

Efectos sinérgicos de la co-digestión anaeróbica de aguas mieles y pulpa de café con estiércol bovino

Edna Dayana Guerrero Arévalo y Stephany Ocampo Díaz

Trabajo de grado para optar el título de ingeniera Química  
Modalidad investigación

Director:

Liliana del Pilar Castro Molano  
Ingeniera Química, Ph.D.

Codirector:

Juan Guillermo Jaramillo  
Ingeniero Químico, estudiante de maestría

Universidad Industrial de Santander  
Facultad de Ingenierías Físicoquímicas  
Escuela de Ingeniería Química  
Bucaramanga  
2023

### **Agradecimientos**

*A nuestra alma mater, la Universidad Industrial de Santander por abrirnos las puertas y convertirnos en profesionales, teniendo como característica su alta calidad en educación, pero también la diversidad y desarrollo de pensamiento crítico.*

*A la Escuela de Ingeniería Química y sus profesores por enseñarnos el papel fundamental en la sociedad de esta hermosa carrera y a los compañeros y amigos que hicieron parte de este proceso*

*Al grupo de investigación INTERFASE y a sus laboratorios de biotecnología por proporcionar los recursos y la infraestructura necesarios para llevar a cabo esta investigación.*

*A la profesora Liliana del Pilar Castro por motivarnos a entrar en este mundo de la digestión anaerobia, por su orientación, confianza y sus valiosos conocimientos a lo largo de este trabajo y de nuestra formación académica.*

*Al ingeniero Juan Guillermo por su paciencia y dedicación, quien siempre estuvo dispuesto a guiarnos en este proceso. Sus enseñanzas han forjado las bases de nuestro aprendizaje como ingenieras integras y nos han inspirado a seguir en este camino de la valorización de residuos llamado digestión anaerobia. Por ser una excelente persona, profesional y gran amigo.*

*Gracias al señor Juvenal Tarazona y su familia, por abrirnos las puertas a su finca; Villa Tarazona, por su participación y colaboración para el desarrollo de este trabajo.*

*Mediante estas palabras, expresamos nuestra más profunda gratitud a todas las personas que han contribuido de manera significativa a la culminación de este trabajo de grado e inicio de la vida como profesionales. Sus apoyos, consejos y aliento han sido fundamentales para llegar a este punto.*

### **Dedicatoria**

*Dedico este trabajo a mi madre María por ser mi fuente de motivación durante los momentos difíciles de la carrera. Su esfuerzo, sacrificio y amor incondicional han sido fundamentales en mi formación como persona y profesional. A mis hermanos Juan y Javier, por estar presentes. De igual manera, a mis abuelos Zoraida y Valentín que en paz descansen quienes hicieron parte importante de mi crianza y formación de valores.*

*A mi compañero incondicional Juan Sandoval, quien estuvo desde el inicio de este trayecto, acompañándome e impulsándome a no desistir jamás. Sacándome una sonrisa cuando más lo necesité y creyendo en mí cuando yo no lo hacía. Sin ti esto no hubiera sido posible.*

*A mi compañera de trabajo de grado y excelente amiga Stephany, quien ha sido la voz alegre de esta dupla. Tu entusiasmo y apoyo han hecho que este camino sea más llevadero y gratificante.*

**Edna Dayana Guerrero**

*A mis padres, sin su apoyo y amor, este sueño no hubiese sido posible, y que con su arduo e incesante trabajo me brindaron la posibilidad de ir tras mis sueños. Por forjar en mí constantemente la perseverancia, por alcanzar cada uno de mis logros y ser la inspiración para cumplir cada una de mis metas.*

*A mi hermana Nikol y mi abuela Elisenia por apoyarme en cada momento y depositar su confianza en mí, gracias abuela por todas sus oraciones.*

*A toda mi familia, amigos y compañeros quienes estuvieron presente durante estos años de estudio, con sus palabras de aliento y comprensión aportaron su grano de arena para mi crecimiento personal y académico.*

*A Juan, por estar desde el primer día que emprendí este maravilloso viaje de mi vida ingenieril, quien estuvo presente en cada uno de los momentos de mi carrera, y que siempre me motivó a luchar por mis sueños y no desistir de ellos, por ser esa voz de aliento que me inspiró todos los días a dar lo mejor de mí e impulsarme a ser mejor persona.*

*A Edna Dayana, por ser mi compañera en el desarrollo de este trabajo y ser mi cómplice en mi etapa universitaria. Agradezco su inspiración constante, su infinita paciencia, sus valiosos conocimientos y su gran apoyo en cada uno de los momentos compartidos juntas.*

**Stephany Ocampo Díaz**

**Tabla de Contenido**

Introducción .....	9
1. Objetivos .....	12
1.2 Objetivo General .....	12
1.2.1 Objetivos específicos: .....	12
2. Estado del arte .....	13
3. Metodología .....	16
3.1 Caracterización fisicoquímica de Inóculo y Sustratos .....	16
3.1.1 Información del caso de estudio .....	16
3.1.2 Recolección de inóculo y sustratos. ....	17
3.1.3 Métodos analíticos. ....	18
3.2 Determinación del Potencial de Biometanización .....	19
3.2.1 Diseño experimental .....	19
3.2.2 Ensayos de biodegradabilidad .....	21
3.3 Ajuste de parámetros cinéticos de los ensayos de biodegradabilidad anaerobia .....	23
3.4 Identificación de efectos sinérgicos .....	24
4. Resultados y discusión .....	25
4.1 Caracterización de sustratos .....	25
4.2 Degradabilidad de las Aguas Mieles .....	28
4.3 Rendimiento de metano a lo largo del diseño lattice simplex .....	29
4.4 Evaluación de comportamiento cinético de los ensayos de biodegradabilidad anaerobia .....	33
4.5 Identificación de efectos sinérgicos .....	37
4.6 Evaluación de la degradación de materia orgánica para diferentes relaciones de mezcla: .....	40
Conclusiones .....	43
Referencias Bibliográficas .....	45

**Lista de Tablas**

<b>Tabla 1.</b> Caracterización de inóculo.....	17
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje de composición de sustrato puro en cada experimento.....	21
<b>Tabla 3.</b> Significado del valor de $\phi$ .....	25
<b>Tabla 4.</b> Caracterización fisicoquímica de los sustratos. ....	25
<b>Tabla 5.</b> Resultados PBM y sinergia de rendimientos. ....	30
<b>Tabla 6.</b> Ecuación interpolante y estadísticos PBM.....	32
<b>Tabla 7.</b> Ecuación interpolante y estadísticos Sinergia.....	38
<b>Tabla 8.</b> Parámetros cinéticos y estadísticos para los modelos cinéticos de primer orden y gompertz modificado. ....	33
<b>Tabla 9.</b> Porcentaje de degradación y pH final de los experimentos. ....	41

**Lista de figuras**

<b>Figura 1.</b> Distribución del fruto o cereza del café.....	9
<b>Figura 2 .</b> Diagrama de flujo de la metodología. ....	16
<b>Figura 3.</b> Análisis, variable medida, periodicidad y componente al cual se le hizo la medición durante la experimentación. ....	19
<b>Figura 4.</b> Diseño experimental.....	20
<b>Figura 5.</b> Producción acumulada de Metano de Aguas Mieles a RIS de 2 (puntos rojos) y a RIS de 4 (cruces negras); pH final de Aguas Mieles a RIS de 2 (barra con trama de líneas diagonales) y a RIS de 4 (barra con trama de puntos). ....	29
<b>Figura 6.</b> Superficie de respuesta PBM .....	32
<b>Figura 8.</b> Cinéticas de reacción de cada mezcla. ....	35

### Resumen

**Título:** Efectos sinérgicos de la co-digestión anaeróbica de aguas mieles y pulpa de café con estiércol bovino\*

**Autoras:** Edna Dayana Guerrero Arévalo y Stephany Ocampo Díaz\*\*

**Palabras Clave:** Aguas Mieles; Co-digestión anaeróbica; Pulpa de café.

#### Descripción:

El café es una bebida popular a nivel mundial. El proceso de beneficio del café genera Aguas mieles y Pulpa, residuos que representan el 57% del fruto. Estos residuos son atractivos para ser tratados mediante digestión anaerobia. Sin embargo, este proceso se ve limitado por el bajo pH de las Aguas mieles y por la concentración de sólidos totales de la Pulpa.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la co-digestión anaerobia de los residuos en la cadena agroindustrial del café mediante ensayos de potencial de biometanización (PBM). Resultados que mostraron mayor PBM siendo este de  $629 \pm 9$  NLCH<sub>4</sub>kgSV<sup>-1</sup> para la mezcla X<sub>AM</sub>:0.66, X<sub>P</sub>:0.17, X<sub>EB</sub>:0.17 gSVgSV<sup>-1</sup>, que alcanzó una sinergia de 1.31 con una remoción de materia orgánica del 60%.

Este estudio demostró que la CoDA es una alternativa viable para la gestión y valorización de estos residuos.

\* Trabajo de Grado

\*\*Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Liliana del Pilar Castro Molano Ingeniera Química, Ph.D

**Abstrac**

**Title:** Synergistic effects of anaerobic co-digestion of honey water and coffee pulp with bovine manure\*.

**Authors:** Edna Dayana Guerrero Arévalo y Stephany Ocampo Díaz\*\*

**Keywords:** Water Honeys; anaerobic co-digestion; Coffee pulp.

**Description:**

Coffee is considered a beverage recognized worldwide for the process that is equivalent to its development, because it generates honey water and pulp, residues that represent 57% of the fruit. These residues are attractive to be treated by anaerobic digestion. However, this process is limited by the low pH of the honey water and the concentration of total solids in the pulp.

The objective of this research was to evaluate the anaerobic co-digestion of wastes in the coffee agroindustrial chain by means of biomethanization potential tests (PBM). Results that showed higher PBM being this of  $629 \pm 9$  NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> for the mixture XAM:0.66, XP:0.17, XEB:0.17 gSVgSV<sup>-1</sup>, which reached a synergy of 1.31 with an organic matter removal of 60%.

This study demonstrated that CoDA is a viable alternative for the management and valorization of these wastes.

\* Degree Work

\*\* School of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director: Lilibiana del Pilar Castro Molano Chemical Engineer, Ph.D.

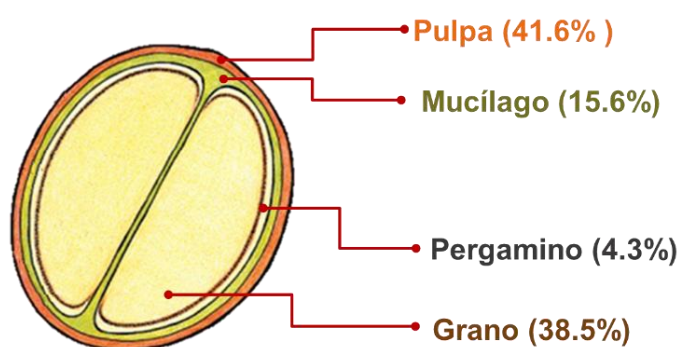
## Introducción

El movimiento económico generado por el café sólo es superado por el del petróleo (Jinsu, et al. 2019). En el 2020 la producción mundial alcanzó las 10 millones de toneladas de grano seco, de las cuales Colombia aportó el 9% (International Coffe Organization, 2020). Históricamente, en Colombia el sector cafetero ha sido parte importante del desarrollo socioeconómico, pues representa el 15% del PIB agropecuario del país y es el sustento para más de 540.000 familias en 600 municipios (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2021).

El grano del café corresponde al 38.5% del fruto, el resto se considera residuos: una cáscara superficial llamada pulpa (41.6%), una capa mucilaginosa (15.6%) y una cáscara fina conocida como pergamino (4.3%). Dada la producción nacional, se infiere que, en las zonas rurales del país se generan anualmente 3.6 millones de toneladas de estos residuos. La figura 1 muestra la distribución del fruto o cereza del café.

### Figura 1.

Distribución del fruto o cereza del café.



Nota: Fruto o cereza del café

La Pulpa (P) es la piel de la cereza, tiene naturaleza semisólida, debido a su composición química compleja, que incluye componentes como la lignina, celulosa, hemicelulosa,

polifenoles, proteínas y taninos (Serna, et al. 2018) por lo que se retira mecánicamente y se acumula en los suelos de las fincas cafeteras, donde se biodegrada en contacto con la atmósfera. El mucílago es una capa viscosa que separa la piel del grano, es ácida y rica en azúcares (73% BS). El mucílago se retira por lavado, en el que se usa una relación volumétrica de 5:1 entre agua y cerezas, esto genera el residuo Aguas Mieles (A).

En las zonas rurales del país es común la falta de cobertura en el servicio de alcantarillado o de recolección de residuos sólidos, por lo que las aguas mieles y la pulpa se desechan por escorrentía o descarga directa sobre el suelo. Esta incorrecta disposición afecta el medio ambiente al emitir gases de efecto invernadero, dañar la macro y microbiota en los suelos y contaminar las fuentes hídricas.

Debido al alto contenido de materia orgánica en las aguas mieles ( $77.6 \pm 0.9 \text{ gSVkg}^{-1}$ ) y la pulpa ( $164.9 \pm 23.9 \text{ gSVkg}^{-1}$ ), y su disposición en el mismo punto de la cadena productiva, los convierten en sustratos atractivos para ser tratados por Digestión Anaeróbica (DA). Esta tecnología consiste en la degradación biológica de materia orgánica en ausencia de oxígeno, sus productos son el biogás rico en metano ( $>50\% \text{ CH}_4$ ) y un lodo fertilizante (Acosta & Abreu, 2005).

La digestión anaerobia promueve la autogestión energética y la economía circular agroindustrial. Sin embargo, los procesos de bioconversión anaerobia para tratar los residuos del beneficio del café se han visto limitada por dos factores: i) las aguas mieles presentan niveles de acidez ( $\text{pH} = 3 - 4$ ) que pueden inhibir la actividad del consorcio microbiano, y ii) la pulpa excede los valores recomendados de Sólidos Totales para ser tratada mediante un proceso anaerobio en un límite de  $150 \text{ gST kg}^{-1}$  (Park et al., 2018), tal como establece la literatura, que considera dicho valor como el límite máximo.

Una estrategia para solventar estas limitaciones es la Co-Digestión Anaerobia (CoDA), donde se tratan sustratos en simultáneo con el fin de crear un efecto sinérgico, es decir,

aumentar la producción de biogás al equilibrar el aporte de nutrientes y diluir agentes inhibitorios (Guerrero, et al. 2016). Un residuo común en las fincas cafeteras el estiércol bovino (EB), este por su alta capacidad buffer se utiliza como co-sustrato ( $0.3-0.4 \text{ mgAc.Acético/mgCaCO}_3^{-1}$ ), ya que puede mantener niveles adecuados de pH (6.5-8) dentro del digestor anaerobio, lo cual genera estabilidad en el proceso ( Parra, 2015). Basado en lo anterior, se puede inferir que las fincas cafeteras tienen la capacidad de implementar procesos de co-digestión anaerobia a partir de los residuos del beneficio del café (aguas mieles y pulpa) y del estiércol bovino. Para implementar el proceso de co-digestión anaerobia se requiere seleccionar la mejor relación de mezcla de los sustratos usando como criterio de decisión el efecto sinérgico que producen las mezclas.

La determinación de las interacciones sinérgicas pueden hacerse a través del Potencial de Biometanización (PBM), este parámetro mide la cantidad máxima de metano, por unidad de materia orgánica, que puede obtenerse mediante sistemas de bioconversión anaerobia (Holliger et al., 2016). Hasta la fecha, la literatura es limitada con respecto a la información acerca de las interacciones sinérgicas que presenta la mezcla de aguas mieles, pulpa y estiércol bovino.

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito, el objetivo de este trabajo de grado fue identificar los efectos sinérgicos al tratar los residuos aguas mieles (A) y pulpa (P) con estiércol bovino (EB) mediante ensayos de biodegradabilidad anaerobia. Los resultados de este trabajo fin de carrera ayudarán a promover sistemas de autogestión energética descentralizada y el cuidado de los recursos aire, agua y suelo, de la agroindustria cafetera.

## 1. Objetivos

### 1.2 Objetivo General

Identificar los efectos sinérgicos de la codigestión anaeróbica de aguas mieles y pulpa de café con estiércol bovino mediante ensayos de biodegradabilidad anaerobia

#### *1.2.1 Objetivos específicos:*

- Determinar a escala laboratorio el potencial de biometanización de Aguas mieles, Pulpa y Excreta bovina en MonoDA y CoDA mediante ensayos de biodegradabilidad anaerobia.
- Establecer los parámetros cinéticos que describen la MonoDA y CoDA de Aguas mieles, Pulpa y Excreta bovina en fase batch.
- Evaluar la sinergia de la CoDA para diferentes proporciones de mezcla de sustratos a partir de sus potenciales de biometanización.

## 2. Estado del arte

La DA es una tecnología que gestiona y valoriza residuos con alto contenido de materia orgánica transformándolos en un biogás combustible (>50% CH<sub>4</sub>) y un lodo que se utiliza como recuperador de suelos (Ávila, et al. 2018). Este proceso se lleva a cabo mediante cuatro etapas bioquímicas principales: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Toraman, 2018).

El aprovechamiento de los residuos agroindustriales Aguas Mieles y Pulpa, generados durante el beneficio húmedo del café, ha despertado gran interés debido a su impacto negativo en el medio ambiente ( Fernández , Sotto, & Vargas , 2020). La Pulpa de café es un residuo sólido con 45% de carbohidratos en base seca de los cuales el 21% son estructurales (Traba et al, 1994). Las aguas mieles presentan un contenido de carbohidratos de 83% en base seca, constituidos principalmente por azúcares reductores lo que confiere mayor disposición a la fermentación natural.

Debido a su alto contenido de materia orgánica y su disposición en el mismo punto, se ha estado investigando la digestión anaerobia de estos sustratos. Este proceso consta de múltiples etapas; durante la hidrólisis, enzimas bacterianas descomponen compuestos orgánicos en monómeros. Luego, la acidogénesis junto con la materia orgánica se va disolviendo, y se transforma en ácidos grasos volátiles. La acetogénesis produce ácido acético, hidrógeno y CO<sub>2</sub>. La etapa final la metanogénesis produce CH<sub>4</sub> a partir de ácido acético o mezclas de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. De igual manera, las arqueas son sensibles a variaciones ambientales, una alta concentración de ácidos inhibe el proceso al afectar el pH y la actividad bacteriana, creando un entorno desfavorable para las etapas posteriores de la digestión anaerobia (Acosta & Abreu, 2005).

No obstante, la concentración y calidad del inóculo es fundamental, pues debe contener mayor cantidad de sólidos volátiles con respecto al sustrato lo cual genera una rápida

degradación por parte de los microorganismos. Real & Gutiérrez, (2010) mencionan que el inóculo obtenido del Estiércol Bovino tiene niveles de actividad metanogénica favorables para la digestión anaerobia de la pulpa ( $> 0,004 \text{ mL CH}_4 \text{ gSV}^{-1}\text{d}$ ). En consecuencia, al utilizar como inóculo el digerido de un biodigestor alimentado con estiércol bovino, el cual brinda ventajas aprovechables gracias a su notable capacidad para ajustar la acidez en rangos saludables ( $6 < \text{pH} < 8$ ).

Para determinar si un residuo puede usarse como sustrato en el proceso de digestión anaeróbica se estudia su potencial de biometanización (PBM), el cual cuantifica la cantidad máxima de metano que se puede producir por unidad de materia orgánica tratada Amaya, et al. (2017) define el PBM como la capacidad de biodegradabilidad anaeróbica de un sustrato en términos de volumen de metano acumulado, medido en condiciones estándar (STP) por unidad de materia orgánica; esta materia orgánica se puede expresar en términos de sólidos volátiles (SV) o demanda química de oxígeno (DQO), adicionados o removidos.

Kim et al. (2019), evaluaron la CoDA de la borra de café, la ulva (un tipo de alga marina) y los desechos de alimentos, utilizando como inóculo lodo anaerobio proveniente de un biodigestor tubular alimentado con estiércol bovino. Se examinaron diferentes proporciones de mezcla y se encontró que la combinación óptima fue de 76,3 %v/v desechos de alimentos y 23,7 %v/v borra de café, que produjo un PBM de  $547 \text{ mLCH}_4 \text{ gSV}^{-1}$  y un efecto sinérgico de 1,3.

Kampioti & Komilis (2022) investigaron la CoDA de borra de café con estiércol bovino y residuos de alimentos. En este estudio, se encontró que la mezcla produjo un potencial de biometanización de  $201 \text{ mL CH}_4 \text{ gSV}^{-1}$ , esta cantidad es mayor que la producida por el monodigestión de lodo anaerobio que fue de  $179 \text{ mL CH}_4 \text{ gSV}^{-1}$ , lo que representa una mejora del 12% en la CoDA.

Respecto a la cinética del proceso anaerobio en operación discontinua, Kafle & Chen (2016) demostraron la utilidad de los modelos de Primer Orden y de Gompertz Modificado para realizar el ajuste de parámetros cinéticos. Estos modelos se muestran en las ecuaciones 1 y 2.

$$G_t = G_o(1 - e^{-kt}) \quad \text{Ec- 1}$$

$$G_t = G_o \cdot \exp\left(-\exp\left(\frac{R_{max} \cdot e}{G_o}(\lambda - t) + 1\right)\right) \quad \text{Ec - 2}$$

Donde,

G(t)= Producción acumulada de metano en el tiempo t (mL g SV<sup>-1</sup>)

Go= Potencial de metano del sustrato (mL g SV<sup>-1</sup>)

k= Constante de tasa de producción de metano (1 d<sup>-1</sup>)

Rmax= Velocidad máxima de producción de metano (mL g SV<sup>-1</sup> d)

$\lambda$  = Fase de latencia (d).

### 3. Metodología

Con el propósito de estudiar el comportamiento de la Co-digestión de Aguas Mieles y Pulpa con Estiércol Bovino en sistema discontinuo, se utiliza la metodología por etapas, las cuales están distribuidas en la Figura 2. La primera corresponde a la determinación del potencial de biometanización de los sustratos y sus mezclas. La segunda etapa comprende el ajuste parámetros cinéticos para la producción de metano. Y en la última fase se realizó la evaluación de la sinergia de los sustratos en co-digestión.

#### Figura 2 .

*Diagrama de flujo de la metodología.*



#### 3.1 Caracterización fisicoquímica de Inóculo y Sustratos

##### 3.1.1 Información del caso de estudio

Los sustratos aguas mieles (A), pulpa (P) y estiércol bovino (EB) se recolectaron de la finca cafetera Villa Tarazona ubicada a 25 km del municipio de Piedecuesta, vereda Miraflores (latitud 6°57'20''N; longitud 72°59'14''O) a 1763 msnm. Que cuenta con temperatura media anual del lugar es de 20°C (Alcaldía Municipal de Piedecuesta, 2015) y presenta una geografía accidentada que dificulta el transporte de combustibles.

La finca tiene suministro de red eléctrica pero no está conectada a la red nacional de gas natural, por lo que cada mes se transporta un cilindro de 40lbm de propano que equivale a un valor de COP 90.000 y esto hace que la cosecha principal se requieran 400 kg mes<sup>-1</sup> de leña para la cocción de alimentos requeridos para los trabajadores.

La finca tiene una producción anual de 1750 kg de café seco, que implica una generación media de  $60.7 \text{ kg mes}^{-1}$  de pulpa. Este residuo se estabiliza a condiciones ambiente para luego ser usada como abono orgánico. Asimismo, el mucílago se separa del grano mediante lavados sucesivos generando el residuo aguas mieles por lo tanto el desarrollo del flujo de aguas mieles depende del tamaño de la cosecha recolectada, el tiempo de lavado y la disponibilidad de agua. En esta finca se han encontrado caudales entre 40 y  $200 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$  de aguas mieles con una concentración de  $77\text{-}24 \text{ gSV L}^{-1}$ , las cuales son descargadas directamente sobre la pradera.

### 3.1.2 *Recolección de inóculo y sustratos.*

El inóculo se obtuvo de un biodigestor tubular de bajo costo elaborado con polietileno calibre 8 de 5 años de operación ( $9.5 \text{ m}^3$  totales,  $7.1 \text{ m}^3$  de operación) (latitud  $7^{\circ}04'06''\text{N}$ ; longitud  $73^{\circ}10'11''\text{O}$ ), que es alimentado con estiércol bovino y agua en relación 1:3.

**Tabla 1.**

*Caracterización de inóculo.*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
<b>Sólidos Volátiles (SV)</b>	$\text{g SV kg}^{-1}$	25.1
<b>Actividad Metanogénica Específica (AME)</b>	$\text{gDQOgSV}^{-1}\text{d}^{-1}$	0.054
<b>Actividad Hidrolítica Específica (AHE)</b>	$\text{gDQOgSV}^{-1}\text{d}^{-1}$	0.110
<b>pH</b>	-	7.5
<b>Capacidad Buffer</b>	$\text{mg Ac. Acético mg CaCO}_3^{-1}$	0.33

En cuanto a los sustratos, el Estiércol Bovino se recolectó en los establos de la finca, la Pulpa fue recogida directamente de la despulpadora y las Aguas Mieles se recolectaron aleatoriamente en el proceso de lavado.

Finalmente, los sustratos e inóculo fueron transportados a las instalaciones del laboratorio de biotecnología de la Universidad Industrial de Santander, donde se almacenaron a 4 °C en refrigeradores para su posterior caracterización.

### **3.1.3 Métodos analíticos.**

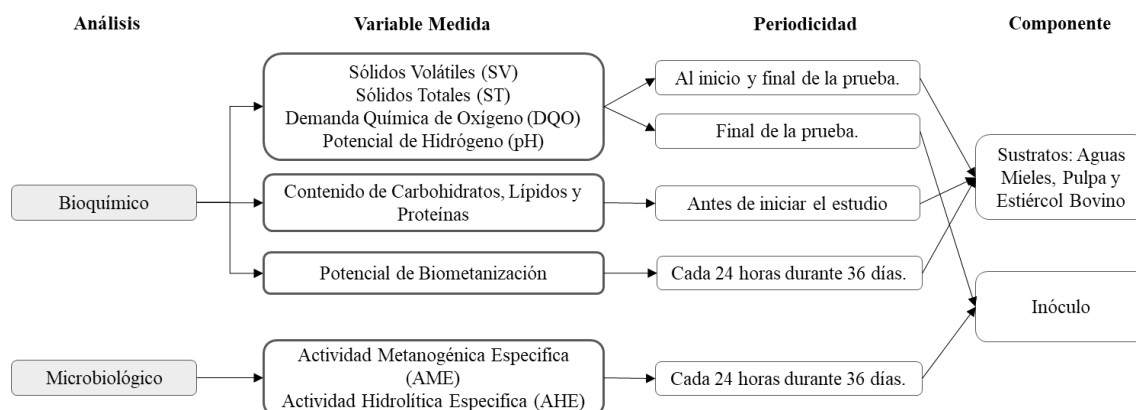
El contenido de materia orgánica expresado en sólidos volátiles (SV) fue evaluada por el método termogravimétrico según Sánchez et al, (2016) y la demanda química de oxígeno (DQO) mediante el método colorimétrico SM 5220-D; EPA 410.4. Los valores de pH se determinaron con un medidor de pH (691, Metrohm) análisis que se hicieron al inicio y final de los ensayos.

Se realizó un Análisis Químico Proximal (AQP) a los sustratos según la Asociación Oficial de Analíticos Químicos (AOAC), (2005) para determinar el contenido de lípidos, proteínas y carbohidratos (estructurales y solubles) siguiendo el método Soxhlet, Kjeldah y Lane-Eynon respectivamente.

En análisis del inóculo se evaluó la Actividad Metanogénica Específica (AME) y la Actividad hidrolítica Específica (AHE) que sigue el protocolo descrito Astals et al (2015). De igual manera, el contenido de sólidos volátiles, demanda química de oxígeno y pH se determinó mediante los métodos descritos en el párrafo uno para estos casos.

**Figura 3.**

*Análisis, variable medida, periodicidad y componente al cual se le hizo la medición durante la experimentación.*

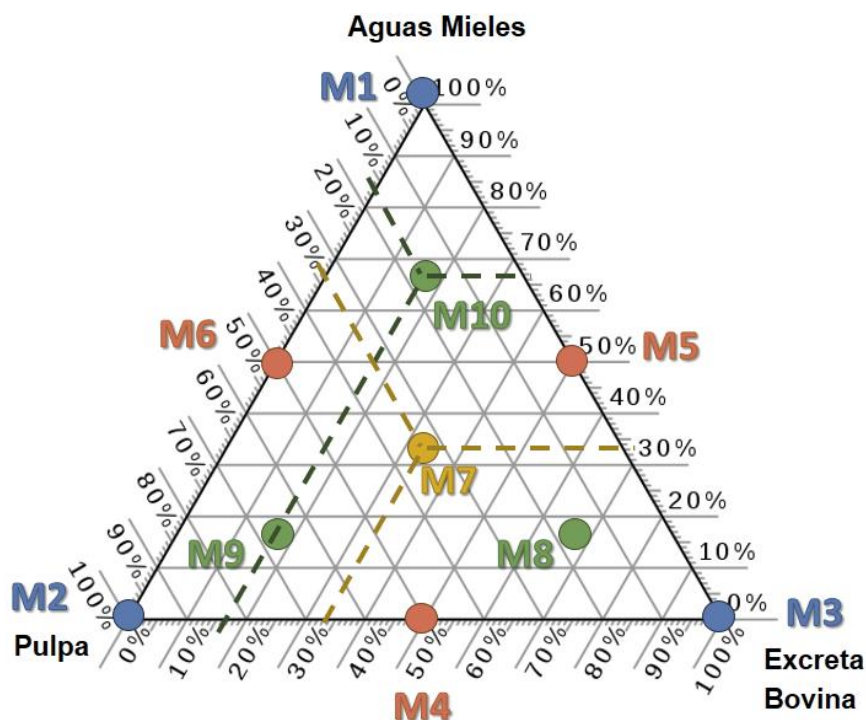


## 3.2 Determinación del Potencial de Biometanización

### 3.2.1 Diseño experimental

Para determinar el rendimiento de metano de los sustratos y sus mezclas, se implementó un diseño simplex ternario con puntos axiales  $\{q,m\}=\{3,2\}$ . En este diseño ( $q$ ) es el número de componentes, ( $m+1$ ) es el número de niveles para cada componente y la razón geométrica de los puntos axiales queda descrita por el factor  $\Delta = \frac{q-1}{q}$ . El punto central equidistante es  $(\frac{1}{q}, \frac{1}{q}, \frac{1}{q})$  y los tres puntos axiales son  $(\Delta, \Delta - \frac{1}{m}, \Delta - \frac{1}{m})$ ,  $(\Delta - \frac{1}{m}, \Delta - \frac{1}{m}, \Delta)$ ,  $(\Delta - \frac{1}{m}, \Delta, \Delta - \frac{1}{m})$ , los puntos binarios son  $(\frac{1}{m}, \frac{1}{m}, 0)$ ,  $(\frac{1}{m}, 0, \frac{1}{m})$  y  $(0, \frac{1}{m}, \frac{1}{m})$  y los puntos puros son  $(1,0,0)$ ,  $(0,1,0)$  y  $(0,0,1)$ . (Sánchez et al., 2016)

De esta manera, el diseño experimental se representa con un triángulo equilátero (figura 3) que consta de 10 puntos, correspondientes a las relaciones en porcentaje peso a peso de sólidos volátiles (SV).

**Figura 4.***Diseño experimental*

Los vértices son los (puntos azules) que corresponden a la monodigestión (monoDA) de los sustratos; las aristas (naranja) hacen referencia a la CoDA binaria con igual aporte de materia orgánica en términos de sólidos volátiles entre sustratos, el punto central (amarillo) es la CoDA ternaria con igual aporte de materia orgánica (sólidos volátiles) entre sustratos; los puntos axiales (verde) corresponden a las mezclas ternarias con diferentes aportes de materia orgánica entre sustratos. La tabla 2, resume los porcentajes obtenidos para el diseño experimental.

**Tabla 2.**

*Porcentaje de composición de sustrato puro en cada experimento.*

		<b>Experimento</b>									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Composición [% p/p en SV]</b>	Aguas Mieles	100	0	0	0	50	50	33	17	17	66
	Pulpa	0	100	0	50	0	50	33	17	66	17
	Estiércol Bovino	0	0	100	50	50	0	33	66	17	17
<b>Tipo de Digestión</b>		MonoDA			Binaria			Ternaria			

En el tratamiento de datos se utilizó el software Design Expert que ayudó a obtener las superficies de respuesta del potencial de biometanización (PBM) y Sinergia con el objetivo de encontrar la zona de composición de sustratos que maximice el rendimiento de metano y las interacciones sinérgicas entre los co-sustratos.

Esta técnica se basa en un conjunto de herramientas matemáticas y estadísticas útiles para la modelización y análisis de una respuesta de interés que puede ser influenciada por distintas variables con el fin de optimizar esta respuesta. (García & Diaz , 1995)

En el marco de esta investigación, se analizó como influye las características fisicoquímicas y nutricionales en la producción de biogás. La variable de respuesta principal fue la sinergia.

### **3.2.2 Ensayos de biodegradabilidad**

Los ensayos de biodegradabilidad anaerobia se realizaron por triplicado en botellas de 110 ML a temperatura mesofílica ( $37 \pm 2$  °C). La primera prueba consistió en seleccionar la relación inóculo/sustrato ( $RIS = g \text{ SV inóculo } g \text{ SV sustrato}^{-1}$ ) adecuada, dado que el sustrato Aguas Mieles presenta características fisicoquímicas que lo hacen susceptible a inhibición, como lo son la presencia de azúcares y alto contenido de humedad. Se eligieron dos niveles

para las pruebas: RIS=2 y RIS=4, siendo el rango habitual para este tipo de sustratos Holliger et al, (2016).

Posteriormente, se realizaron los ensayos para el diseño propuesto ajustando la carga orgánica a 32 gSV L<sup>-1</sup> y RIS = 4 g SV inóculo g SV sustrato<sup>-1</sup> según la metodología de Holliger et al., (2021). Igualmente, la producción de metano se cuantificó mediante el método de desplazamiento alcalino con sosa 2 N Parra, et al., (2015) durante 36 días. La ecuación 3 se utilizó para llevar a condiciones normales el volumen de metano producido. La variable de respuesta fue el potencial de Biometanización (PBM) presentado en la ecuación 4.

$$V_o = V \frac{(P-P_v)T_o}{P_o T} \quad \text{Ec-3}$$

Donde:

V<sub>o</sub>: Volumen de gas seco en condiciones normales [NLCH<sub>4</sub>]

V: Volumen registrado de biogás en la digestión [L]

P: Presión de la fase de biogás en el momento de la lectura

P<sub>v</sub>: Presión de vapor en función de la temperatura ambiente

T<sub>o</sub>: Temperatura normal (273.15 K)

P<sub>o</sub>: Presión normal (101325 Pa)

T: Temperatura ambiente (298.15 K)

$$PBM = \frac{V_o}{SV} \quad \text{Ec-4}$$

PBM: Potencial de biometanización [NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup>]

SV: Sólidos volátiles [kgSV<sup>-1</sup>]

Adicionalmente, se hizo un control con celulosa con el objetivo de establecer un punto de referencia para evaluar la actividad enzimática específica del inóculo. Esta celulosa es un sustrato ampliamente investigado que se manifiesta en comportamiento de degradación en condiciones específicas que asume un rango esperado entre 352 y 414 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup>. De igual

forma, se incluyó un blanco sin sustrato para medir la producción intrínseca de cualquier actividad enzimática por parte del inóculo. Esto permite identificar y cuantificar cualquier actividad enzimática endógena o no específica que podría interferir con las mediciones de los sustratos; garantizando que la producción de biogás de las mezclas se debe principalmente a la degradación específica del sustrato. También, se cuantificaron las concentraciones iniciales y finales de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y los niveles de pH, para analizar la estabilidad del proceso.

### ***3.3 Ajuste de parámetros cinéticos de los ensayos de biodegradabilidad anaerobia***

En este apartado se desarrollaron los modelos cinéticos de primer orden y Gompertz modificado a partir de los datos de producción de metano acumulado según Karki et al., (2022) y Kafle & Chen, (2016); autores que recomiendan estos dos enfoques matemáticos para describir y predecir la producción de metano.

El modelo de primer orden (Ec.1) es una simplificación que asume que la hidrólisis es el paso limitante de la velocidad de digestión anaerobia que se basa en la idea de que la tasa de producción de metano es proporcional a la cantidad de sustrato (materia orgánica) presente en el sistema de digestión anaeróbica. Este modelo se expresa mediante una ecuación diferencial que describe cómo cambia la cantidad de sustrato a lo largo del tiempo.

Por otro lado, el modelo de Gompertz modificado (Ec. 2) es una extensión del modelo de Gompertz original, que se usa ampliamente para describir el crecimiento de poblaciones biológicas. Llevado al contexto de la biometanización, este modelo se ajusta a la producción de metano en función del tiempo y tiene en cuenta una fase de inicio lenta (fase de latencia) seguida de una fase de crecimiento exponencial más rápida.

$$G_t = G_o(1 - e^{-kt}) \quad \text{Ec- 1}$$

$$G_t = G_o \cdot \exp\left(-\exp\left(\frac{R_{max} \cdot e}{G_o}(\lambda - t) + 1\right)\right) \quad \text{Ec - 2}$$

Donde,

$G(t)$ = Producción acumulada de metano en el tiempo  $t$  (mL g SV<sup>-1</sup>)

$G_0$ = Potencial de metano del sustrato (mL g SV<sup>-1</sup>)

$k$ = Constante de tasa de producción de metano (1 d<sup>-1</sup>)

$R_{max}$ = Velocidad máxima de producción de metano (mL g SV<sup>-1</sup> d)

$\lambda$  = Fase de latencia (d)

Para cuantificar el ajuste del modelo se utilizó el error cuadrático medio (RMSE), descrito por la ecuación 5. En esta ecuación,  $\hat{y}_i$  es el valor predicho por el modelo,  $y_i$  el valor real del experimento y  $N$  el número de datos.

$$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(\hat{y}_i - y_i)^2}{N}} \quad \text{Ec -5}$$

El ajuste de los parámetros cinéticos se realizó mediante la minimización del error cuadrático medio (RMSE) usando el método *GRG nonlinear*, en el software Microsoft Excel 2020.

### 3.4 Identificación de efectos sinérgicos

La interacción sinérgica corresponde al mejoramiento en la producción de metano cuando dos o más sustratos son sometidos a un proceso de Co-Digestión anaerobia en relación con lo que producirían individualmente. Por tanto, se evaluó el factor de interacción sinérgica ( $\varphi$ ) en términos del PBM comparando la producción específica de metano de cada mezcla con relación a los aportes individuales de cada sustrato como se muestra en la ecuación 6 (Garibaldi et al., 2022).

$$\varphi = \frac{PBM}{\sum x_j PBM_j} \quad \text{con } j \in \{A, P, EB\} \quad \text{Ec-6}$$

Donde  $x_j$  son las fracciones de sólidos volátiles adicionados según el componente  $j$ : Aguas mieles, pulpa, estiércol bovino y  $PBM_j$  representa los mono-digestiones del componente  $j$ . El valor de  $\varphi$  representa el efecto de la combinación como se muestra en la tabla. 3.

**Tabla 3.**

*Significado del valor de  $\varphi$ .*

<b>Valor</b>	<b>Significado</b>
$\varphi > 1$	Existe efecto sinérgico
$\varphi < 1$	Existe efecto antagónico
$\varphi = 1$	El resultado no es claro, invariante.

En el marco de esta investigación, se analizó cómo influye las características fisicoquímicas y nutricionales en la producción de biogás. La variable de respuesta principal fue la sinergia.

## 4. Resultados y discusión

### 4.1 Caracterización de sustratos.

En la tabla 4 se presenta la caracterización termogravimétrica, que expone el contenido de materia orgánica y el análisis químico proximal de los sustratos. Se resalta que el estiércol bovino empleado como sustrato está compuesto de excretas frescas con alto contenido de materia orgánica. Son características claves para determinar la eficiencia del proceso en la producción de biogás.

**Tabla 4.**

*Caracterización fisicoquímica de los sustratos.*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Aguas</b>	<b>Pulpa (P)</b>	<b>Estiércol</b>
		<b>Mieles (A)</b>		<b>Bovino (EB)</b>
<b>Sólidos Totales (ST)</b>	g ST kg <sup>-1</sup>	95.5	285.0	167.2
<b>Sólidos Volátiles (SV)</b>	g SV kg <sup>-1</sup>	77.6	164.9	125.8
<b>Contenido de humedad</b>	% peso	91.15	84.26	80.5
<b>Demanda Química de oxígeno (DQO)</b>	g DQO L <sup>-1</sup>	0.0944	-	69.41
<b>pH</b>	-	3.6	-	8.1
<b>Proteína</b>	% BS	7.05	57.6	9.05
<b>Grasa</b>	% BS	1.08	2.13	3.23
<b>Carbohidratos</b>	% BS	73.33	33.53	66.16
<b>Cenizas</b>	% BS	18.69	6.74	19.66
<b>Nitrógeno</b>	% BS	1.13	1.45	1.9
<b>Valor Calórico</b>	BS kcal 100 g <sup>-1</sup>	321.87	383.55	-

Las Aguas Mieles presentan un pH ácido y un alto contenido de materia orgánica representando en (sólidos volátiles y sólidos totales), haciendo el sustrato susceptible a ser degradado con facilidad por microorganismos. Asimismo, el alto contenido de sólidos genera colores oscuros en el agua, adicionalmente contienen cafeína, azúcares, proteínas y compuestos fenólicos Aguiar et al (2016).

Las aguas mieles se caracterizan por su composición diversa de azúcares las cuales contienen un pH ácido (4-4,5) y una alta cantidad de materia orgánica como lo menciona Aguilera et al. (1997), contrastado con los resultados obtenidos. Sin embargo, el pH para este

caso es menor en comparación a los valores de referencia mencionados anteriormente, esto sugiere la presencia de ácidos orgánicos, así como, procesos de fermentación que pueden generar la producción de ácidos y ocasionar la disminución del pH (Carbonero, 2005).

De igual forma, el resultado obtenido y en las revisiones bibliográficas de los autores Arias et al, (2019) registran un pH de 3,5 que se caracteriza por ser ácido, tal como la investigación de Álvarez et al. (2011), que menciona un pH de 3,6 muy similar a los valores ya mencionados. Por otra parte, las aguas mieles contienen gran cantidad de carbohidratos que en su mayoría se descomponen en azúcares reductores los cuales son esenciales para que los microorganismos presentes puedan, producir metano y dióxido de carbono.

Finalmente, la demanda química de oxígeno (DQO) es 0.094 g DQO L<sup>-1</sup>, un valor relativamente bajo, teniendo en cuenta los límites máximos establecidos de acuerdo con la normativa del Ministerio de Ambiente, con un valor mucho menor al máximo permitido (3 g DQO L<sup>-1</sup>), lo cual indica menor contaminación de la materia orgánica presente, siendo un sustrato ideal para la degradación anaerobia.

La pulpa de café se compone en su gran mayoría por proteínas que alcanza 57,6 %BS en este caso. Las proteínas son el componente más abundante en comparación con otros nutrientes presentes y, a su vez, es una fuente rica de azúcares. Por lo tanto, estos residuos tienden a fermentarse rápidamente, resultando en una considerable cantidad de sólidos. A diferencia del grano de café, en la pulpa sobresalen los azúcares reductores; especialmente la glucosa y la xilosa (Pleissner et al., 2016).

Asimismo, la Pulpa posee un gran contenido de humedad significativo, alcanzando el 84,26% en este caso, una cifra bastante similar a la estimación del estudio de Armas et al. (2008), que reporta un contenido de humedad del 86%. No obstante, estos resultados contrastan con los resultados proporcionado por Rodríguez (2015), quien sugiere que la Pulpa de café tiene un contenido de humedad entre el 76% y el 80%. En cuanto a los niveles de nitrógeno,

en este caso, se registra del 1.45%BS. Estos resultados contrastan con Rodríguez (2015), que estima un rango de contenido de nitrógeno en base seca es de 1,10% - 1,30%BS. Destacando que dicho nutriente es esencial para el crecimiento y la actividad de las bacterias, teniendo un impacto significativo en la estabilidad del proceso.

Lo mencionado anteriormente, Guerrero et al. (2019), indica que este residuo se podría transformar en compostaje, lo cual, permitiría aportar una gran cantidad de nutrientes al suelo y volverlo apto para el cultivo de otras plantas de consumo animal y humano.

El estiércol bovino se caracteriza por ser un co-sustrato con elevado contenido de sólidos volátiles y su valor de 125.8 g ST kg<sup>-1</sup> para este estudio. En comparación realizada por Castro et al. (2019) registran un valor de sólidos volátiles (SV) de 151,23 g ST kg<sup>-1</sup>. Estos resultados contrastan con los datos presentados por Rodríguez et al. (2000), en las características promedio de la biomasa que caracterizan al estiércol bovino con un valor de sólidos volátiles (SV) de 117,1 g ST kg<sup>-1</sup>. Debido a esto, presentan una rápida degradación de la materia orgánica y un alto contenido de carbohidratos, siendo un sustrato atractivo en la producción de biogás.

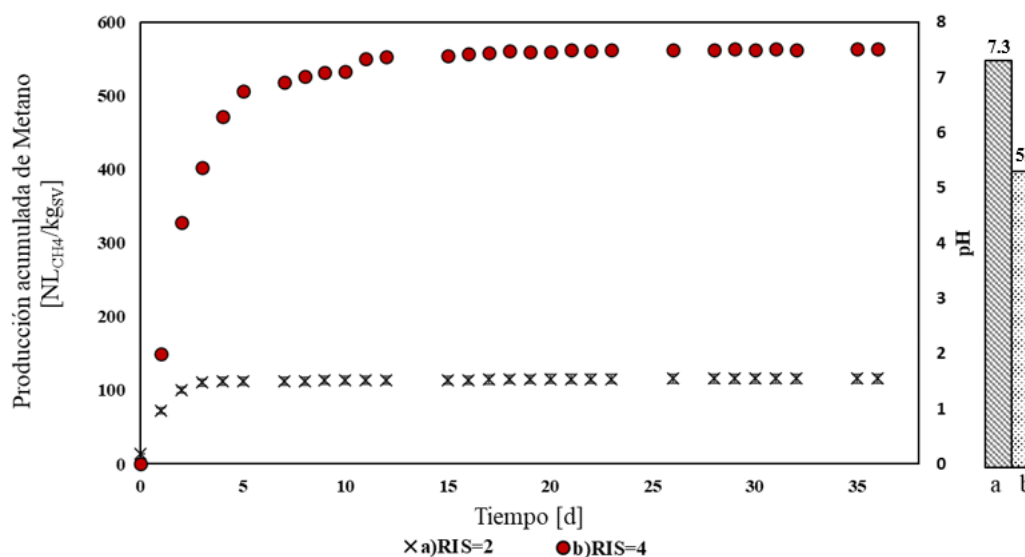
#### **4.2 Degradabilidad de las Aguas Mieles**

Las Aguas Mieles exhiben un comportamiento de degradación particular en contraste con los otros sustratos analizados (pulpa y estiércol bovino), debido a la abundancia de carbohidratos en su composición (73.33%BS). Como se menciona en el estudio del 2011 de Puerta & Ríos (2011) reportaron una concentración similar (82.8%BS), de los cuales el 47.9% fueron azúcares reductores. Este hallazgo sugiere la posibilidad de una digestión sumamente eficiente, dado el crecimiento acelerado de bacterias hidrolíticas.

De acuerdo con el primer experimento llevado a cabo para evaluar el rendimiento de metano a dos niveles de relación inóculo/sustrato (RIS) se obtuvo la producción acumulada de metano a) RIS=2 b) RIS=4 como se muestra en la figura 5.

**Figura 5.**

*Producción acumulada de metano de aguas mieles a RIS de 4 (puntos rojos) y a RIS de 2 (cruces negras); pH final de Aguas Mieles a RIS de 2 (barra con trama de líneas diagonales) y a RIS de 4 (barra con trama de puntos).*



El periodo de experimentación duró 36 días en donde las Aguas Mieles con RIS de 2 alcanzaron su máximo rendimiento de  $116 \pm 6$  NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> a los 11 días. El valor de pH=5.3 al final de la prueba mostró inhibición probablemente a la rápida acumulación de intermediarios de fermentación, como los Ácidos Grasos Volátiles (AGV).

Por otra parte, las Aguas Mieles con RIS de 4 mostraron un excelente desempeño logrando un rendimiento de  $563$  NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> lo que demuestra su capacidad acelerante en procesos de digestión anaerobia. A su vez implica que, para sustratos con alto contenido de azúcares, se requiere mayor carga orgánica de inóculo para minimizar riesgos de inhibición tal como lo recomienda Holliguer et al, (2016).

#### 4.3 Rendimiento de metano a lo largo del diseño lattice simplex

En la tabla 5 se presentan los PBM obtenidos para las mezclas evaluadas a RIS de 4. Con respecto a las monoDA, las Aguas Mieles presentaron el mayor rendimiento superando en un 42% y 44% al Estiércol Bovino y la Pulpa, respectivamente. Debido al alto contenido de

carbohidratos en las Aguas Mieles su monoDA duró 14 días en estabilizarse. Mendieta et al., (2020) reportaron menos de 20 días para estabilizar un sustrato rico en azúcares a través de DA.

**Tabla 5.**

*Resultados PBM y sinergia de rendimientos a RIS de 4.*

Mezcla			$X_A$	$X_P$	$X_{EB}$	PBM	$\phi_{PBM}$
			gSV/gSV	gSV/gSV	gSV/gSV	NL <sub>CH<sub>4</sub></sub> /kgSV	-
M1	Mono DA	Aguas Mieles (A)	100	0	0	563	1
M2	Mono DA	Pulpa (P)	0	100	0	318	1
M3	Mono DA	Excreta Bovina (EB)	0	0	100	328	1
M4	CoDA Binaria	P: EB	0	50	50	324	1.00
M5	CoDA Binaria	A: EB	50	0	50	542	1.22
M6	CoDA Binaria	A: P	50	50	0	562	1.28
M7	CoDA Ternaria	A: P: EB	33	33	33	465	1.16
M8	CoDA Ternaria	A: P: EB	17	17	66	407	1.11
M9	CoDA Ternaria	A: P: EB	17	66	17	380	1.05
M10	CoDA Ternaria	A: P: EB	66	17	17	629	1.31

$X_A$ : Porcentaje de Aguas Mieles en Sólidos Volátiles (SV)

$X_P$ : Porcentaje de Pulpa en Sólidos Volátiles (SV)

$X_{EB}$ : Porcentaje de Estiércol Bovino en Sólidos Volátiles (SV).

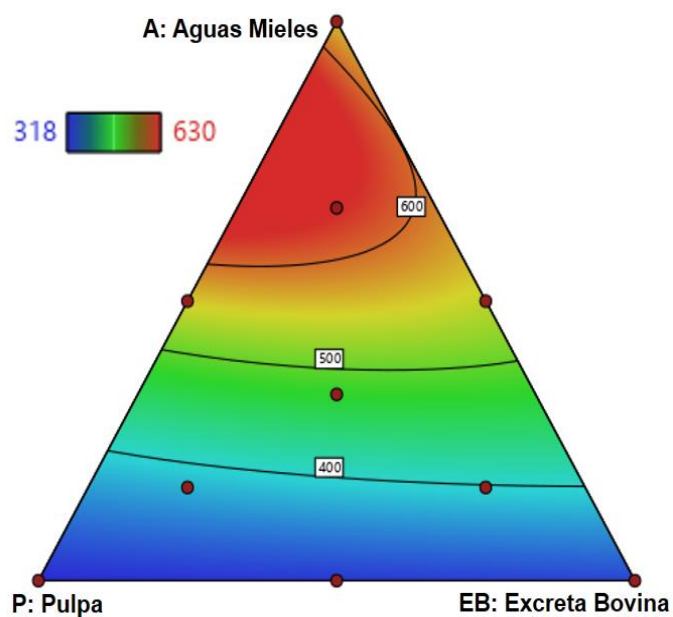
Las propiedades de las Aguas Mieles y la Pulpa hacen que su CoDA binaria (mezcla M6) sea la de mayor rendimiento, alcanzando  $562 \pm 2$  NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup>, esto se debe, a que las Aguas Mieles tienen un efecto acelerante sobre el residuo lignocelulósico que es la Pulpa. Resultados similares presenta la mezcla M5 para la CoDA binaria de Aguas Mieles y Estiércol Bovino. En este proceso se destaca el rendimiento de la mezcla M4 muestra que no hay interacciones sinérgicas entre el Estiércol Bovino y la Pulpa, pues la combinación de estos sustratos no representa una mejora significativa en la eficiencia de degradación microbiana, dando como resultado un factor de sinergia ( $\phi$ ) invariante de 1. Los resultados indican que la mayor sinergia se alcanza en CoDA ternaria, donde el principal aporte lo hacen las Aguas Mieles (mezcla M10), alcanzando un rendimiento de  $629 \pm 9$  NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup>. Estos hallazgos revelan la relevancia significativa de las Aguas Mieles en el proceso de biometanización, señalando su capacidad de potenciar la eficiencia del proceso en combinación con otros sustratos.

La figura 6 muestra la vista superior de la superficie de respuesta (RMS) del simplex que evidencia el Potencial de Biometanización (PBM). Estas gráficas son útiles para predecir el PBM de la mezcla en función de la composición del sustrato  $x_i$ . Las respuestas se analizaron estadísticamente para delimitar regiones significativas. Ejemplo de ello; cada región se marcó utilizando una escala de colores de azul a rojo según la magnitud de la respuesta. Asimismo, las áreas rojas representan el PBM estadísticamente más alto, mientras que las zonas azules mostraban los valores PBM estadísticamente más bajos. La ecuación 7 describe la inversa del rendimiento en función de  $x_i$ , así como de constantes  $n_i$ , las cuales se muestran en la tabla 4.

$$\frac{1}{PBM} = n_1 x_A + n_2 x_P + n_3 x_{EB} + n_4 x_A x_P + n_5 x_A x_{EB} + n_6 x_A x_P (x_A - x_P) \quad \text{Ec -7}$$

Donde  $n_1, n_2, n_3, n_4, n_5$  y  $n_6$  corresponden a las constantes de la ecuación para el modelo cúbico.

$x_A, x_P$  y  $x_{EB}$  corresponden a la composición de Aguas Mieles, Pulpa y Estiércol Bovino en términos de Sólidos Volátiles (SV) respectivamente.

**Figura 6.***Superficie de respuesta PBM***Tabla 6.***Ecuación interpolante y estadísticos PBM*

Parámetro	Valor
n1	0.001781
n2	0.003141
n3	0.003026
n4	-0.002658
n5	-0.002245
n6	-0.001565
R <sup>2</sup>	0.9982
R <sup>2</sup> ajustado	0.9960
Valor P	0.0001
Valor F	450.3

Los resultados de mezclar estos tres sustratos muestran que las áreas de máxima respuesta se encuentran en relación con Aguas mieles y en menor medida Pulpa. En consecuencia, la zona con menor rendimiento corresponde al vértice izquierdo en donde se sitúa 100% Pulpa.

#### 4.4 Evaluación de comportamiento cinético de los ensayos de biodegradabilidad

##### anaerobia

Se desarrollaron modelos cinéticos de producción de biogás: Modelo de primer orden y Modelo de Gompertz Modificado, estos modelos han sido ajustados exitosamente en procesos batch de digestión anaerobia tanto en monoDA como en co-digestión, ofreciendo bajas tasas de error. Las constantes cinéticas obtenidas se presentan en la tabla 7 así como los estadísticos  $R^2$  y RMSE. Al trazar los datos experimentales y el modelo cinético se obtuvieron las gráficas para cada mezcla como se muestra en la figura 7.

**Tabla 7.**

*Parámetros cinéticos y estadísticos para los modelos cinéticos de primer orden y gompertz modificado.*

Modelo	Unidad	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	Celulosa
		A	P	E	50P: 50 EB	50A: 50 EB	50A: 50 P	33A: 33 EB	17A: 17P:	17A: 66P:	66A: 17P:	
<b>Primer Orden</b>												
$G_o$	NLCH <sub>4</sub> kgSV <sup>-1</sup>	559.4	311.8	345.6	321.1	552.5	619.8	460.5	401.1	372.7	748.4	397.3
K	d <sup>-1</sup>	0.415	0.229	0.086	0.152	0.133	0.086	0.168	0.151	0.217	0.062	0.116
RMSE	NLCH <sub>4</sub> kgSV <sup>-1</sup>	10.813	6.692	6.326	2.792	10.099	27.120	7.037	6.105	6.342	33.782	20.825
$R^2$		0.997	0.994	0.999	0.999	0.996	0.977	0.997	0.997	0.996	0.973	0.979
<b>Gompertz Modificado</b>												
$G_o$	NLCH <sub>4</sub> kgSV <sup>-1</sup>	554.5	305.2	317.0	311.1	531.6	575.2	447.4	388.3	364.5	654.8	372.8
$\lambda$	d	0	0	0.042	0	0	0.027	0	0	0	0.375	1.280
$R_{max}$	NLCH <sub>4</sub> kgSV <sup>-1</sup>	153.236	47.365	20.637	31.640	48.102	36.071	50.776	39.503	53.551	34.587	38.129

RMSE	NLCH <sub>4</sub> kgSV <sup>-1</sup>	13.922	15.450	7.519	12.550	10.976	16.725	18.960	18.470	16.440	21.375	8.012
R <sup>2</sup>		0.993	0.964	0.997	0.982	0.995	0.991	0.978	0.974	0.972	0.989	0.996

---

El coeficiente de correlación R<sup>2</sup> indica un mejor ajuste con el Modelo de Primer Orden entre 0.994 y 0.999. De igual manera, el error cuadrático medio (RMSE) fue inferior a 11 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> con la excepción para las mezclas M6 y M10. Kafle & Chen (2016), reportaron que el término k era una medida de la tasa de producción de biogás con el tiempo. Cuanto más positivo sea el valor de k, más rápida será la tasa de producción de biogás. El sustrato Aguas Mieles presente en M1 en su totalidad, mostro un valor de k de 0.415 d<sup>-1</sup> siendo el más alto de todas las mezclas.

Por otra parte, el menor rendimiento obtenido (318 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup>) para la monodigestión de pulpa presenta una constante cinética k de 0.229 d<sup>-1</sup>, el segundo valor más alto después de M1. Esto puede indicar que la pulpa presenta una tasa de producción de metano rápida pero su potencial máximo no es el adecuado, pues su composición polimérica estructural dificulta su degradación.

A menudo, el modelo de primer orden se conoce como modelo de hidrólisis, pues k está directamente relacionada con la velocidad de degradación en la primera fase de la DA. Sin embargo, el modelo de primer orden asume que la concentración de sustratos presente en el proceso se degrada en la fase de hidrólisis y esto es proporcional a la producción de biogás, dicha afirmación no se presenta en todos los casos, dado que algunos sustratos son más difíciles de degradar y pueden requerir más tiempo para producir biogás.

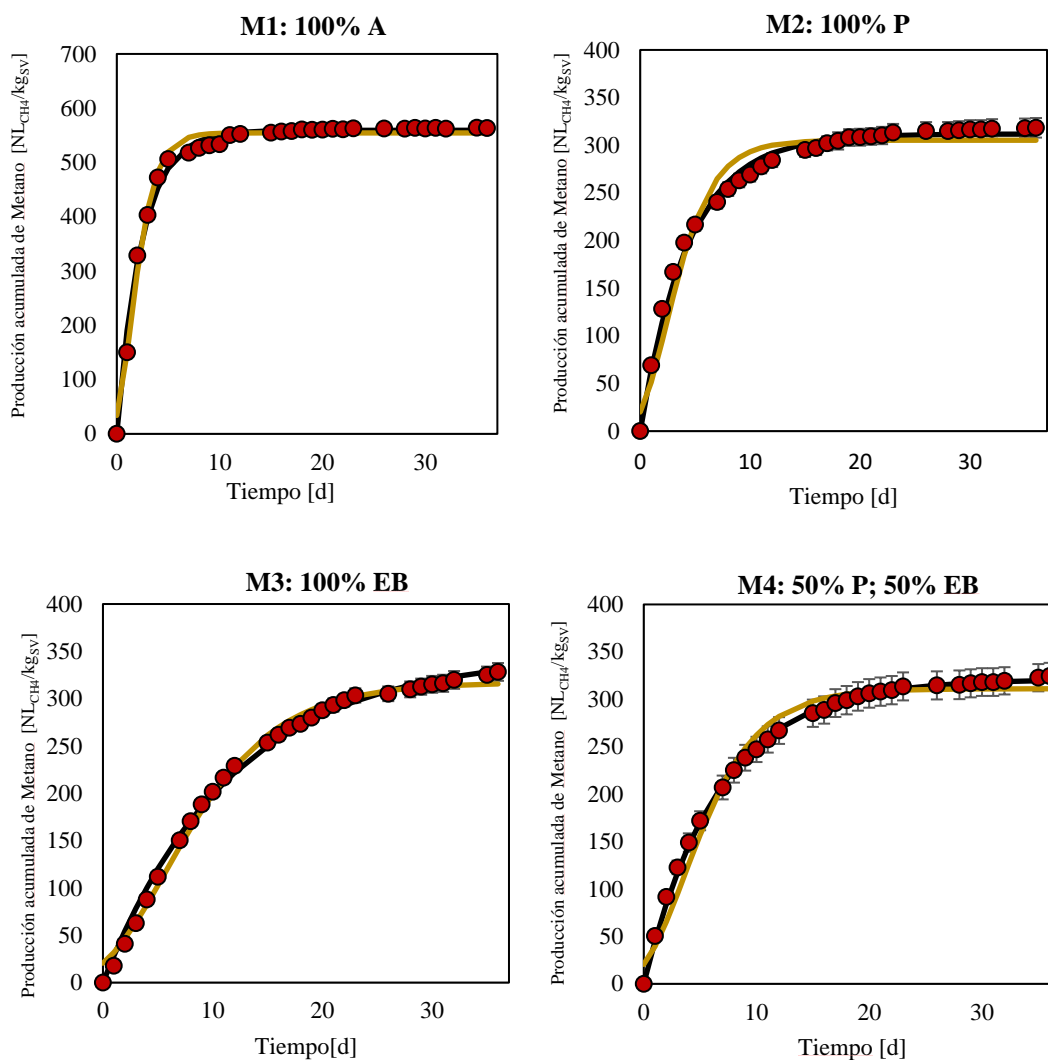
Tal es el caso de M6 (50 A: 50 P) con k de 0.086 d<sup>-1</sup> y M10 (66 A: 17 P: 17 EB) con k de 0.062 d<sup>-1</sup>, siendo los valores inferiores obtenidos. En estos casos, el modelo de Gompertz ofrece un ajuste superior debido a la fase de latencia, para los cuales se obtuvo un R<sup>2</sup> de 0.991 y 0.989 y un RMSE de 16.725 y 21.375 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> respectivamente. El experimento M10 (66 A: 17 P: 17 EB) obtuvo la mayor producción de metano de 629±9 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> y según la cinética de Gompertz presenta una fase

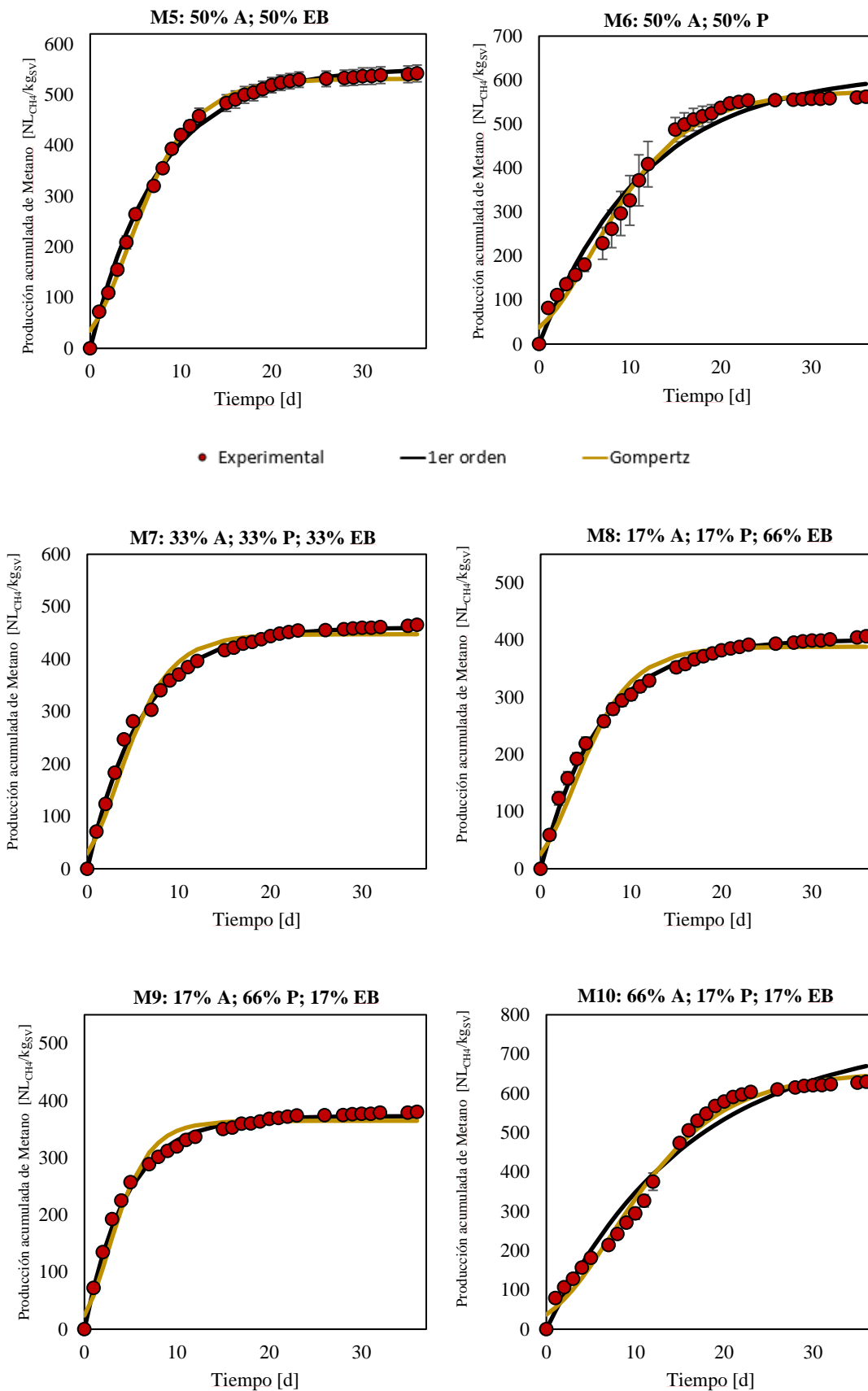
de latencia de aproximadamente 9 h, indicando que los microorganismos presentes requieren un periodo de adaptación para iniciar la degradación.

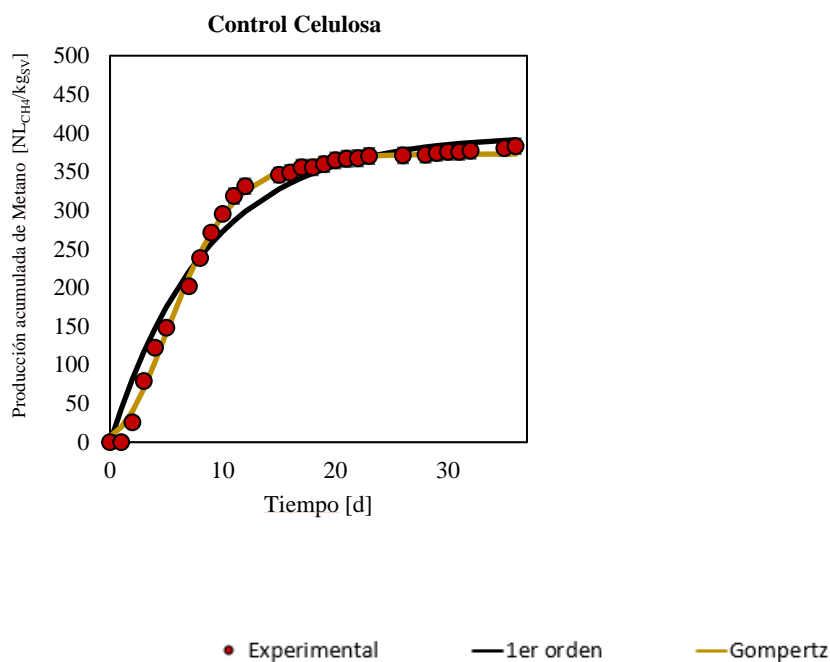
Todos los resultados obtenidos en la fase de latencia son cortos o nulos, por lo que coincide con las investigaciones reportadas por Granados, et al (2022) al identificar que este comportamiento se asocia con un mayor potencial de DA.

**Figura 7.**

*Cinéticas de reacción de cada mezcla.*







#### 4.5 Identificación de efectos sinérgicos

El resultado de la interacción favorable entre sustratos puede utilizarse como parámetro de estabilidad del proceso de CoDA. Dichos efectos sinérgicos resultan de las contribuciones de los co-sustratos en términos de alcalinidad, oligoelementos, nutrientes o cualquier otra característica de la que carece el sustrato entre sí. Matemáticamente, se analiza mediante el factor de sinergia ( $\phi$ ) el cuál debe ser mayor a 1 para efectos positivos.

En la figura 8 se presenta el comportamiento del factor de sinergia sobre un diagrama ternario. La superficie de respuesta corresponde a una regresión cúbica (Ec. 7), alcanzando  $R^2= 0.984$ ;  $R^2_{ajustado}=0.964$ . Asimismo, los modelos RMS permiten delimitar las áreas de interés para optimizar la respuesta de las variables estudiadas. En este caso, la zona roja indica mayor sinergia entre los sustratos mientras que la zona azul indica que no hay efecto significativo.

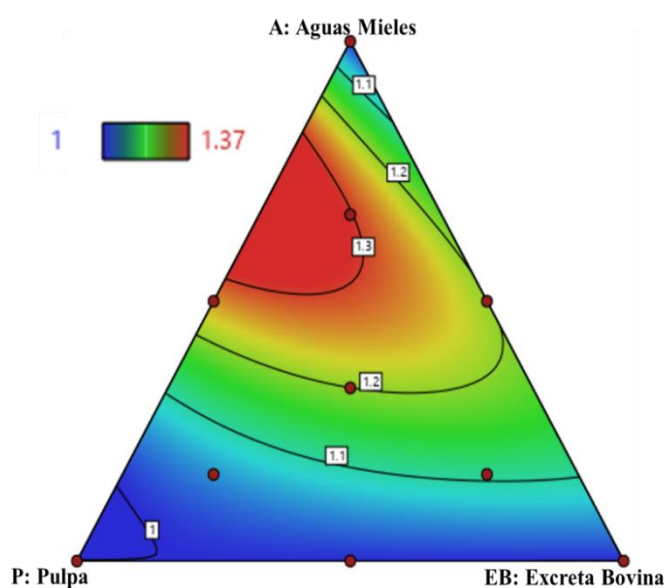
$$\frac{1}{\phi_{PBM}} = m_1x_A + m_2x_P + m_3x_{EB} + m_4x_Ax_P + m_5x_Ax_{EB} + m_6x_Ax_P(x_A - x_P) \quad \text{Ec-7}$$

Donde  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_3$ ,  $m_4$ ,  $m_5$  y  $m_6$  corresponden a las constantes de la ecuación para el modelo cúbico.

$X_A$ ,  $X_P$  y  $X_{EB}$  corresponden a la composición de Aguas Mieles, Pulpa y Estiércol Bovino en términos de Sólidos Volátiles (SV) respectivamente.

**Figura 8.**

*Superficie de respuesta Sinergia*



**Tabla 8.**

*Ecuación interpolante y estadísticos Sinergia*

Parámetro	Valor
$m_1$	0.996
$m_2$	0.999
$m_3$	1
$m_4$	-0.819
$m_5$	-0.666
$m_6$	-1.160
$R^2$	0.984
$R^2$ ajustado	0.964
Valor P	0.001
Valor F	49.06

Los resultados de las regresiones coinciden en el comportamiento y el área delimitada para la mejor relación de mezcla. El punto de máxima sinergia fue para 0.66 A: 0.17 P: 0.17 EB en términos de SV con  $\phi = 1.31$ . Lo cual indica que, bajo esta relación de mezcla, se alcanza un equilibrio nutricional al punto de obtener más biogás que si se tratasen los residuos en reactores individuales.

Se produjeron efectos sinérgicos para las mezclas binarias con valores de 1.22 y 1.28 para 50 A: 50 EB, 50 A: 50 P respectivamente. Demostrando la influencia las Aguas Mieles como un acelerante que favorece la actividad microbiana.

Investigaciones realizadas por Arcaley & Quipuzco (2020) para la co-digestión de Aguas Mieles y Estiércol Bovino muestran un PBM de 377 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> para una RIS de 2, además enfatiza en el uso de otro sustrato que ayude a equilibrar el carácter ácido de las aguas mieles. Según Ortega (2006) señala que la producción de metano presente el biogás se puede ver afectada para pH menores a 5.

La rápida tasa de biodegradación de los desechos ricos en carbohidratos favorece la eliminación de las fases latentes en proporción con las altas concentraciones de lípidos y proteínas Astals et al (2015). De acuerdo con lo anterior, se infiere que la suplementación de residuos ricos en carbohidratos como las Aguas Mieles mejoró la biodegradabilidad de residuos ricos en proteínas como la Pulpa que disminuyen el tamaño de partícula y favorecen el acceso de las enzimas durante las etapas de digestión (Menon & Rao, 2012).

Por otra parte, Ávila et al. (2018) obtuvieron que el PBM para la Co-DA de Estiércol Bovino y Pulpa fue de 259.80 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup> y coincide con Pandey et al. (2000) en el alto contenido de materia orgánica que presentan ambos sustratos. Debido a sus similitudes en cuanto a composición, la interacción entre estos sustratos no representa un aporte nutricional favorable que mejore el rendimiento de biogás con respecto a tratarlo individualmente, esto se ve reflejado en un factor de sinergia invariante,  $\phi=1$ . En este estudio, la mezcla de estiércol bovino con pulpa alcanzó rendimientos de 324 NLCH<sub>4</sub> kgSV<sup>-1</sup>, con un factor de sinergia de  $\phi=1$  corroborando lo reportado por la bibliografía.

En general, todas las mezclas ternarias presentaron efectos sinérgicos con valores entre  $\phi=1.05$  y  $\phi=1.31$ . Sin embargo, la mezcla 0.17 A: 0.66 P: 0.17 EB (M9), fue la de más bajo valor, esto debido a la alta composición de pulpa, pues es un compuesto lignocelulósico con un contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina de 33.7, 44.2 y 15.6% respectivamente Menon & Rao (2012), lo que hace que su degradación sin previo tratamiento sea poco efectiva.

En la revisión bibliográfica realizada, muestra que se ha estudiado la Digestión Anaerobia (DA) tanto para los sustratos Aguas Mieles, Pulpa y Estiércol Bovino como para las mezclas binarias entre ellos. Sin embargo, las investigaciones tienen limitantes en evaluar el comportamiento de la mezcla ternaria entre estos sustratos. Teniendo en cuenta la capacidad que presentan cada uno de los sustratos para producir metano, y de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se puede afirmar que la mezcla ternaria (M10) 0.66 A: 0.17 P: 0.17 EB es la más factible, pues se aprovechan los beneficios de cada sustrato en la producción de biogás y a su vez se compensan los efectos no deseados de estos.

#### **4.6 Evaluación de la degradación de materia orgánica para diferentes relaciones de mezcla:**

La tabla 9 presenta la caracterización de los experimentos realizados y su influencia en la remoción de sólidos volátiles y sólidos totales. Respecto a las relaciones de mezcla estas se encuentran en el orden y proporción aguas mieles, pulpa y estiércol bovino) siguiendo el orden se presentan las monodigestiones (M1, M2 Y M3), co-digestiones (M4, M5 Y M6) y mezclas ternarias (M7, M8, M9 Y M10).

Con respecto al pH de la operación se puede concluir que este afecta directamente el proceso anaerobio. El rango de pH adecuado para este proceso se describió entre (6.8-7) (Mao et al., 2015). Los resultados de este trabajo muestran que todos los experimentos realizados presentaron un rango de pH (7.34-8.2), al final de los ensayos, donde se evidencia que el pH se encontraba en niveles neutros o levemente básicos en todas las mezclas. Este equilibrio cercano a la neutralidad es fundamental, ya que

promueve una metanogénesis estable y la presencia abundante de comunidades microbiana (Rivas et al., 2010).

**Tabla 7.**

*Porcentaje de degradación y pH final de los experimentos.*

Experimentos	Relaciones de mezcla	pH	ST (g ST kg <sup>-1</sup> )	SV (g SV kg <sup>-1</sup> )	%Degradación
M1	100 A	7.34	41.4	26.8	75%
M2	100 P	8.12	39.1	25.8	65%
M3	100 EB	8.07	44.9	27.7	83%
M4	50P:50EB	8.07	39.9	25.6	64%
M5	50A:50EB	8.16	40.2	25.3	61%
M6	50A:50P	8.12	39.8	25.8	66%
M7	33A:33P:33EB	8.17	42.3	27.7	83%
M8	17A:17P:66EB	8.15	43.4	28.0	86%
M9	17A:66P:17EB	8.09	40.9	26.7	74%
M10	66A:17P:17EB	7.57	38.9	25.2	60%

Con relación al porcentaje de degradación de sólidos volátiles (SV), este tuvo una variación entre 60% hasta 86% en todas las mezclas (Tabla 9), siendo la mezcla 8 (17A: 17P: 66EB) la que alcanzó mayor porcentaje degradación (86%). Este resultado sugiere una absorción de nutrientes más efectiva en el caso de la materia orgánica proveniente del estiércol bovino.

Caso contrario sucede con la mezcla 10 (66A: 17P: 17EB) cuyo porcentaje degradación es el más bajo con respecto a los demás experimentos. Esto podría estar influenciado por varios factores, como la baja cantidad de sólidos volátiles (SV) y sólidos totales (ST), lo cual indica una escasa presencia de materia

orgánica en esta muestra. En ausencia, de suficiente materia orgánica, la actividad microbiana responsable de descomponer los contaminantes presentes puede verse obstaculizada.

Un motivo que puede influenciar en su bajo porcentaje de remoción es la presencia de material lignocelulósico proveniente de la Pulpa, lo que impide su degradación en la digestión anaerobia. Siendo que esta mezcla no se ajusta de manera óptima al tratamiento o gestión del residuo, sino que se inclina más hacia la valorización y mejora del rendimiento de la producción de metano.

### Conclusiones

En el proceso del beneficio del café se resalta la producción principalmente de dos residuos; las aguas mieles, sustrato rápidamente degradable que acelera la digestión anaerobia y la pulpa sustrato lignocelulósico, material que podría aumentar la superficie específica dentro del reactor favoreciendo los rendimientos de la digestión. Dichos resultados destacan el alto rendimiento de las Aguas Mieles ( $563 \text{ NLCH}_4 \text{ kgSV}^{-1}$ ) superando significativamente a los otros sustratos debido a su contenido de carbohidratos.

Con respecto a la co-digestión se demostró que combinar el efecto buffer del estiércol bovino con un sustrato de rápida degradación como las aguas mieles y el alto contenido de materia orgánica de la pulpa, permite que el proceso anaerobio sea viable para la valorización de múltiples sustratos en una finca cafetera. Particularmente aquellas con una presencia dominante de Aguas Mieles; demostraron un efecto sinérgico positivo. Esto se vio evidenciado en la mezcla ternaria M10 (66 A:17 P:17 EB) donde se obtuvo un potencial de biometanización de  $629 \text{ NLCH}_4 \text{ kgSV}^{-1}$  y factor de sinergia de  $\phi=1.31$  son los valores más altos de las mezclas estudiadas

En cuanto al comportamiento cinético de los ensayos de biodegradabilidad, el modelo de primer orden permite un análisis rápido de la degradación que se refleja en la constante cinética "k". Esta constante fue notablemente más alta en las aguas mieles ( $0.415 \text{ d}^{-1}$ ) lo que indica que en casos en donde se requiera rápida producción de biogás se preferirá el uso de solo aguas mieles.

En situaciones particulares; especialmente en los casos de M6 y M10, el Modelo de Gompertz destacó la presencia de una fase de latencia. Esta fase, posiblemente atribuible a la composición estructural de la pulpa presente en las mezclas mencionadas, la cual se traduce en una degradación más difícil, a su vez puede ser la causante del bajo porcentaje de remoción.

En estos casos, se requiere un periodo de adaptación para que el consorcio microbiano inicie eficientemente el proceso de degradación.

Finalmente, se concluye que la mezcla ternaria con proporciones 66 A:17 P:17 EB es la óptima para la digestión Anaerobia teniendo como parámetro la sinergia obtenida, la cual también refleja una mayor producción de biogás. Esta combinación logra un equilibrio nutricional que favorece la producción de biogás en comparación con el tratamiento individual de estos sustratos.

**Referencias Bibliográficas**

- Acarley, F., & Quipuzco, L. (2020). Methane production through anaerobic digestion of honey water, by product of coffee wet process. *Agroindustrial Science*, 10(1), 7-16. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.01.01>
- Acosta, Y. L., & Abreu, M. C. O. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 39(1), 35-48.
- Aguiar, L., Larissa, A., & Oliveira, J. (2016). Evaluación del potencial tóxico de aguas residuales de café sobre semillas, raíces y células meristemáticas de *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicol Environ Saf*, pp 133: 366-72.
- Aguiar, J., Estevinho, B., & Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application e the specific case of coffee antioxidants. *Trends Food Sci. Tech*, pp 58, 21-39.
- Aguilera, Y., Consuegra, R., & Rapado, M. (1997). Treatment of coffee wastewater by gamma radiation.
- Alcaldía Municipal de Piedecuesta. (10 de Mayo de 2015). *Información del Municipio*. Obtenido de Información del Municipio: <https://www.alcaldiadepiedecuesta.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx>
- Álvarez , J., Smeltekop, H., & Cuba , N. (2011). Evaluación de un sistema de tratamiento de aguas residuales del prebeneficiado de café (*Coffea arabica*) implementado en la comunidad Carmen Pampa provincia Nor Yungas del Departamento de La Paz. *J. Selva Andina Res. Soc.* , v.2 n.1 .
- Amaya, P. J. (2017). Potencial Anarobico de lactosuero potencial anaerobico de lactosuero biogas y recuperación de nutrientes. *UIS*, P.1-10.
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Gaithersburg, E.U.U.: 18th Ed.
- Arias, S., & López , D. (2019). Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria. *Lámpsakos*, pp. 123-136.

- Astals, S., Batstone, D., Tait, S., & Jensen, P. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *watres*, pp 81, 208.
- Ávila, M., Campos, R., & Brenes, L. (2018). Generación de biogás a partir del aprovechamiento de residuos sólidos biodegradables en el Tecnológico de Costa Rica, sede Cartago. *Tecnología en Marcha*, p159-170.
- Carbonero, P. (2005). *Bioquímica de las fermentaciones*. Madrid, España: Universidad Politécnica de Madrid.
- Cárdenas, L., Parra, B., & Torres, P. (2016). Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. *Rev. ion*, vol.29 no.1 .
- Castro-Molano, L. D. P., Parrales-Ramírez, Y. A., & Escalante-Hernández, H. (2019). Co-digestión anaerobia de estiércoles bovino, porcino y equino como alternativa para mejorar el potencial energético en digestores domésticos. *Revista Ion*, 32(2), 29-39.
- Chaves, E., & Esquivel, P. (2018). Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Universidad de Costa Rica*, pp.5-15.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (5 de Mayo de 2021). *Café crece 21,4% en primer trimestre y jalona PIB agropecuario de 3,3%*. Obtenido de *Café crece 21,4% en primer trimestre y jalona PIB agropecuario de 3,3%*: <https://federaciondefcafeteros.org/wp/listado-noticias/cafe-crece-214-en-primer-trimestre-y-jalona-pib-agropecuario-de-33/>
- Fernández, Y., Sotto, K., & Vargas, L. (2020). Impactos ambientales de la producción del café, y el aprovechamiento sustentable de los residuos generados. *REVISTA PRODUCCIÓN + LIMPIA*, Vol. 15 No 1.
- García, M., & Diaz, J. (1995). A Review of: Principles of Experimental Design and Analysis. *Chapman & Hall*, p. 409.
- Garibaldi-Alcívar, K. A., Montesdeoca-Pichucho, N. B., Baquerizo-Crespo, R. J., Oliva-Merencio, D., Gómez-Salcedo, Y., & Pereda-Reyes, I. (2022). CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS SÓLIDOS DEL BENEFICIO DEL CAFÉ, PSEUDOTALLO DE PLÁTANO Y EXCRETA PORCINA: CRITERIOS CINÉTICOS, ENERGÉTICOS Y AMBIENTALES. *Centro Azúcar*, 49(2), 60-72.

- Granados, J., Abril, D., & Mogollón, A. (2022). Cinética de la digestión anaeróbica de excretas porcina para la obtención de biogás en laboratorio. *Ingeniería Agrícola*, vol. 12, núm. 4.
- Guerrero, P. A. O., Vasco, K. V. G., & Pérez, A. M. M. (2019). Obtención de un coagulante natural a partir de la cáscara de café (*Coffea arábica*) proveniente de la finca Arrayanes, Nariño. *Boletín Informativo CEI*, 6(1), 118-119.
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., Buffière, P., Carballa, M., de Wilde, V., Ebertseder, F., Fernández, B., Ficara, E., Fotidis, I., Frigon, J. C., de Lacroix, H. F., Ghasimi, D. S. M., Hack, G., Hartel, M., ... Wierinck, I. (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11), 2515–2522. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>
- Holliger, C., Astals, S., de Lacroix, H. F., Hafner, S. D., Koch, K., & Weinrich, S. (2021). Towards a standardization of biomethane potential tests: A commentary. *Water Science and Technology*, 83(1), 247–250. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.569>
- International Coffee Organization. (15 de Junio de 2020). *Noticias de la OIC*. Obtenido de Noticias de la OIC: <https://www.ico.org/>
- Jinsu, K., Jaai, K., & Changsoo, L. (2019). Energy production from different organic wastes by anaerobic co-digestion: Maximizing methane yield versus maximizing synergistic effect. *IDEAS*, p. 683-690.
- Julio Guerrero, I. C., Peláez Jaramillo, C. A., & Molina Perez, F. J. (2016). Evaluación de la co-digestión anaerobia de lodos de aguas residuales municipales con residuos de alimentos. *Revista ion*, 29(1), 63-70.
- Kafle, G. K., & Chen, L. (2016). Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models. *Waste management*, 48, 492-502
- Kampioti, A., & Komilis, D. (2022). Anaerobic co-digestion of coffee waste with other organic substrates: A mixture experimental design. *Chemosphere*, 297, 134124.
- Karki, R., Chuenchart, W., & Surendra, K. (2022). Codigestión anaeróbica de diversos desechos orgánicos: modelado cinético y evaluación de impacto sinérgico. *Tecnología de biorrecursos*, pp.1-35.

- Kim, J., Baek, G., Kim, J., & Lee, C. (2019). Energy production from different organic wastes by anaerobic co-digestion: Maximizing methane yield versus maximizing synergistic effect. *Renewable energy*, 136, 683-690.
- Louzada , L., Fonseca , A., & Oliveira , J. (2016). Evaluación del potencial tóxico de aguas residuales de café sobre semillas, raíces y células meristemáticas de *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicología y Seguridad Ambiental*, páginas 366-372.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and sustainable energy reviews*, 45, 540-555.
- Mendieta, O., Madrigal, G., Castro, L., Rodríguez, J., & Escalante, H. (2020). Sugarcane scum as a novel substrate for rapid biogas production from the non-centrifugal cane sugar agribusiness sector in developing countries. *Bioresource Technology*, 297, 122364. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122364>
- Menon, V., & Rao, M. (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 522–550.
- Ortega, N. M. (2006). Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. Universal-Publishers.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., Brand, D., Mohan, R., & Roussos, S. (2000). Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal*, 6(2), 153-162.
- Park, J.H., Kumar, G., Yun, Y.M., Kwon, J.C., Kim, S.H., (2018). Effect of feeding mode and dilution on the performance and microbial community population in anaerobic digestion of food waste. *Bioresour. Technol.* 248, 134–140.
- Parra, B., Torres, P., & Marmolejo, L. (2015). Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, volumen XVI (número 4).
- Parra, R. (2015). Digestión anaeróbica: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción + Limpia*, vol.10 no.2.

- Pleissner, D., Katrin , A., & Mehlmann , K. (2016). Producción fermentativa de ácido láctico a partir de hidrolizado de pulpa de café utilizando *Bacillus coagulans* a escala de laboratorio y piloto. *Tecnología Bioambiental*, Páginas 167-173.
- Puerta, G. I., & Ríos, S. (2014). Composición Química del mucílago de café según el tiempo de fermentación y refrigeración.
- Real, J., & Gutiérrez, J. (2010). Biodegradación anaerobia de las aguas generadas en el despulpado del café. *Rev. colombia*, vol.12 no.2 .
- Rivas-Solano, O., Faith-Vargas, M., & Guillén-Watson, R. (2010). Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. *Revista Tecnología en Marcha*, 23(1), ág-39.
- Rodríguez, N. (2015). Producción de alcohol a partir de la pulpa de café.
- Rodríguez, S., Pérez, R. M., & Fernández, M. (2000). Estudio de la biodegradabilidad anaerobia de las aguas residuales del beneficio húmedo del café. *Interciencia*, 25(8), 386-390.
- Sánchez, C., Patiño, M., & Alcántara, J. (2016). Determinación del Potencial Bioquímico de Metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares. *Rev. Int. Contam. Ambie*, p. 191-198, 2016.
- Serna, J., Torres, L., & Martínez, K. (2018). Aprovechamiento de la pulpa de café como. *ION*, p 1- 6.
- Sosa, D., Escobar, A., & Faure, R. (2017). Deoxinivalenol: métodos de análisis de residualidad en cereales. Toxicidad en animales de granjas. *Rev Salud Anim*, vol.39 no.2.
- Toraman, H. (2018). Digestión anaeróbica. *LibreTexts*, p. 1-9.
- Torres, P., & Pérez, A. (2010). Actividad Metanogenicas especifica: una herramienta de control y optimización. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, pp. 5-14.
- Traba, J. A. (1994). Caracterización de residuales sólidos de café, especie *Coffea arabica*. *Ciencia*, p 45, 375.