORACIÓN DE BIOCARBÓN PARA EL APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS PROVENIENTE DE LAS PODAS DE BAMBÚ (*Guadua angustifolia*)[ELABORATION OF BIOCHAR FOR THE USE OF RESIDUES FROM BAMBOO (*Guadua angustifolia*) PRUNES WASTES]. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*. 2020;7: 1.
52. Fawzy S, Osman AI, Doran J, Rooney DW. Strategies for mitigation of climate change: a review. *Environ Chem Lett*. 2020;18: 2069–2094.
53. Oni BA, Oziegbe O, Olawole OO. Significance of biochar application to the environment and economy. *Annals of Agricultural Sciences*. 2019;64: 222–236.

54. Dai Y, Zheng H, Jiang Z, Xing B. Combined effects of biochar properties and soil conditions on plant growth: A meta-analysis. *Science of the total environment*. 2020;713: 136635.
55. Li Y, Cheng J, Lee X, Chen Y, Gao W, Pan W, *et al.*. Effects of biochar-based fertilizers on nutrient leaching in a tobacco-planting soil. *Acta Geochimica*. 2019;38: 1–7.
56. Liu C, Yang J, Wang G, Ye B, Li N, Luo P, *et al.*. Impact of application of biochar-based fertilizer on the content of phosphorus and potassium in soil. *IOP conference series: earth and environmental science*. IOP Publishing; 2019. p. 052064.
57. Jia Y, Hu Z, Mu J, Zhang W, Xie Z, Wang G. Preparation of biochar as a coating material for biochar-coated urea. *Science of The Total Environment*. 2020;731: 139063.
58. An X, Wu Z, Yu J, Cravotto G, Liu X, Li Q, *et al.*. Copyrolysis of biomass, bentonite, and nutrients as a new strategy for the synthesis of improved biochar-based slow-release fertilizers. *ACS Sustain Chem Eng*. 2020;8: 3181–3190.
59. Bushra B, Remya N. Biochar from pyrolysis of rice husk biomass—characteristics, modification and environmental application. *Biomass Convers Biorefin*. 2020; 1–12.
60. Sajjadi B, Chen W-Y, Egiebor NO. A comprehensive review on physical activation of biochar for energy and environmental applications. *Reviews in Chemical Engineering*. 2019;35: 735–776.
61. Oelbermann M, Berruti F, Lévesque V. Biochar and its use in soil: lessons from temperate agriculture. *WJASS*. 2020;5: 1–9.
62. Yeboah E, Asamoah G, Ofori P, Amoah B, Agyeman KOA. Method of biochar application affects growth, yield and nutrient uptake of cowpea. *Open Agric*. 2020;5: 352–360.
63. Terán Flores JM. Análisis del mercado de la leche en Ecuador: factores determinantes y desafíos. 2019.
64. Rojas Vilela de Eche CC, Yenque Lamas LN. Revisión sistemática: Métodos de compostaje de residuos orgánicos. 2021.
65. Hermosa Díaz PE. Últimos avances en el tratamiento de suero lácteo con tecnología de membranas (Realidad en el Ecuador). UCE. 2021.
66. Luo X, Yuan X, Wang S, Sun F, Hou Z, Hu Q, *et al.*. Methane production and characteristics of the microbial community in the co-digestion of spent mushroom substrate with dairy manure. *Bioresour Technol*. 2018;250: 611–620.
67. FAO GDP. Climate change and the global dairy cattle sector. The Role of the Dairy Cattle Sector in a Low-Carbon Future. Global Agenda for Sustainable Livestock Manhattan, KS, USA; 2019.
68. Madrigal G, Huaraya M, Sancho T, Mendieta O, Jaimes-Estévez J. Biochar from bovine manure as a sustainable additive to improve the anaerobic digestion of cheese whey. *Bioresour Technol Rep*. 2022;20. doi:10.1016/j.biteb.2022.101258
69. Osman AI, Fawzy S, Farghali M, El-Azazy M, Elgarahy AM, Fahim RA, *et al.*. Biochar for agronomy, animal farming, anaerobic digestion, composting, water treatment, soil remediation, construction, energy storage, and carbon sequestration: a review. *Environmental Chemistry Letters*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022. pp. 2385–2485. doi:10.1007/s10311-022-01424-x
70. APHA-AWWA-WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. USA; 2017.
71. Anderson GK, Yang G. Determination of bicarbonate and total volatile acid concentration in anaerobic digesters using a simple titration. *Water Environment Research*. 1992;64: 53–59.
72. Pradhan S, Abdelaal AH, Mroue K, Al-Ansari T, Mackey HR, McKay G. Biochar from vegetable wastes: agro-environmental characterization. *Biochar*. 2020;2: 439–453.
73. Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D. Determination of ash in biomass. Laboratory analytical procedure: technical report NREL. TP-510-42622. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, USA; 2008.

74. Hafner SD, Astals S, Holliger C, Justesen C, Koch K, Mortensen JR, *et al.*. Gas density-based BMP measurement. Standard BMP Methods document 304. 2021 [cited 14 Nov 2022]. Available: <https://www.dbfz.de/en/BMP>
75. Hafner SD, Justesen CG, Thorsen R, Astals S, Holliger C, Koch K, *et al.*. Calculation of methane production from gas density-based measurements. Standard BMP Methods document 204. 7 Sep 2020 [cited 14 Nov 2022]. Available: <https://www.dbfz.de/en/BMP>
76. Gerber MD, Lucia Jr T, Correa L, Neto JEP, Correa ÉK. Phytotoxicity of effluents from swine slaughterhouses using lettuce and cucumber seeds as bioindicators. *Science of the Total Environment*. 2017;592: 86–90.
77. Lv M, Zhu S, Shi Y, Shu S, Li A, Fan B. Study on household micro-mesh anaerobic digester followed by vegetable garden fertilization for resources oriented sanitation of toilet and kitchen. *J Clean Prod*. 2023;384: 135344.
78. Kwak J-H, Islam MS, Wang S, Messele SA, Naeth MA, El-Din MG, *et al.*. Biochar properties and lead (II) adsorption capacity depend on feedstock type, pyrolysis temperature, and steam activation. *Chemosphere*. 2019;231: 393–404.
79. Tirichine N, Khitous M, Saber M, Lounici H, Bouarab R. Improved anaerobic digestion performances of whey in a batch reactor. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*. 2020;6.
80. Charalambous P, Shin J, Shin SG, Vyrides I. Anaerobic digestion of industrial dairy wastewater and cheese whey: performance of internal circulation bioreactor and laboratory batch test at pH 5–6. *Renew Energy*. 2020;147: 1–10.
81. Kovačić Đ, Lončarić Z, Jović J, Samac D, Popović B, Tišma M. Digestate Management and Processing Practices: A Review. *Applied Sciences*. 2022;12: 9216.
82. Wang K-S, Chen J-H, Huang Y-H, Huang S-L. Integrated Taguchi method and response surface methodology to confirm hydrogen production by anaerobic fermentation of cow manure. *Int J Hydrogen Energy*. 2013;38: 45–53.
83. Tomczyk A, Sokołowska Z, Boguta P. Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2020;19: 191–215.
84. Folgueras MB, Fernández FJ, Ardila CR, Alonso M, Lage S. Fast pyrolysis of *Guadua angustifolia* Kunth. *Energy Procedia*. 2017;136: 60–65.
85. Fryda L, Daza C, Pels J, Janssen A, Zwart R. Lab-scale co-firing of virgin and torrefied bamboo species *Guadua angustifolia* Kunth as a fuel substitute in coal fired power plants. *Biomass Bioenergy*. 2014;65: 28–41.
86. Ivanchenko A, Yelatontsev D, Savenkov A. Anaerobic co-digestion of agro-industrial waste with cheese whey: Impact of centrifuge comminution on biogas release and digestate agrochemical properties. *Biomass Bioenergy*. 2021;147: 106010.
87. Treu L, Tsapekos P, Peprah M, Campanaro S, Giacomini A, Corich V, *et al.*. Microbial profiling during anaerobic digestion of cheese whey in reactors operated at different conditions. *Bioresour Technol*. 2019;275: 375–385.
88. Alavi-Borazjani SA, Capela I, Tarelho LAC. Over-acidification control strategies for enhanced biogas production from anaerobic digestion: a review. *Biomass Bioenergy*. 2020;143: 105833.
89. Indren M, Birzer CH, Kidd SP, Hall T, Medwell PR. Effects of biochar parent material and microbial pre-loading in biochar-amended high-solids anaerobic digestion. *Bioresour Technol*. 2020;298: 122457.
90. Ma J, Pan J, Qiu L, Wang Q, Zhang Z. Biochar triggering multipath methanogenesis and subdued propionic acid accumulation during semi-continuous anaerobic digestion. *Bioresour Technol*. 2019;293: 122026.
91. Sahin O, Taskin MB, Kaya EC, Atakol O, Emir E, Inal A, *et al.*. Effect of acid modification of biochar on nutrient availability and maize growth in a calcareous soil. *Soil Use Manag*. 2017;33: 447–456.

92. Kapoor R, Ghosh P, Tyagi B, Vijay VK, Vijay V, Thakur IS, *et al.*. Advances in biogas valorization and utilization systems: A comprehensive review. *J Clean Prod.* 2020;273: 123052.
93. Linville JL, Shen Y, Ignacio-de Leon PA, Schoene RP, Urgun-Demirtas M. In-situ biogas upgrading during anaerobic digestion of food waste amended with walnut shell biochar at bench scale. *Waste Management & Research.* 2017;35: 669–679.
94. Shen Y, Linville JL, Ignacio-de Leon PAA, Schoene RP, Urgun-Demirtas M. Towards a sustainable paradigm of waste-to-energy process: Enhanced anaerobic digestion of sludge with woody biochar. *J Clean Prod.* 2016;135: 1054–1064.
95. Shen Y, Forrester S, Koval J, Urgun-Demirtas M. Yearlong semi-continuous operation of thermophilic two-stage anaerobic digesters amended with biochar for enhanced biomethane production. *J Clean Prod.* 2017;167: 863–874.
96. Wang P, Peng H, Adhikari S, Higgins B, Roy P, Dai W, *et al.*. Enhancement of biogas production from wastewater sludge via anaerobic digestion assisted with biochar amendment. *Bioresour Technol.* 2020;309: 123368.
97. Martí-Herrero J, Alvarez R, Rojas MR, Aliaga L, Céspedes R, Carbonell J. Improvement through low cost biofilm carrier in anaerobic tubular digestion in cold climate regions. *Bioresour Technol.* 2014;167: 87–93.
98. Tavera-Ruiz C, Martí-Herrero J, Mendieta O, Jaimes-Estévez J, Gauthier-Maradei P, Azimov U, *et al.*. Current understanding and perspectives on anaerobic digestion in developing countries: Colombia case study. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2023;173: 113097.
99. Al-Amshawee S, Yunus MYBM, Vo D-VN, Tran NH. Biocarriers for biofilm immobilization in wastewater treatments: a review. *Environ Chem Lett.* 2020;18: 1925–1945.
100. Kumar M, Dutta S, You S, Luo G, Zhang S, Show PL, *et al.*. A critical review on biochar for enhancing biogas production from anaerobic digestion of food waste and sludge. *J Clean Prod.* 2021;305: 127143.
101. Qin Y, Wang H, Li X, Cheng JJ, Wu W. Improving methane yield from organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) with magnetic rice-straw biochar. *Bioresour Technol.* 2017;245: 1058–1066.
102. Crespo-Barreiro A, Gómez N, González-Arias J, Ortiz-Liébana N, González-Andrés F, Cara-Jiménez J. Scaling-Up of the Production of Biochar from Olive Tree Pruning for Agricultural Use: Evaluation of Biochar Characteristics and Phytotoxicity. *Agriculture.* 2023;13: 1064.
103. Elbashier MMA, Xiaohou S, Ali AAS, Mohammed A. Effect of digestate and biochar amendments on photosynthesis rate, growth parameters, water use efficiency and yield of Chinese melon (*Cucumis melo* L.) under saline irrigation. *Agronomy.* 2018;8: 22.
104. Tshikalange B, Bello ZA, Ololade OO. Comparative nutrient leaching capability of cattle dung biogas digestate and inorganic fertilizer under spinach cropping condition. *Environmental Science and Pollution Research.* 2020;27: 3237–3246.
105. Valentinuzzi F, Cavani L, Porfido C, Terzano R, Pii Y, Cesco S, *et al.*. The fertilising potential of manure-based biogas fermentation residues: Pelleted vs. liquid digestate. *Heliyon.* 2020;6: e03325.
106. Panuccio MR, Mallamaci C, Attinà E, Muscolo A. Using digestate as fertilizer for a sustainable tomato cultivation. *Sustainability.* 2021;13: 1574.
107. Kataki S, Hazarika S, Baruah DC. Recycling of bioenergy by-products as crop nutrient: Application in different phases for improvement of soil and crop. *Environ Prog Sustain Energy.* 2019;38: 13099.
108. Kataki S, Hazarika S, Baruah DC. By-products of bioenergy systems (anaerobic digestion and gasification) as sources of plant nutrients: scope of processed application and effect on soil and crop. *J Mater Cycles Waste Manag.* 2019;21: 556–572.

109. Kataki S, Hazarika S, Baruah DC. Investigation on by-products of bioenergy systems (anaerobic digestion and gasification) as potential crop nutrient using FTIR, XRD, SEM analysis and phytotoxicity test. *J Environ Manage.* 2017;196: 201–216.
110. Martins RMM, da Fonseca YA, Faria MV, de Aquino SF, Adarme OFH, Lobo Baêta BE. Methane production by anaerobic co-digestion of dairy manure and cassava wastes for energy recovery. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology.* 2023;98: 797–806.
111. Möller K. Effects of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity. A review. *Agron Sustain Dev.* 2015;35: 1021–1041.