

EVALUACIÓN DEL RIESGO DE ACIDIFICACIÓN DEL PROCESO DE  
CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE LA PULPA Y AGUAS MIELES DE CAFÉ CON  
ESTIÉRCOL BOVINO EN UN BIODIGESTOR TUBULAR EN OPERACIÓN SEMICONTINUA

MARÍA PAULA GARAY JÁCOME

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TECNOLOGÍAS DE VALORIZACIÓN DE RESIDUOS Y  
FUENTES AGRÍCOLAS E INDUSTRIALES PARA LA SUSTENTABILIDAD ENERGÉTICA  
BUCARAMANGA

2025

EVALUACIÓN DEL RIESGO DE ACIDIFICACIÓN DEL PROCESO DE  
CO- DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE LA PULPA Y AGUAS MIELES DE CAFÉ CON  
ESTIÉRCOL BOVINO EN UN BIODIGESTOR TUBULAR EN OPERACIÓN SEMICONTINUA

MARÍA PAULA GARAY JÁCOME

Trabajo de Investigación para optar por el título de Magister en Ingeniería Química

Director

HUMBERTO ESCALANTE HERNÁNDEZ

Ingeniero Químico, Ph.D.

Codirectora:

LILIANA DEL PILAR CASTRO MOLANO

Ingeniera Química, Ph.D.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TECNOLOGÍAS DE VALORIZACIÓN DE RESIDUOS Y  
FUENTES AGRÍCOLAS E INDUSTRIALES PARA LA SUSTENTABILIDAD ENERGÉTICA  
BUCARAMANGA

2025

## DEDICATORIA

A Dios, que con su amor me sostuvo cuando mi mente se llenó de dudas.

A mi mamá, Andrea, que con su esfuerzo y apoyo me han permitido convertirme en la mujer  
que soy.

A mis amigos, Daniel Patiño, Anasol Mantilla y Paula Velasco, les adeudo las palabras de  
aliento. Su compañía en esta etapa me enseñó lo frágil que puede ser la amistad y lo valioso  
que es atesorarla en el corazón.

A la vida, que me ha dado las lecciones más importantes; me enseñó a ser resiliente y  
paciente, a esperar en la oscuridad los destellos de luz del camino por seguir.

A mí, que desde mi pequeñez aprendí a ver la grandeza del mundo.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Industrial de Santander por brindarme la oportunidad de crecer profesionalmente y formarme con docentes excepcionales, que apoyaron y fortalecieron mi espíritu investigativo.

Al grupo de investigación INTERFASE y al laboratorio de Digestión Anaeróbica, por brindarme un espacio de aprendizaje y la oportunidad de descubrir y desarrollar mis capacidades como ingeniera. A los profesores Humberto Escalante y Liliana Castro, gracias por su respaldo incondicional, por confiar en mí y por compartir su tiempo, conocimiento y experiencia con generosidad y paciencia. Su guía ha sido fundamental en mi formación personal y profesional. A la profesora Débora Nabarlatz, gracias por su motivación y respaldo durante el desarrollo de mi trabajo de investigación.

A Guillermo Acero, por su colaboración en los laboratorios de la Escuela de Ingeniería Química; a Lina Afanador y Ayleen Acuña, por el cariño y disposición en los trámites académicos.

A Alexander Muñoz, Jaime Jaimes y María José Uribe, por el apoyo durante esta etapa tan significativa de mi formación académica.

A Jessica Nieto, Juan Navarro, Sheyla Gómez, Brandon Rodríguez, Karina Jaimes, Claudia Pachón, Juan Rodríguez y Carlos García, por permitirme hacer parte de sus trabajos de grado y enseñarme el valor de la paciencia, la dedicación y el trabajo en equipo.

Finalmente, a todas las personas que, de una u otra forma, hicieron parte de mi proceso de formación como magister. Su apoyo fue esencial para la realización de este trabajo.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	13
CAPITULO I. ....	21
EFFECTO DE LA CARGA ORGÁNICA SOBRE LA ESTABILIDAD DEL PROCESO DE CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE LOS RESIDUOS DE CAFÉ EN OPERACIÓN SEMICONTINUA .....	21
1.1. INTRODUCCIÓN .....	22
1.2. METODOLOGÍA .....	26
1.2.1. Recolección y caracterización de los sustratos.....	27
1.2.2. Puesta en marcha de los biodigestores tubulares en operación semicontinua.....	30
1.2.3. Ajuste de alimentación hacia la mezcla sinérgica de co-sustratos en el biodigestor .....	31
1.2.4. Monitoreo del proceso de CoDA en la etapa de estabilidad de los BD	34
1.2.5. Determinación de la eficiencia de la CoDA.....	34
1.3. RESULTADOS. ....	36
1.3.1. Caracterización de los sustratos e inóculo.....	36
1.3.2. Comportamiento del bioproceso durante la fase de introducción de los sustratos hacia la co-digestión de residuos de café .....	39
1.3.3. Evaluación de la estabilidad del proceso de co-digestión anaeróbica de residuos de café con estiércol bovino .....	41
1.3.4. Desempeño del bioproceso de co-digestión: remoción de DQO y generación de metano .....	56
1.4. CONCLUSIONES .....	61
CAPITULO II.....	63

EFFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN SOBRE LA BIOMASA MICROBIANA EN PROCESOS DE CO-DIGESTIÓN.....	63
2.1. INTRODUCCIÓN .....	64
2.2. METODOLOGÍA .....	66
2.2.1. Determinación el grado de acidificación del biodigestor .....	67
2.2.2. Comparación del potencial metanogénico y acidogénico .....	68
2.2.3. Ensayos de actividad microbiana en el efluente de los biodigestores	69
2.3. RESULTADOS .....	69
2.3.1. Grado de acidificación del biodigestor .....	69
2.3.2. Relación entre el potencial acidogénico y metanogénico de los co-	74
sustratos	
2.3.3. Evaluación funcional de los consorcios microbianos mediante la	80
actividad metanogénica e hidrolítica .....	
2.4. CONCLUSIONES .....	83
CAPITULO III .....	85
IDENTIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE INESTABILIDAD QUE	
CONDUCEN A LA ACIDIFICACIÓN.....	85
3.1. INTRODUCCIÓN .....	86
3.2. METODOLOGÍA .....	89
3.2.1. Condiciones de inestabilidad de la CoDA de residuos de café con EBF	89
a partir de los indicadores de alerta temprana .....	
3.2.2. Determinación de las concentraciones de ácidos críticos para la	90
inhibición.....	
3.3. RESULTADOS .....	90
3.3.1. Identificación de la acidificación de la CoDA de residuos de café con	90
EBF mediante IAT .....	

3.3.2. Umbrales críticos de AGV y su rol en la inhibición del proceso metanogénico de la CoDA de residuos de café .....	98
3.4. CONCLUSIONES .....	104
CONCLUSIONES GENERALES.....	106
BIBLIOGRAFÍA .....	107
ANEXOS .....	122

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1.</b> Etapas de obtención del grano de café. ....	13
<b>Figura 2.</b> Esquema metodológico para la evaluación de la co-digestión anaeróbica de residuos de café en biodigestores tubulares .....	27
<b>Figura 3.</b> Biodigestor a escala laboratorio para la CoDA de residuos de café con estiércol bovino. ....	30
<b>Figura 4.</b> Distribución de la proporción de cada sustrato en la alimentación para cada relación de mezcla.....	32
<b>Figura 5.</b> Diagrama de flujo de la adición de co-sustratos para la alimentación de los biodigestores .....	33
<b>Figura 6.</b> Producción acumulada de metano para cada uno de los biodigestores evaluados durante la etapa de adaptación a los sustratos.....	39
<b>Figura 7.</b> Evolución de los sólidos volátiles en afluente y efluente del biodigestor operado a una VCO de $0.5 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$ .....	42
<b>Figura 8.</b> Evolución de los sólidos volátiles en afluente y efluente del biodigestor operado a una VCO de $0.75 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$ .....	43
<b>Figura 9.</b> Evolución de los sólidos volátiles en afluente y efluente del biodigestor operado a una VCO de $1.0 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$ .....	44
<b>Figura 10.</b> <i>Dinámica de la remoción de materia orgánica expresada como DQO en función del tiempo bajo una VCO de <math>0.5 \text{ SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}</math> .....</i>	47
<b>Figura 11.</b> <i>Dinámica de la remoción de materia orgánica expresada como DQO en función del tiempo bajo una VCO de <math>0.75 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}</math> .....</i>	48
<b>Figura 12.</b> <i>Dinámica de la remoción de materia orgánica expresada como DQO en función del tiempo bajo una VCO de <math>1.0 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}</math> .....</i>	49
<b>Figura 13.</b> Producción de metano acumulada y evolución de su composición.....	52
<b>Figura 14.</b> Producción de metano acumulada y evolución de su composición.....	54
<b>Figura 15.</b> Producción de metano acumulada y evolución de su composición.....	55
<b>Figura 16.</b> Comparación de la remoción de DQO obtenida para cada relación de mezcla de co-sustratos en los biodigestores operados a diferentes VCO .....	57

<b>Figura 17.</b> Esquema metodológico para la evaluación del efecto de la acidificación sobre la dinámica microbiana.....	67
<b>Figura 18.</b> Evolución del grado de acidificación del BD operado bajo una VCO de 0.5 kg SV m <sup>-3</sup> op d <sup>-1</sup> .....	70
<b>Figura 19.</b> Evolución del grado de acidificación del BD2 operado bajo una VCO de 0.75 kg SV m <sup>-3</sup> op d <sup>-1</sup> .....	72
<b>Figura 20.</b> Evolución del grado de acidificación del BD3 operado bajo una VCO de 1.0 kg SV m <sup>-3</sup> op d <sup>-1</sup> .....	73
<b>Figura 21.</b> Rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del biodigestor operado bajo una VCO de 0.5 kg SV m <sup>-3</sup> op d <sup>-1</sup> .....	75
<b>Figura 22.</b> Rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del biodigestor operado bajo una VCO de 0.75 kg SV m <sup>-3</sup> op d <sup>-1</sup> .....	77
<b>Figura 23.</b> Rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del biodigestor operado bajo una VCO de 1.0 kg SV m <sup>-3</sup> op d <sup>-1</sup> .....	78
<b>Figura 24.</b> Evolución de las actividades microbianas en el biodigestor operado bajo una VCO de 0.50 kg SV·m <sup>-3</sup> ·d <sup>-1</sup> .....	81
<b>Figura 25.</b> Evolución de las actividades microbianas en el biodigestor operado bajo una VCO de 0.75 kg SV·m <sup>-3</sup> ·d <sup>-1</sup> .....	82
<b>Figura 26.</b> <i>Diagrama de flujo del proceso de degradación de la materia orgánica de la co-digestión anaeróbica de residuos de café con estiércol bovino.</i> .....	87
<b>Figura 27.</b> Esquema metodológico para la identificación de condiciones de inestabilidad en la co-digestión de residuos de café.....	89
<b>Figura 28.</b> <i>Evolución de los AGV y de la relación AGV/AT en el biodigestor operado con una VCO de 0.5 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup></i> .....	91
<b>Figura 29.</b> <i>Evolución de los AGV y de la relación AGV/AT en el biodigestor operado con una VCO de 0.75 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup></i> .....	93
<b>Figura 30.</b> <i>Evolución de los AGV y de la relación AGV/AT en el biodigestor operado con una VCO de 1.0 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup></i> .....	94
<b>Figura 31.</b> <i>Desviación estándar relativa de los IAT evaluados en el biodigestor BD1 operado a VCO de 0.5 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup></i> .....	96

**Figura 32.** Desviación estándar relativa de los IAT evaluados en el biodigestor BD2 operado a VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$  ..... 97

**Figura 33.** Composición relativa y concentración total de AGV el biodigestor BD1 operado a VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$  ..... 100

**Figura 34.** Composición relativa y concentración total de AGV el biodigestor BD2 operado a VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$  ..... 101

**Figura 35.** Composición relativa y concentración total de AGV el biodigestor BD3 operado a VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$  ..... 102

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> Revisión de la literatura de características fisicoquímicas de residuos de café .....	15
<b>Tabla 2.</b> Desafíos de la DA para la gestión de residuos de café .....	17
<b>Tabla 3.</b> Co-digestión anaeróbica de residuos agroindustriales usando estiércoles como co-sustratos .....	24
<b>Tabla 4.</b> Parámetros para la caracterización fisicoquímica y bioquímica de los residuos de café e inóculo utilizados durante el proceso de la co-digestión anaeróbica.....	29
<b>Tabla 5.</b> Condiciones de operación de los biodigestores en alimentación semicontinua .....	31
<b>Tabla 6.</b> Caracterización de los sustratos .....	36
<b>Tabla 7.</b> Caracterización fisicoquímica y bioquímica del inóculo.....	38
<b>Tabla 8.</b> Eficiencias operacionales del bioproceso y biodigestor para las velocidades de carga orgánica evaluadas .....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AGV</b>	Ácidos grasos volátiles
<b>AM</b>	Aguas mieles de café
<b>AME</b>	Actividad metanogénica específica
<b>BD</b>	Biodigestor
<b>CoDA</b>	Co-digestión anaeróbica
<b>DA</b>	Digestión anaeróbica
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>EBE</b>	Estiércol bovino estabilizado
<b>EBF</b>	Estiércol bovino fresco
<b>P</b>	Pulpa de café
<b>ST</b>	Sólidos totales
<b>SV</b>	Sólidos volátiles
<b>TRH</b>	Tiempo de retención hidráulico
<b>VCO</b>	Velocidad de carga orgánica

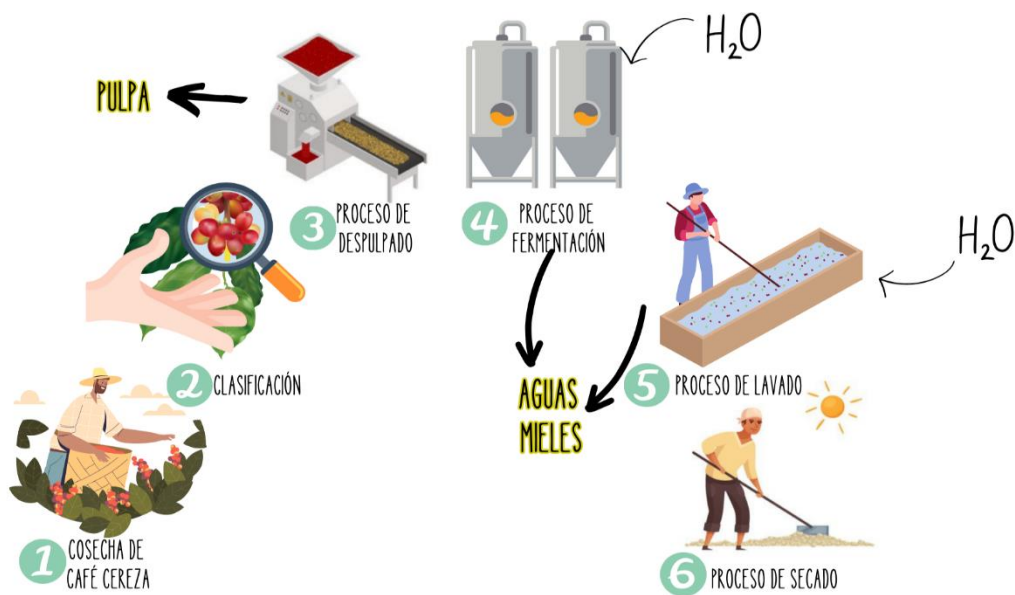
## INTRODUCCIÓN GENERAL

El café se posiciona como uno de los productos más relevantes a nivel mundial, con una comercialización superada únicamente por la del petróleo. Además, el café es la segunda bebida más consumida a nivel global, después del agua (J. Cerino-Córdova et al., 2020). En 2020, la producción mundial de café alcanzó aproximadamente 10.5 millones de toneladas (de Oliveira Fernandes et al., 2025) y en Colombia, la producción anual se estima en 0.84 millones de toneladas, representando cerca del 10.26% del producto interno bruto (PIB) agropecuario del país (FNC, 2025; León Chilito et al., 2025).

En muchos países productores de café, particularmente en Latinoamérica, el procesamiento tradicional del café se lleva a cabo mediante la fermentación húmeda (**Figura 1**), donde el agua actúa como el principal medio para facilitar la extracción de la semilla (Rattan et al., 2015). Se estima que la producción de una taza de café estándar (125 mL) requiere aproximadamente 140 L de agua a lo largo de toda la cadena de producción (Chapagain & Hoekstra, 2007).

**Figura 1.** Etapas de obtención del grano de café.

Adaptado de Hernández-Sarabia et al., (2021).



El proceso de fermentación húmeda del café consta de tres etapas: *i*) remoción mecánica de la pulpa y la piel del fruto, *ii*) eliminación del mucílago a través de fermentación y lavado y *iii*) secado y descascarado de los granos. Durante este procesamiento, aproximadamente el 60% del fruto no se utiliza para fines comerciales, lo que genera una cantidad significativa de residuos orgánicos biodegradables con variabilidad en su contenido de humedad (Velasquez-Pinas et al., 2023). Los residuos sólidos se componen principalmente por 67% de pulpa, 27% de mucílago y 6% de cáscara (C), correspondiente al epicarpio, mesocarpio y endocarpio del fruto, respectivamente (Rajesh Banu et al., 2020). Los residuos líquidos incluyen el agua de despulpado o aguas mieles (AM), caracterizadas por su alto contenido de azúcares fermentables y las aguas residuales generadas durante el procesamiento (Hernández-Sarabia et al., 2021).

En Colombia, las granjas cafeteras generan aproximadamente 4.2 millones de toneladas de biomasa residual anualmente y en la mayoría de los casos no son gestionadas de manera adecuada. Aunque se han propuesto diversas estrategias para el aprovechamiento de la biomasa residual, como la producción de biodiesel, bioetanol y bioaceite (Gouvea et al., 2009; Ktori et al., 2018; Kwon et al., 2013), su aplicación presenta limitaciones económicas. En especial, la obtención de materias primas necesarias para la transformación de los residuos puede representar hasta el 75% el costo total del proceso. Esta limitación económica restringe su viabilidad como fuente de biocombustibles (Kwon et al., 2013).

Por lo anterior, la fracción sólida (pulpa) es dispuesta directamente sobre el suelo, mientras que la fracción líquida (aguas mieles) se vierte en cuerpos hídricos, provocando problemas medioambientales, agrícolas y sociales, como la generación de malos olores, acidificación del suelo, contaminación de fuentes hídricas y acumulación excesiva de biomasa residual (Du et al., 2021). El impacto ambiental de los residuos del beneficio húmedo del café es debido a la naturaleza de la P y AM, como se evidencia en las características fisicoquímicas de la **Tabla 1** reportadas en la literatura para los principales residuos del beneficio húmedo de café.

**Tabla 1.** Revisión de la literatura de características fisicoquímicas de residuos de café

Característica	P	AM	Referencia
pH	4.5 - 5	3.5 - 4.2	
ST (g kg <sup>-1</sup> )	220 - 250	20 - 45	(Corro et al., 2013;Mohan et al., 2025)
SV (g kg <sup>-1</sup> )	154 - 175	14 - 32	
AGV (mg L <sup>-1</sup> )	-	4500 - 7500	
DQO (mg L <sup>-1</sup> )	45000	8480 - 45955	

P: Pulpa; AM: Aguas mieles; ST: Sólidos totales; SV: Sólidos volátiles; AGV: Ácidos grasos volátiles; DQO: Demanda química de oxígeno.

Las características fisicoquímicas de la P y AM evidencian un perfil ácido con elevada carga orgánica, que convierte a estos residuos del café en materia orgánica con un alto potencial de aprovechamiento como biomasa. La acidez y el contenido significativo de materia orgánica presente en los residuos de café facilitan su biodegradación, aunque también incrementan su capacidad para alterar la química de los cuerpos receptores y generar impactos ambientales negativos.

Una alternativa viable y económicamente sostenible para la gestión de residuos orgánicos es la digestión anaeróbica (DA) (Kampioti & Komilis, 2022), un proceso bioquímico en el cual un consorcio microbiano transforma la materia orgánica en una mezcla de gases conocida como biogás con un alto poder calorífico (entre 4,700 a 5,500 kcal/m<sup>3</sup>), compuesta principalmente por metano (50%-70%), dióxido de carbono (40%-20%) y otros gases como el ácido sulfhídrico, amoníaco, hidrógeno y vapor de agua (Zamri et al., 2021). Además, el proceso de DA genera como subproducto un efluente líquido conocido como digerido, el cual puede ser utilizado como fertilizante debido a que es rico en nutrientes (Abad et al., 2019).

La DA es un método de conversión bioquímica que permite reducir la carga orgánica de los residuos y mitigar su impacto al medioambiente. El proceso de DA se lleva a cabo a través de 4 etapas metabólicas denominadas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. En cada una de estas etapas interviene un

consorcio microbiano conformado por diferentes poblaciones típicas de microorganismos como las bacterias fermentativas, las acetogénicas y las arqueas metanogénicas (R. Xu et al., 2018). De esta manera la DA contribuye a la reducción de emisiones de gases efecto invernadero y, en sistemas rurales no centralizados, mejora la independencia energética de los productores, promoviendo la economía circular agroindustrial en países en desarrollo (Jaimes-Estévez et al., 2022).

En Latinoamérica, la implementación de la DA se ha orientado principalmente hacia biodigestores de pequeña escala, comúnmente denominados biodigestores domésticos (Martí-Herrero & Cipriano, 2012). En el caso de Colombia, la fuente de biomasa residual proviene de actividades agrícolas, ganaderas y agroindustriales, lo que constituye la principal materia orgánica susceptible de aprovechamiento (Escalante et al., 2011). Bajo estas condiciones, la DA ha sido adoptada como una estrategia para la gestión sostenible y la valorización energética de residuos orgánicos como la paja de arroz, rastrojo de maíz, estiércoles, cáscaras de mazorca de cacao, entre otros (Tavera-Ruiz et al., 2023).

No obstante, la gestión de los residuos de café mediante la DA enfrenta desafíos técnicos asociados a su composición y características fisicoquímicas. Entre los principales factores que afectan el proceso de DA cuando se tratan residuos de café, se destaca el bajo pH, el alto contenido de fibras lignocelulósicas y la elevada producción de AGV, los cuales pueden afectar la eficiencia del bioproceso e, incluso, conducir a la falla total del sistema (Kim et al., 2019). En la **Tabla 2** se presenta un resumen de los principales retos que reporta la literatura sobre la DA de residuos de café, así como las estrategias propuestas para mitigar sus efectos negativos y favorecer un desempeño estable del proceso.

**Tabla 2. Desafíos de la DA para la gestión de residuos de café**

DESAFÍO	IMPACTO EN EL PROCESO	SOLUCIÓN	TIPO DE RESIDUOS	TIPO DE OPERACIÓN	RENDIMIENTO	REFERENCIA
Alto contenido de lignocelulosa	Baja biodegradabilidad anaeróbica Hidrólisis lenta Acumulación de polifenoles	Pretratamientos químicos (ácido y alcalino)	Cascarilla de café	Continuo (CSTR) Vop=45 L	1.14 NL CH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	(Chala et al., 2018)
		Pretratamientos térmicos	Pulpa de café	Batch Vop=100 mL	159.4 L CH <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> SV	(Passos et al., 2018)
			Pergamino de café	Batch Vop=160 mL	196 L CH <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> SV	(Battista et al., 2016)
Bajo pH	Inhibición de los microorganismos anaeróbicos	Tratamiento alcalino Co-digestión anaeróbica	Pulpa, cáscara y aguas residuales de procesamiento de café	Batch Vop=250 mL - 2 L	No reporta	(Villa Montoya et al., 2019)
Elevada producción de AGV	Inhibición de los microorganismos metanogénicos	Pretratamiento alcalino Co-digestión anaeróbica	Residuos del beneficio de café	Batch Vop=160 mL	240-280 L CH <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> SV	(Neves et al., 2006)
Inadecuada relación C/N	Carencia de nitrógeno	Co-digestión anaeróbica	Pulpa de café	Batch Vop=1 L	No reporta	(Hernández et al., 2014)
			Mucilago de café	Batch Vop=2L	No reporta	(Corro et al., 2013)

Vop: Volumen de operación.

Cada uno de los desafíos anteriormente expuestos (**Tabla 2**) representan un factor crítico que afectan tanto la estabilidad como la eficiencia del proceso de DA de los residuos de café. El alto contenido de lignocelulosa, característico de la P de café, dificulta la etapa de hidrólisis, lo que compromete la biodegradabilidad global y la conversión del sustrato a metano (Chala et al., 2018). Por su parte, el bajo pH asociado a la rápida acumulación de AGV en los residuos líquidos del beneficio húmedo del café genera condiciones desfavorables para los microorganismos metanogénicos, debido al desequilibrio en la capacidad de consumo de ácidos, ocasionando riesgo de acidificación (Villa Montoya et al., 2019). Otro factor limitante es la inadecuada relación C/N en residuos como la P y las AM, debido a que el exceso de carbono frente al nitrógeno provoca una deficiencia de nutrientes necesarios para el desarrollo de la biomasa microbiana (Corro et al., 2013). La literatura reporta que una relación equilibrada (entre 25 y 30) permite la degradación óptima de la materia orgánica para mejorar la producción de metano (Q. Wang et al., 1999).

Los desafíos expuestos condicionan la eficiencia del proceso de DA y hacen necesario implementar estrategias para superar los efectos de los retos. Entre ellas, la Co-Digestión Anaeróbica (CoDA) es una alternativa que consiste en el uso de dos o más sustratos en el proceso, para mejorar el equilibrio de nutrientes y la dilución de compuestos tóxicos. Esta estrategia aprovecha los efectos sinérgicos entre los microorganismos, permite una mayor carga de materia orgánica biodegradable y mejora la relación C/N de la materia prima (Gómez et al., 2006).

En términos de biodegradabilidad anaeróbica, los residuos de café han demostrado un alto potencial para la producción de metano. No obstante, la mayoría de los estudios sobre la DA de residuos de la agroindustria cafetera se han desarrollado bajo operación discontinua (batch), lo que evidencia la falta de investigaciones enfocadas en procesos anaeróbicos de alimentación semicontinua. Esta brecha en el conocimiento está relacionada con la influencia de la carga ácida aportada por estos sustratos y la escasez de estudios que evalúen el riesgo de acidificación. Asimismo, la co-digestión de residuos con alto contenido de azúcares y lignina,

como las aguas mieles y la pulpa, ha sido poco explorada teniendo en cuenta que el tratamiento individual de estos sustratos suele generar inhibición del proceso anaeróbico debido a la acidificación por acumulación de AGV.

Uno de los parámetros operativos que afectan la estabilidad del proceso anaeróbico es la velocidad de carga orgánica (VCO), ya que excederla puede provocar la producción excesiva de AGV (B. Y. Li et al., 2022), lo que conduce a la acidificación del biodigestor y afecta la producción de metano (Chandra et al., 2012). Por lo tanto, la acidificación del biodigestor ocurre debido a que los AGV generados durante la etapa de acidogénesis, generan un desequilibrio cinético entre su producción y consumo, lo que disminuye el pH y crea condiciones tóxicas que afectan el funcionamiento del biodigestor (Yadvika et al., 2004).

En relación con el desequilibrio por acumulación de AGV, investigaciones previas han reportado que concentraciones de ácido acético y butírico superiores a 2400 y 1800 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, no inhiben la actividad de los metanógenos (Franke-Whittle et al., 2014). Sin embargo, niveles de ácido propiónico superiores a 900 mg L<sup>-1</sup> puede causar una inhibición significativa de la actividad microbiana (Q. Wang et al., 1999). En cuanto al ácido que mejor indica el fallo en el biodigestor, la literatura presenta diversas opiniones de los autores. No obstante, se ha inferido que ácidos orgánicos como el ácido i-butírico, i-valérico, propiónico o incluso la relación entre los ácidos propiónico/acético, podrían ser indicadores de la estabilidad del proceso anaeróbico. Estos indicadores resultan útiles porque permiten identificar desequilibrios entre la producción y consumo de ácidos, aunque se debe considerar que cada sistema presenta umbrales específicos de AGV y que las condiciones de inestabilidad pueden variar según las características operativas del sistema y el sustrato tratado.

Bajo este panorama, la naturaleza ácida de los residuos del beneficio húmedo del café representa una limitación operativa para su procesamiento mediante DA debido al riesgo de acumulación de metabolitos intermedios como los AGV. Por lo tanto, el propósito de esta investigación fue evaluar el riesgo de acidificación en el proceso de CoDA de los residuos de café -caracterizados por su rápida biodegradabilidad-

en mezcla con estiércol bovino, para dar respuesta a la pregunta de investigación planteada: ¿cuáles son las condiciones operativas que conducen a la acidificación del proceso de CoDA de pulpa y aguas mieles de café con estiércol bovino en un biodigestor tubular?

De este modo, la hipótesis formulada sostuvo que el análisis de la producción ácidos grasos volátiles durante la co-digestión anaeróbica de residuos de café (pulpa y aguas mieles) con estiércol bovino permite identificar el comportamiento de la carga orgánica en operación semicontinua. En consecuencia, en esta investigación se evaluó el riesgo de acidificación en la CoDA de P y AM en mezcla con EBF, empleando biodigestores tubulares a escala banco y bajo condiciones semicontinuas.

Aunque los resultados evidenciaron limitaciones en el desempeño de los sistemas, el estudio constituye un aporte al campo científico al proporcionar conocimiento sobre los factores de inhibición de la tecnología de DA y una línea base para la difusión de conocimientos en granjas cafeteras en Colombia alineado con los principios de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030.

El presente documento se estructuró en tres capítulos que abordan la problemática anteriormente expuesta. En el primer capítulo se describe la eficiencia global del proceso de DA en operación semicontinua desde la perspectiva operacional. En el segundo capítulo se presenta la respuesta de la biomasa frente a la acidificación del proceso. Por último, en el tercer capítulo se muestra el diagnóstico de riesgo de acidificación teniendo en cuenta las condiciones críticas de inestabilidad.

## CAPITULO I.

### EFFECTO DE LA CARGA ORGÁNICA SOBRE LA ESTABILIDAD DEL PROCESO DE CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE LOS RESIDUOS DE CAFÉ EN OPERACIÓN SEMICONTINUA

**Resumen:** En este capítulo se describe la eficiencia global de proceso de CoDA de residuos agroindustriales de café (P y AM) junto con EBF desde la perspectiva operacional, utilizando un sistema de biodigestor (BD) tubular operado en modo semicontinuo alimentado con una mezcla sinérgica de co-sustratos con 66AM:P:17EBF (%SV) de acuerdo con los resultados obtenidos en estudios previos por Guerrero et al., (2023). Se analizaron tres BD sometidos a diferentes velocidades de carga orgánica (VCO): BD1 (VCO  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3}_{\text{op}} \text{ d}^{-1}$ ), BD2 (VCO  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3}_{\text{op}} \text{ d}^{-1}$ ) y BD3 (VCO  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3}_{\text{op}} \text{ d}^{-1}$ ) con el objetivo de identificar las condiciones que favorecen la conversión eficiente de materia orgánica en metano.

Los resultados obtenidos sugieren que, al tratar residuos como la pulpa y aguas mieles de café, la VCO obtiene un papel importante en la estabilidad y eficiencia del proceso debido a la matriz compleja presente en estos residuos. En consecuencia, operar a una VCO moderada permite un adecuado balance entre producción de biometano y estabilidad del sistema, lo que conlleva una conversión más eficiente de la materia orgánica en energía.

**Palabras clave:** residuos de café, materia orgánica, biogás, carga orgánica.

## 1.1. INTRODUCCIÓN

El café es una bebida tradicional con un crecimiento significativo debido a la alta demanda de los consumidores (Navajas-Porras et al., 2025). No obstante, este crecimiento conlleva varias preocupaciones medioambientales relacionadas a su producción y consumo, teniendo en cuenta que el método tradicional de procesamiento del fruto del café genera grandes volúmenes de residuos orgánicos, como la P (500 kg) y las aguas AM (10 m<sup>3</sup>) por cada tonelada de grano seco producido (Manasa et al., 2021).

Tanto la P como las AM representan un desafío medioambiental significativo debido a su elevada carga orgánica, evidenciada en valores de demanda química de oxígeno (DQO) superiores a 45 000 mg L<sup>-1</sup> (Mohan et al., 2025). La anterior condición les confiere a los residuos de café un alto potencial contaminante, debido a que puede alterar los suelos y cuerpos de agua, además de contribuir a la emisión de gases efecto invernadero.

En este contexto, la conversión bioquímica de los residuos del beneficio húmedo del café mediante el proceso de DA puede contribuir significativamente a la generación de biogás y digerido, con beneficios tanto energéticos como agronómicos. Sin embargo, a pesar del potencial energético de los residuos del beneficio húmedo del café presenta desafíos asociados a su composición fisicoquímica para ser gestionado mediante la DA, como se presentó en la **Tabla 1** y la **Tabla 2**. La P y las AM presentan una alta relación C/N (mayor a 75), un bajo pH (inferior 4.5) y una fracción lignocelulósica que dificulta su biodegradabilidad anaeróbica. Lo anterior, conduce a la acumulación de AGV, afectando negativamente el proceso de DA.

Una estrategia efectiva para mitigar los problemas de la monodigestión de los residuos de café es la CoDA, que permite aprovechar las propiedades de dos o más materias primas, mejorando así la estabilidad y eficiencia del sistema de digestión (Karki et al., 2021). La literatura reporta investigaciones donde se usan diferentes tipos de co-sustratos (ver **Tabla 3**), siendo los más usados el estiércol bovino fresco, el estiércol porcino, los lodos de depuradora, los residuos sólidos urbanos, los

desechos de alimentos, entre otros que han sido estudiados previamente (Mosquera et al., 2020). En este sentido, el estiércol bovino se ha identificado como un co-sustrato adecuado para la CoDA de residuos agroindustriales, debido a que mejora la estabilidad del proceso mientras aumenta los rendimientos de metano (Ma et al., 2020). Algunos de los beneficios obtenidos de la CoDA con estiércol bovino incluyen: *i*) su alta capacidad de amortiguación que ayuda a mantener el pH dentro del biodigestor (Sun et al., 2019), *ii*) su contenido de nutrientes, lo cual es necesario para diversificar las comunidades microbianas (Z. Wang et al., 2019), y *iii*) aporte de comunidades anaeróbicas necesarias para iniciar el proceso de digestión (Luo et al., 2018).

Así, la DA se plantea como una alternativa viable para la producción de energía renovable en zonas rurales no interconectadas, mientras contribuye a la estabilización de la materia orgánica contenida en residuos orgánicos altamente contaminantes. No obstante, para implementar el proceso de co-digestión es necesario establecer una mezcla adecuada entre los sustratos donde se favorezcan las interacciones sinérgicas de los macronutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas) y se incremente el potencial de biometanización. Guerrero et al., (2023) evaluaron el potencial de co-digestión de los residuos de la cadena agroindustrial del café (pulpa y aguas mieles) con estiércol bovino, mediante ensayos de potencial de biometanización (PBM) en operación batch. Los resultados indicaron que la mezcla con 66% AM, 17% P y 17% EBF (expresado en términos de SV) presentó el mayor PBM  $629 \pm 9$  NL  $\text{CH}_4$   $\text{kg}^{-1}$  SV, junto con una remoción de materia orgánica del 60%. Esta mezcla exhibió una sinergia positiva entre los sustratos, lo que permite su uso como un punto de partida para estudios de CoDA de residuos de café en operación semicontinua.

**Tabla 3.** Co-digestión anaeróbica de residuos agroindustriales usando estiércoles como co-sustratos

Sustrato	Co-sustrato	Tipo de operación	Rendimiento	Referencia
Rastrojo de maíz	Estiércol de pollo	Semicontinuo CSTR	445 mL biogás g <sup>-1</sup> SV	(Y. Li et al., 2014)
Pulpa de café	Estiércol bovino fresco	Discontinuo Batch	230 mL biogás g <sup>-1</sup> SV	(Corro et al., 2013)
Pulpa de remolacha azucarera	Estiércol de cerdo	Discontinuo Batch	212 mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> SV	(Gómez-Quiroga et al., 2019)
Remolacha azucarera	Estiércol bovino	Discontinuo Batch	240 mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> SV	(Fang et al., 2011)
Efluente de almazaras	Estiércol bovino	Continuo CSTR	180 mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> SV	(Goberna et al., 2010)
Lactosuero	Estiércol bovino	Continuo CSTR	260 mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> SV	(Comino et al., 2012)
Glicerol	Estiércol de cerdo	Continuo UASB	150 mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> DQO <sub>removido</sub>	(Nuchdang & Phalakornkule, 2012)

A pesar del uso recurrente de residuos de la industria cafetera como sustratos, persiste una brecha en la literatura respecto al tratamiento de estos materiales en sistemas de DA operados en régimen semicontinuo. La mayoría de las investigaciones se han centrado en la operación batch, lo cual limita la comprensión del comportamiento dinámico del sistema ante cargas periódicas. Este vacío es particularmente relevante considerando el efecto potencialmente acidificante de los residuos de café, dada su alta concentración de compuestos solubles, azúcares reductores y ácidos orgánicos. Adicionalmente, la presencia de compuestos recalcitrantes como lignina, polifenoles y cafeína puede dificultar la biodegradación, generando acumulación de metabolitos inhibidores como los AGV, que en condiciones de sobrecarga podrían comprometer la estabilidad del proceso. Por ello, resulta necesario evaluar el desempeño del proceso de CoDA de residuos de café en operación semicontinua en BD tubulares bajo diferentes velocidades de carga orgánica, con énfasis en el riesgo de acidificación y su impacto en la producción y calidad del biogás.

Sin embargo, es sabido que en los procesos de DA en operación semicontinua es necesario el control de variables operativas como la temperatura, la relación C/N, la carga orgánica y el TRH, las cuales determinan tanto la estabilización de los residuos como la eficiencia en la producción de biogás y la calidad del digerido. Entre las variables mencionadas anteriormente, la VCO afecta la eficiencia y estabilidad del proceso, ya que excederla puede provocar la sobreproducción de AGV (B. Y. Li et al., 2022), conduciendo a la acidificación del biodigestor y afectando la producción de metano (Chandra et al., 2012). Por lo tanto, la acidificación del proceso se produce en consecuencia al desequilibrio cinético entre la producción y el consumo de AGV durante las etapas de acidogénesis y acetogénesis, lo cual disminuye el pH y crea condiciones tóxicas que afectan el funcionamiento del bioproceso (Yadvika et al., 2004).

En este contexto, la CoDA en operación semicontinua es una estrategia para el tratamiento de los residuos orgánicos provenientes del beneficio húmedo del café. En este estudio se implementó un BD tubular de bajo costo, debido a que se

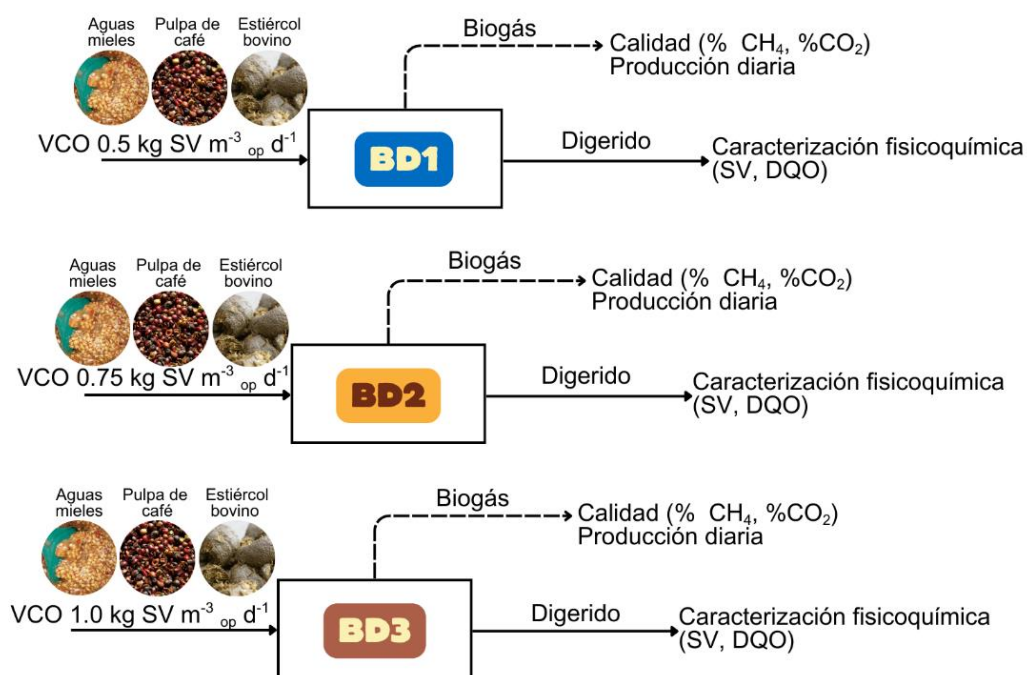
caracteriza por ser económico y de fácil implementación y manejo a escala laboratorio (Jaimes Estévez et al., 2020). Su diseño tubular y el flujo unidireccional permite un gradiente de transformación de la biomasa, lo que favorece las etapas secuenciales del proceso de DA.

Por lo tanto, en el presente capítulo se aborda la evaluación de la CoDA de residuos agroindustriales del café con estiércol bovino fresco en un biodigestor tubular en operación semicontinua, bajo tres velocidades de carga orgánica. La producción de biogás y su calidad fueron los principales indicadores utilizados para analizar la estabilidad y eficiencia del sistema, con el objetivo de validar esta tecnología como una alternativa para el tratamiento sostenible de la pulpa y aguas mieles de café.

## **1.2. METODOLOGÍA**

La **Figura 2** presenta el esquema metodológico de esta sección, que se orientó hacia la evaluación de la CoDA en un proceso semicontinuo empleando la mezcla sinérgica de residuos de café (Py AM) con EBF estudiada previamente en el Laboratorio de Digestión Anaeróbica del Grupo de Investigación en Tecnologías de Valorización de Residuos y Fuentes Agrícolas e Industriales para la Sustentabilidad Energética (INTERFASE) por Guerrero et al., (2023). Durante el desarrollo experimental, se estudió la estabilidad del proceso de CoDA a través del análisis de remoción de materia orgánica bajo tres diferentes cargas orgánicas.

**Figura 2. Esquema metodológico para la evaluación de la co-digestión anaeróbica de residuos de café en biodigestores tubulares**



### 1.2.1. Recolección y caracterización de los sustratos

Los residuos de café utilizados en el desarrollo de la investigación fueron recolectados en la unidad productora “Villa Tarazona”, ubicada en la vereda Miraflores del municipio de Piedecuesta, Santander, (latitud 6°57’20”N; longitud 72°59’14”O) a una altitud de 1763 m.s.n.m. Durante su proceso productivo anual, la granja genera cerca de 1750 kg de grano seco de café, lo que representa un estimado de 728.4 kg de P y un AM entre 14 000 y 72 000 m<sup>3</sup>. Las muestras de P y AM fueron recolectadas una única vez en recipientes plásticos a temperatura ambiente y posteriormente refrigeradas a 4°C hasta su caracterización. Finalmente, fueron congeladas a -20°C hasta su utilización.

Dado que la unidad cafetera no cuenta con cabezas de ganado, el estiércol bovino fresco (EBF) utilizado como co-sustrato fue recolectado en la granja “Villa Marcela”, ubicada en Girón, Santander, a una altitud de 959 m.s.n.m. (latitud 7°01’0,07”N; longitud 73°08’13,3”W). Esta granja cuenta con 3 cabezas de ganado bovino de

raza Normando que producen entre 34-51 kg d<sup>-1</sup> de excreta bovina. El estiércol fue recolectado en fresco y transportado bajo condiciones controladas para su posterior uso.

Como inóculo se utilizó estiércol bovino estabilizado (EBE), proveniente de un BD tubular doméstico de bajo costo ubicado en la granja “*Villa Marcela*”, que ha operado de manera continua durante más de 8 años. Este biodigestor, fabricado en polietileno de baja densidad, posee un volumen total de 9.5 m<sup>3</sup> y un volumen útil de 7.1 m<sup>3</sup>. Diariamente es alimentado con EBF y agua en una proporción 1:3 (%p/p), lo cual equivale a una VCO de 0.7 kg SV m<sup>3</sup><sub>op</sub> d<sup>-1</sup> y un tiempo de retención hidráulica de 35 días.

Con el fin de evaluar la viabilidad del EBE como inóculo en este estudio, se determinó su actividad metanogénica específica (AME) y actividad hidrolítica específica (AHE) siguiendo los protocolos propuestos por Astals et al., (2015) y Peces et al., (2018), respectivamente. Tanto la AME como la AHE son ensayos bioquímicos que permiten cuantificar la capacidad del lodo anaeróbico para la degradación de la materia orgánica y producción de metano. La AME evalúa la tasa de producción de metano bajo condiciones controladas, empleando como sustrato el acetato, debido a que es el principal intermediario en la ruta metabólica para la formación de metano. Por ende, el acetato es el compuesto más adecuado para estimar la actividad de las arqueas metanogénicas. Por su parte, la AHE mide la capacidad del lodo para hidrolizar macromoléculas, empleando celulosa como sustrato representativo de la fracción lignocelulósica presente en los residuos de café, lo que permite evaluar la eficiencia de la etapa hidrolítica.

Asimismo, los sustratos empleados (P, AM y EBF) así como el inóculo, fueron caracterizados fisicoquímicamente mediante la determinación de SV, AGV, alcalinidad total (AT), pH, demanda química de oxígeno total y soluble, así como contenido de nutrientes.

La **Tabla 4** presenta los parámetros seleccionados para caracterización fisicoquímica y bioquímica de los residuos de café, EBF e inóculo.

**Tabla 4.** Parámetros para la caracterización fisicoquímica y bioquímica de los residuos de café e inóculo utilizados durante el proceso de la co-digestión anaeróbica

Tipo de caracterización	Parámetros	Sigla	Unidad	Referencia	Sustratos			Inóculo
					AM	P	EBF	
Física	Sólidos totales	ST	g kg <sup>-1</sup>	APHA 2540 <sup>A</sup>	✓	✓	✓	✓
	Sólidos volátiles	SV	g kg <sup>-1</sup>	APHA 2540 <sup>E</sup>	✓	✓	✓	✓
Química	Demanda química de oxígeno	DQO	g DQO L <sup>-1</sup>	NTC 5220 <sup>D</sup>	✓	✓	✓	✓
	Ácidos grasos volátiles	AGV	g CH <sub>3</sub> COOH L <sup>-1</sup>	Jobling Purser et al., (2014)	✓		✓	
	pH	pH	-	NTC 5167	✓	✓	✓	
	Alcalinidad total	AT	g CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	Jobling Purser et al., (2014)	✓	✓	✓	
	Proteína	-	%BS	Donoso-Bravo et al., (2019)	✓	✓		
	Relación C/N	-	%	NTC 5167	✓	✓		
	Humedad	-	%BH	APHA 2540 <sup>E</sup>	✓	✓		
	Lignina	-	%BS	Van Soest et al., (1991)	✓	✓		
	Celulosa	-	%BS	Van Soest et al., (1991)	✓	✓		
	Hemicelulosa	-	%BS	Van Soest et al., (1991)	✓	✓		
Fórmula empírica	-	-	NTC 666	✓	✓			
Bioquímica	Actividad metanogénica específica	AME	g DQO g <sup>-1</sup> SV d <sup>-1</sup>	Astals et al., (2015)				✓
	Actividad hidrolítica específica	AHE	g DQO g <sup>-1</sup> SV d <sup>-1</sup>	Peces et al., (2018)				✓

### 1.2.2. Puesta en marcha de los biodigestores tubulares en operación semicontinua

La CoDA de los sustratos se llevó a cabo en 3 BD tubulares construidos en cloruro de polivinilo (**Figura 3**) de longitud 1 m y diámetro 0.1 m; para un volumen total de 8 L y un volumen de operativo de 5.6 L. Los BD se operaron a una temperatura de  $28^{\circ}\text{C} \pm 4$ , correspondiente a las condiciones climáticas de Bucaramanga, Colombia. Las unidades fueron alimentadas a diferentes velocidades de carga orgánica (ver **Figura 2**).

**Figura 3.** Biodigestor a escala laboratorio para la CoDA de residuos de café con estiércol bovino.



Cada biodigestor cuenta con una entrada para la alimentación diaria, una salida para recolección del digerido y una válvula para la medición y recolección del biogás generado diariamente. Las condiciones de operación de los BD empleados en este estudio se presentan en la **Tabla 5**. En la tabla se especifica para cada BD la VCO, el tiempo total de operación y monitoreo, y el TRH. El BD1 se operó con la menor VCO, el BD2 se ensayó con una VCO intermedia, y finalmente, el BD3 trabajó con la VCO más alta.

**Tabla 5.** Condiciones de operación de los biodigestores en alimentación semicontinua

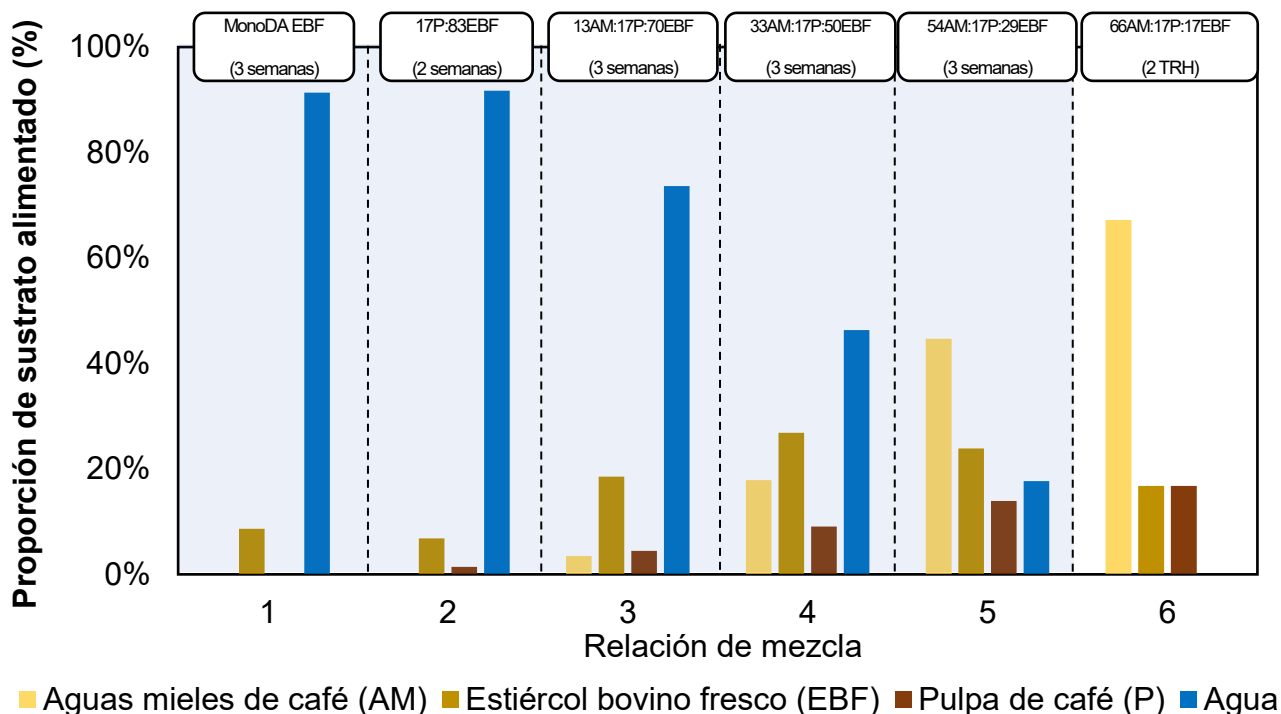
<b>Biodigestor</b>	<b>VCO (kg SV m<sup>3</sup><sub>op</sub> d<sup>-1</sup>)</b>	<b>Tiempo de operación y monitoreo* (d)</b>	<b>TRH (d)</b>
BD1	0.5	168	44
BD2	0.75	118	29
BD3	1.0	82	22

\*Tiempo de operación y monitoreo desde la fase inicial de operación

### 1.2.3. Ajuste de alimentación hacia la mezcla sinérgica de co-sustratos en el biodigestor

En la **Figura 4** se presenta la evolución de la composición de los co-sustratos alimentados al BD hasta llegar a la mezcla sinérgica (66AM:17P:17EB, %SV). En la figura cada barra muestra la contribución en términos de SV de los co-sustratos P, AM y EBF, junto con la proporción de dilución añadida en cada etapa. La barra correspondiente al agua —representada en azul— indica la proporción en volumen de líquido utilizado para ajustar la mezcla. En las primeras fases este líquido correspondió a agua, mientras que, en las etapas posteriores de alimentación, el agua se fue reemplazando progresivamente por aguas mieles.

**Figura 4.** Distribución de la proporción de cada sustrato en la alimentación para cada relación de mezcla



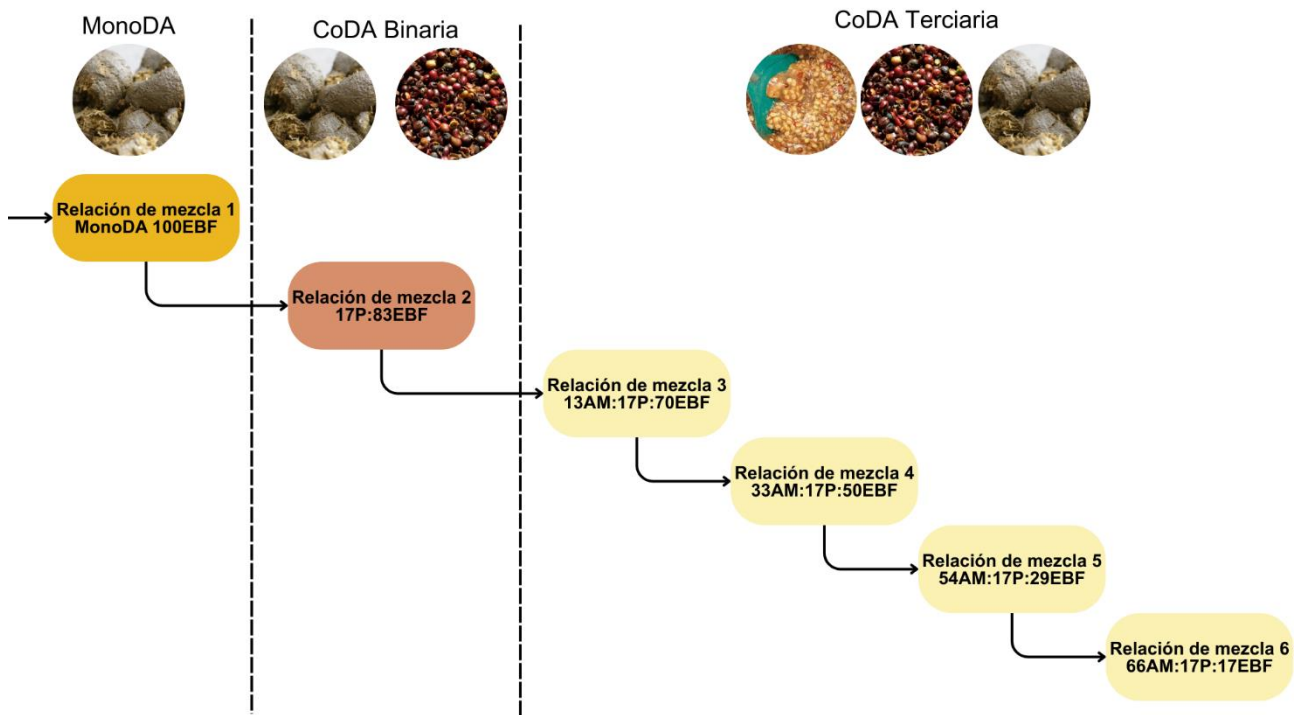
Con el propósito de evaluar la respuesta del consorcio microbiano presente en el lodo anaeróbico recolectado frente a la alimentación de los residuos de café (P y AM) con EBF (co-sustratos), se implementó una fase inicial de operación (zona azul en la **Figura 4**) en la cual los BD fueron alimentados con los co-sustratos durante  $90 \pm 6$  días. La fase inicial tuvo como objeto cambiar gradualmente la composición en los co-sustratos hasta llegar a la mezcla sinérgica.

En la fase inicial del proceso de CoDA, los BD fueron inoculados con lodo anaeróbico de EBE y alimentados con una mezcla de EBF y agua en una proporción de 1:3 (v/v) (*relación de mezcla 1*), estrategia recomendada en la literatura para potenciar la actividad microbiana y alcanzar una adecuada producción de metano (Martí-Herrero, 2019). Posteriormente, se alimentó la P como co-sustrato (CoDA binaria, *relación de mezcla 2*), dado que su naturaleza lignocelulósica, presenta una baja biodegradabilidad anaeróbica; lo que requiere un mayor tiempo de retención

en el biodigestor para su tratamiento. Finalmente, se fue reduciendo gradualmente el consumo de agua mientras se incorporaron las AM (CoDA terciaria, *relación de mezcla 3 a 6*), hasta alcanzar la relación de mezcla sinérgica (66AM:17P:17EB, %SV).

En la **Figura 5** se presenta el diagrama de flujo de la adición progresiva de co-sustratos para cambiar gradualmente la composición en los BD hasta llegar a la mezcla sinérgica. El diagrama ilustra las 6 relaciones de mezcla mostradas en el esquema de alimentación propuesto en la **Figura 4**.

**Figura 5.** Diagrama de flujo de la adición de co-sustratos para la alimentación de los biodigestores



Durante la operación de los BD se monitoreó la estabilidad mediante muestreos del efluente (salida del digerido), en los cuales se analizó contenido de SV, DQO, AGV, así como el pH. Además, se cuantificó la producción de biogás midiendo el volumen generado diariamente y se analizó su calidad (contenido de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>) mediante cromatografía de gases utilizando un detector TCD en un cromatógrafo de gases

SRI 8610C, utilizando helio como gas de arrastre y una columna empacada 6' x 1/8" HayeSep D. La etapa de alimentación gradual de co-sustratos fue idéntica para los 3 BD.

#### 1.2.4. *Monitoreo del proceso de CoDA en la etapa de estabilidad de los BD*

Finalizada la etapa de alimentación gradual de co-sustratos, se inició la operación de los BD en semicontinuo utilizando la mezcla sinérgica previamente presentada. El estudio se enfocó en evaluar la estabilidad del proceso de CoDA bajo tres velocidades de carga orgánica. Durante esta etapa, se recolectaron muestras semanales del efluente de cada biodigestor para cuantificar la evolución de los SV y DQO, como principales indicadores del comportamiento y la estabilidad del sistema anaeróbico.

#### 1.2.5. *Determinación de la eficiencia de la CoDA*

La eficiencia de remoción de materia orgánica de la CoDA se evaluó mediante un balance de masa en términos de la DQO. El balance se representa mediante la siguiente expresión:

$$DQO_{T_{Afluente}} - DQO_{T_{Efluente}} - DQO_{T_{CH_4}} = DQO_{T_{Biodigestor}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde,

$DQO_{T_{Afluente}}$  corresponde a la carga de DQO alimentada al sistema

$DQO_{T_{Efluente}}$  corresponde a la carga de DQO presente en la salida del digerido

$DQO_{T_{CH_4}}$  representa la fracción de DQO transformada en metano, y

$DQO_{T_{Biodigestor}}$  contempla la acumulación de materia orgánica dentro del sistema.

La DQO asociada a la producción de metano ( $DQO_{TCH_4}$ ) se determinó considerando que 0.35 L  $CH_4$  equivalen teóricamente a 1 g  $DQO_{TCH_4}$ , bajo condiciones estándar (25 °C y 1 atm) (Cerdán et al., 2021).

A partir del balance de masa, se calculó la eficiencia de remoción de materia orgánica del sistema, definida como:

$$\eta_{Rem} = \frac{(DQO_{Afluente} - DQO_{Efluente} - DQO_{Biodigestor})}{DQO_{Afluente}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Asimismo, se determinó la eficiencia del proceso de producción de biogás mediante dos indicadores: la eficiencia del biodigestor ( $\eta_{BD}$ ) y la eficiencia del bioproceso ( $\eta_{BP}$ ) según las expresiones propuestas por Martí-Herrero et al., (2015):

$$\eta_{BD} = \frac{V_{CH_4}}{V_{BD}} \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$\eta_{BP} = \frac{V_{CH_4}}{SV_{alimento}} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde,

$V_{CH_4}$  corresponde al volumen diario de metano producido [ $m^3 CH_4 d^{-1}$ ], el cual fue obtenido a partir del volumen total de biogás registrado diariamente y la fracción de metano determinada mediante cromatografía de gases. El procedimiento detallado para la medición del volumen y la composición del biogás se presenta en la Sección 1.2.3.

$V_{BD}$  corresponde al volumen útil del BD [ $m^3$ ]

$SV_{alimento}$  corresponde a la carga total de SV alimentados al BD [ $kg SV_{alimento}$ ]

La eficiencia del BD indica el volumen de metano producido diariamente por unidad de volumen del biodigestor, mientras que, la eficiencia del bioproceso refleja la

capacidad del sistema para convertir la materia orgánica alimentada durante el proceso de DA en metano.

### 1.3.RESULTADOS.

#### 1.3.1. Caracterización de los sustratos e inóculo

La **Tabla 6** presenta la caracterización fisicoquímica de los sustratos empleados en el proceso de CoDA.

**Tabla 6.** Caracterización de los sustratos

Parámetro	Unidad	Pulpa de café	Aguas mieles	Estiércol bovino fresco
ST	g kg <sup>-1</sup>	182.343±7.32	17.749±0.03	167.748±70.44
SV	g kg <sup>-1</sup>	167.410±7.57	16.172±0.03	136.713±57.99
DQO	g DQO L <sup>-1</sup>	70.64±0.52	24.83±14.8	33.67±14.14
AGV	g CH <sub>3</sub> COOH L <sup>-1</sup>	ND	1.38±0.08	0.464±0.015
pH	-	3.74	4.2	8.22
AT	g CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	ND	0.49±0.005	0.54±0.016
Proteína cruda	% BS*	9	18.44	ND
Relación C/N	%	32.75	16.81	ND
Humedad	%BH**	84.05	92.18	ND
Lignina	% BS*	29.54	32.32	ND
Celulosa	% BS*	16.28	11.15	ND
Hemicelulosa	%BS*	0	0	ND
Formula empírica	-	C <sub>38</sub> H <sub>58.3</sub> O <sub>24.9</sub> N	C <sub>19.8</sub> H <sub>28.5</sub> O <sub>11.9</sub> N	ND

\*BS: Base seca; \*\*BH: Base húmeda; ND: No determinado

Las AM muestran un contenido de materia orgánica del 91% (SV/ST), indicando su alto potencial de biodegradabilidad. El contenido de materia orgánica está compuesto principalmente por azúcares reductores de estructura química simple, lo

que favorece una rápida degradación y fermentación durante el proceso anaeróbico (Campos et al., 2021). Sin embargo, las AM presentan limitaciones importantes debido a su pH ácido y su elevada concentración de AGV ( $1.38 \pm 0.08 \text{ g L}^{-1}$ ), condiciones que pueden inducir a la acidificación durante la DA. La relación C/N de 16.81 se encuentra por debajo del rango óptimo (25-35) sugerido en la literatura para garantizar un balance nutricional adecuado en procesos de DA (Ruihong & Zhiqin, 1999), lo que refuerza la necesidad de utilizar un co-sustrato con mayor contenido de nitrógeno o de carácter alcalino para poder llevar a cabo la DA. Por otra parte, las AM poseen una elevada humedad lo que facilita su mezcla y alimentación al sistema. La fracción proteica de las AM (18.44%), es superior a la de la P, lo que contribuye al aporte de nitrógeno en la mezcla, sin embargo, este valor no compensa el déficit de nitrógeno en los residuos de café (P y AM). Además, la composición estructural de las AM con un contenido de lignina de 32.22% y celulosa de 11.15% (%BS), incrementa la fracción recalcitrante del residuo.

Por su parte, la P también presenta un alto contenido de materia orgánica del 92% (SV/ST) y una relación C/N favorable (32.75), adecuada para el proceso de DA. No obstante, la naturaleza lignocelulósica de la P presenta un desafío tecnológico, debido a que su contenido de celulosa (16.28%) limita la velocidad de biodegradación (Guerrero & Ocampo, 2023). En contraste, el contenido de lignina en la P (29.54%) presenta una estructura compleja y altamente recalcitrante, lo que reduce su biodegradabilidad tanto química como biológica (Martínez et al., 2005). Las características de la P evidencian la necesidad del uso de un co-sustrato que contribuya a estabilizar el proceso de digestión de residuos de café.

Por lo anterior, el EBF se incorporó como co-sustrato para contribuir al equilibrio del sistema, gracias a su pH (8.22) y alcalinidad favorable, que permite contrarrestar la acidez de las AM y la P, mejorando la estabilidad del sistema (Acosta et al., 2021). Además, el contenido de SV es elevado y la DQO refleja una carga orgánica moderada que complementa a la aportada por los residuos de café. La literatura reporta que el EB aporta macro y micronutrientes esenciales que favorecen la actividad microbiana durante la DA (Jaimes-Estévez et al., 2022). Además, el

uso de EB como co-sustrato permite compensar las limitaciones de los residuos de café (Villa Montoya et al., 2019).

Respecto al inóculo, en la **Tabla 7** se reportan sus características fisicoquímicas y bioquímicas. Se observa que sus concentraciones de SV y DQO son menores comparadas con las de los sustratos, lo cual es deseable, ya que indica una baja producción endógena de biogás y por tanto una mayor eficiencia en la conversión de los sustratos alimentados. En términos bioquímicos, el inóculo presentó una AHE de  $0.0653 \text{ g DQO g}^{-1} \text{ SV}_{\text{inóculo}} \text{ d}^{-1}$  y una AME de  $0.0455 \text{ g DQO g}^{-1} \text{ SV}_{\text{inóculo}} \text{ d}^{-1}$ , valores que sugieren una adecuada capacidad microbiana para degradar sustratos complejos como los residuos lignocelulósicos (Quintero et al., 2012).

**Tabla 7.** Caracterización fisicoquímica y bioquímica del inóculo

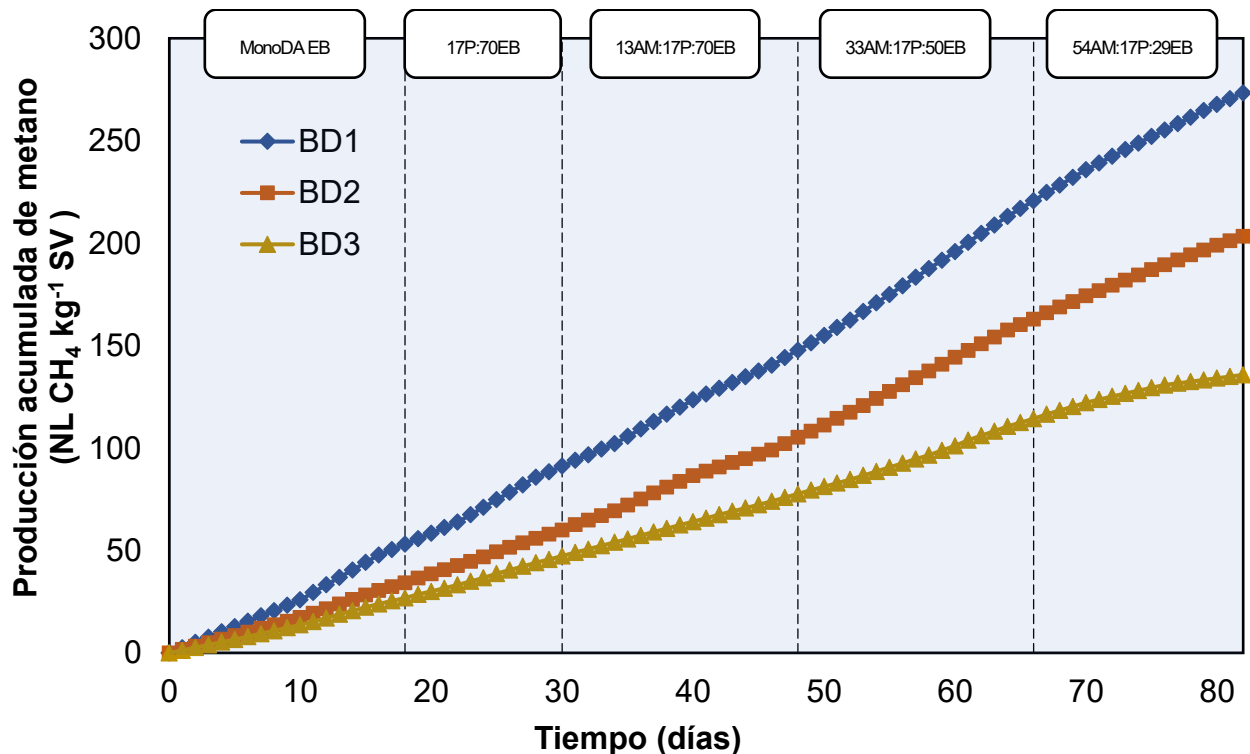
Parámetro	Unidad	Inóculo
ST	$\text{g kg}^{-1}$	$22.97 \pm 0.67$
SV	$\text{g kg}^{-1}$	$16.03 \pm 0.49$
DQO	$\text{g DQO L}^{-1}$	$28.33 \pm 1.41$
AME	$\text{g DQO g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$	$0.0455 \pm 0.0025$
AHE	$\text{g DQO g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$	$0.0653 \pm 0.0016$

El rendimiento del proceso de DA está directamente influenciado por la calidad del inóculo, especialmente por sus capacidad hidrolítica y metanogénica. La AHE refleja la eficiencia de las bacterias para descomponer compuestos orgánicos complejos en sus monómeros más simples, facilitando las etapas posteriores del proceso (Quintero et al., 2012). Por su parte, la AME indica la capacidad de conversión de los AGV y acetato en metano, etapa clave para la producción de biogás (Jaimes-Estévez et al., 2022).

### 1.3.2. Comportamiento del bioproceso durante la fase de introducción de los sustratos hacia la co-digestión de residuos de café

Desde el primer día de operación se registró producción de metano en todos los BD evaluados, lo cual evidencia la viabilidad de emplear inóculos provenientes de BD rurales como estrategia para arranque del proceso de digestión. En la **Figura 6** se presenta la evolución de la producción acumulada de metano durante un periodo de 82 días de operación en los tres BD alimentados con diferentes VCO. La producción diaria de metano se registró de manera continua, considerando que los BD fueron operados de manera semicontinua con una única alimentación diaria. La producción se expresa en NL CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> SV, en base seca y bajo condiciones estándar (0°C y 1 atm), con el propósito de comparar los resultados con otras investigaciones.

**Figura 6.** Producción acumulada de metano para cada uno de los biodigestores evaluados durante la etapa de adaptación a los sustratos.



Se evidenció una diferencia en la evolución de la producción de metano en función de la VCO aplicada a cada sistema. La influencia de la VCO sobre el proceso de DA ha sido ampliamente estudiado en diferentes residuos agroindustriales. Muchos

estudios han reportado que un aumento en la VCO induce a la acumulación de AGV y reduce la producción de metano. Por ejemplo, Sánchez et al., (2005), estudiaron la DA de aguas residuales de porcicultura y observaron que un aumento progresivo en la VCO condujo a un desbalance entre las etapas acidogénica y metanogénica, generando pérdida en la producción de biogás. De manera similar, Jaimes-Estévez et al., (2022) reportó que en reactores alimentados con residuos agroindustriales de quesería la producción de metano se mantuvo estable operando hasta con una VCO de  $1.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$ . Sin embargo, no existen reportes específicos sobre sistemas de co-digestión de residuos de café con EBF en biodigestores tubulares.

El biodigestor BD1, operado con la menor VCO, alcanzó la mayor producción de metano, con valores de  $270 \text{ NL CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ . Este comportamiento indica que una carga orgánica moderada favorece la estabilidad del proceso de CoDA, debido a que propicia condiciones que favorecen la producción de metano y minimizan la acumulación de intermediarios como los AGV, reflejado en el equilibrio de las etapas metabólicas de la DA. Al finalizar el periodo inicial de operación, la concentración de AGV fue de  $333 \pm 10 \text{ mg/L}$ , valor que se encuentra muy por debajo del límite de inhibición para procesos en operación semicontinua ( $<1500 \text{ mg/L}$ ) según Søndergaard et al., (2015), lo cual indica una estabilidad operacional favorable.

El biodigestor BD2, operado con una VCO intermedia, alcanzó una producción de metano de aproximadamente  $200 \text{ NL CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ , lo que confirma la existencia de un umbral adecuado de carga orgánica para mejorar el rendimiento de la CoDA de residuos de café sin afectar la estabilidad del sistema. El comportamiento del biodigestor BD2 es consistente con estudios previos de diversos residuos. Por ejemplo, Sánchez et al., (2005) estudiaron el efecto de la VCO en el rendimiento de la DA de aguas residuales de porcicultura, concluyeron que cargas superiores a  $4 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  provocaban una caída abrupta en la eficiencia del proceso evidenciado en una mayor concentración de DQO en el efluente y una disminución en la producción de metano. Asimismo, un estudio realizado en un reactor anaeróbico de membrana operado con aguas residuales de alta carga orgánica evidenció que el incremento en la VCO entre  $5 \text{ y } 12 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  generó un aumento en la

concentración total de AGV, donde predominó la presencia de ácido i-butírico. A medida que el sistema se acercó a su máxima capacidad operativa, la tasa de crecimiento de la AME disminuyó, tendencia que también se relaciona con lo ocurrido en el biodigestor BD3 (Wijekoon et al., 2011).

En contraste, el biodigestor BD3 operado con la mayor VCO, registró la menor producción acumulada de metano, con un máximo de 150 NL CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> SV, acompañada de una considerable acumulación de AGV al final del proceso de 7944±36 mg/L. Este comportamiento indica una sobrecarga del sistema, asociada a una acidogénesis acelerada debido al desequilibrio entre la etapa productora y la etapa consumidora de ácidos, lo cual afecta negativamente la estabilidad del proceso.

Los resultados evidencian la importancia de una fase de transición progresiva del inóculo hacia la co-digestión, especialmente al digerir residuos agroindustriales de café caracterizados por su naturaleza ácida. Bajo el panorama de estudio, la aplicación de una VCO moderada durante la etapa inicial permitió mantener la estabilidad del proceso y una conversión de la materia orgánica en metano, lo cual es consistente con lo reportado en la literatura para sustratos con alta carga orgánica.

### *1.3.3. Evaluación de la estabilidad del proceso de co-digestión anaeróbica de residuos de café con estiércol bovino*

El proceso de CoDA se evaluó a partir de la remoción de materia orgánica y la producción de biogás, en función del tiempo de operación, parámetros clave para el análisis de la estabilidad del proceso.

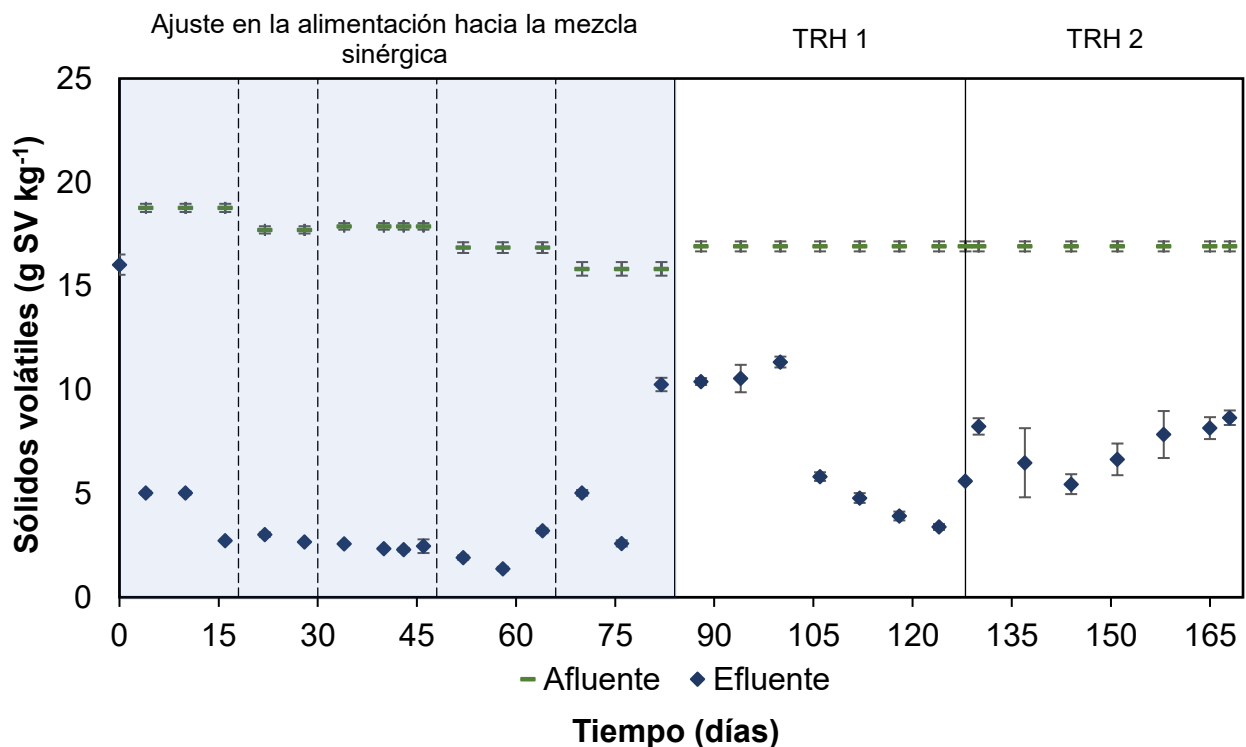
#### *1.3.3.1. Remoción y dinámica de sólidos volátiles*

La **Figura 7**, **Figura 8** y **Figura 9** presenta la evolución del comportamiento de los SV en el afluente y el efluente de los BD operados bajo las distintas VCO evaluadas.

La concentración de SV es un indicador directo de la fracción orgánica biodegradable presente en los sustratos.

Para cada uno de los gráficos, en el eje de las ordenadas se muestra la concentración de sólidos volátiles expresada en  $\text{g SV kg}^{-1}$ , mientras que en el eje de las abscisas se expresa el tiempo de operación (días) de cada biodigestor. En cada gráfico se incluyen dos curvas correspondientes a *i*) afluente, es decir el marcador verde, que indica la materia orgánica alimentada al sistema, y *ii*) efluente, que indica la materia orgánica presente en el digerido. De esta manera, la figura permite comparar la remoción de materia orgánica en términos de sólidos en cada condición operacional.

**Figura 7.** Evolución de los sólidos volátiles en afluente y efluente del biodigestor operado a una VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$

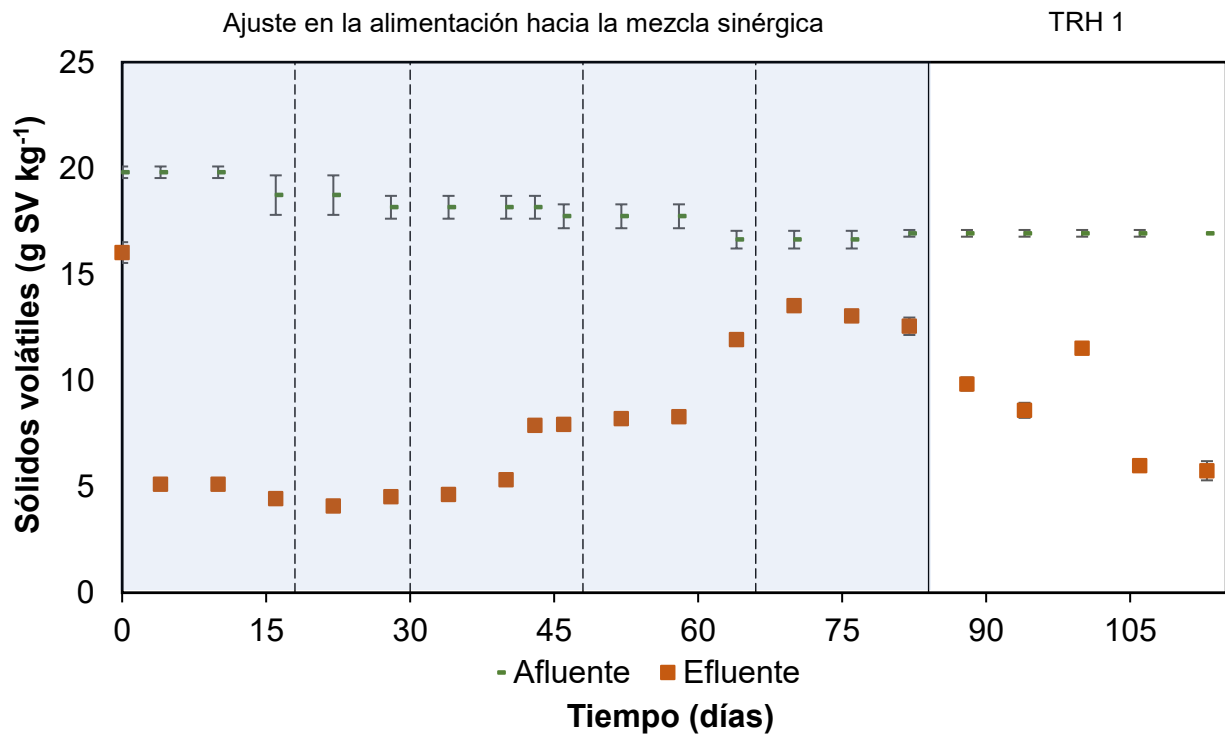


Durante la fase del cambio de alimentación, es decir, desde el día 1 hasta el día 84, el biodigestor BD1 alcanzó una reducción de SV del 75% previo a la inclusión de la mezcla sinérgica. No obstante, la remoción de materia orgánica en términos de SV disminuyó progresivamente al iniciar la operación con la mezcla sinérgica de co-

sustratos (P y AM con EBF), registrando una reducción del 56% en el primer tiempo de retención hidráulica (TRH) y del 47% en el TRH 2.

En la **Figura 7** se observa que, al inicio de la operación con la mezcla sinérgica (día 84 al día 100), la concentración SV del efluente aumentó. Sin embargo, paulatinamente se redujo la concentración de SV, lo que indica que el proceso se ajustó al contenido de materia orgánica de la nueva alimentación. Por su parte, en el TRH 2 (desde el día 129 al días 168) se obtuvo concentraciones de SV en el efluente ligeramente superior en comparación con el TRH 1 (desde el día 84 al día 128), con un incremento aproximado del 25%. A pesar de la disminución en la remoción, el sistema mantuvo operación estable sin indicios de acumulación crítica de materia orgánica, es decir, menor al 30% de remoción (Angelidaki et al., 2003).

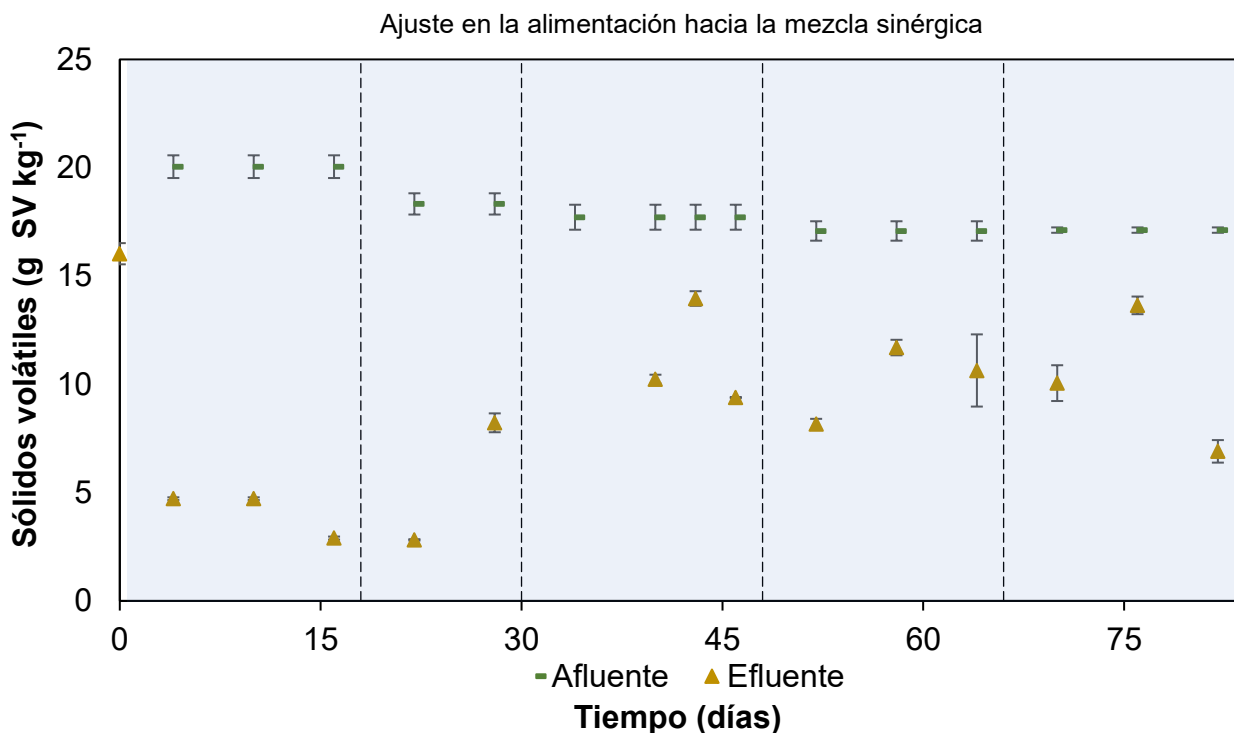
**Figura 8.** Evolución de los sólidos volátiles en afluente y efluente del biodigestor operado a una VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En el biodigestor BD2, la remoción de SV fue del 56% en el periodo de adaptación, la cual fue menor en comparación con el biodigestor BD1. En la **Figura 8** se observa que al introducir progresivamente los co-sustratos de la CoDA binaria y terciaria, la

concentración de SV en el efluente incrementó gradualmente desde el día 43 hasta el día 70. Durante la operación del proceso en el primer TRH, la reducción de SV disminuyó al 51%, lo que indica un menor desempeño en la remoción de materia orgánica en comparación con la etapa anterior y una acumulación progresiva de materia orgánica en el sistema. El comportamiento del biodigestor BD2 es comparable con el reportado en la literatura para procesos de DA donde un TRH insuficiente compromete la estabilidad a mediano plazo y no permite la degradación de la fracción orgánica presente en los residuos (Angelidaki et al., 2003). Por lo tanto, el biodigestor BD2 no se operó durante un segundo TRH.

**Figura 9.** Evolución de los sólidos volátiles en afluente y efluente del biodigestor operado a una VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$



En el caso del biodigestor BD3, la **Figura 9** evidencia que durante la fase inicial de operación la concentración de SV en el efluente tuvo incrementos progresivos relacionados al cambio en la alimentación: primero, con la introducción de la P en la CoDA binaria, en los días 18 al 30; y posteriormente, con la incorporación de las AM en la CoDA ternaria, en los días del 30 al 82. El comportamiento en la concentración de SV indica que la capacidad de remoción de materia orgánica

disminuyó con el tiempo, lo que refleja la pérdida de eficiencia del proceso antes de la inclusión de la mezcla sinérgica de co-sustratos.

Por lo tanto, en el biodigestor BD3 no se llevó a cabo el monitoreo de la remoción de materia orgánica en términos de SV en la etapa posterior a la alimentación con la mezcla sinérgica, debido a que el sistema presentó una inestabilidad operativa temprana. Durante la fase de inicial, el sistema de DA manifestó una acumulación de SV en el efluente del bioproceso, evidenciando un limitada degradación de la materia orgánica alimentada al proceso, lo que comprometió la estabilidad del proceso. El comportamiento observado en el BD3 es consistente con lo reportado por Babae & Shayegan, (2011), quienes identificaron que, al operar con una alta carga orgánica, la degradación de SV se ve afectada negativamente, especialmente en sistemas que aún no han alcanzado el estado estacionario.

Durante el tiempo el monitoreo, los 3 BDs presentaron un incremento significativo en el contenido de SV en el efluente. En el biodigestor BD1, el incremento en la concentración de SV del efluente se evidenció durante el primer TRH con la mezcla sinérgica, mientras que, en los biodigestores BD2 y BD3, los niveles elevados de SV estuvieron presentes desde la fase inicial de operación del proceso, antes de la incorporación total de los co-sustratos de la mezcla sinérgica.

La dinámica de cambio en la concentración de SV los BDs indica que los sistema experimentaron una sobresaturación de materia orgánica, atribuida a la carga aportada principalmente por la P. Este fenómeno se evidenció principalmente en la fase inicial del proceso, debido a la rápida metabolización de las fracciones fácilmente biodegradables presentes en las aguas mieles, como lo son los azúcares, que genera una elevada producción de AGV. Por lo tanto, a medida que estas reservas fueron consumidas, comenzaron a predominar compuestos más recalcitrantes, como la lignina, cuya degradación es más compleja debido a que presenta una mayor resistencia estructural frente a la hidrólisis (Battista et al., 2016). Este cambio en la naturaleza de los compuestos disponibles en el sustrato dificulta la actividad microbiana, lo que resulta en una acumulación progresiva de materia

orgánica en el biodigestor, afectando la eficiencia del proceso y comprometiendo su estabilidad a largo plazo.

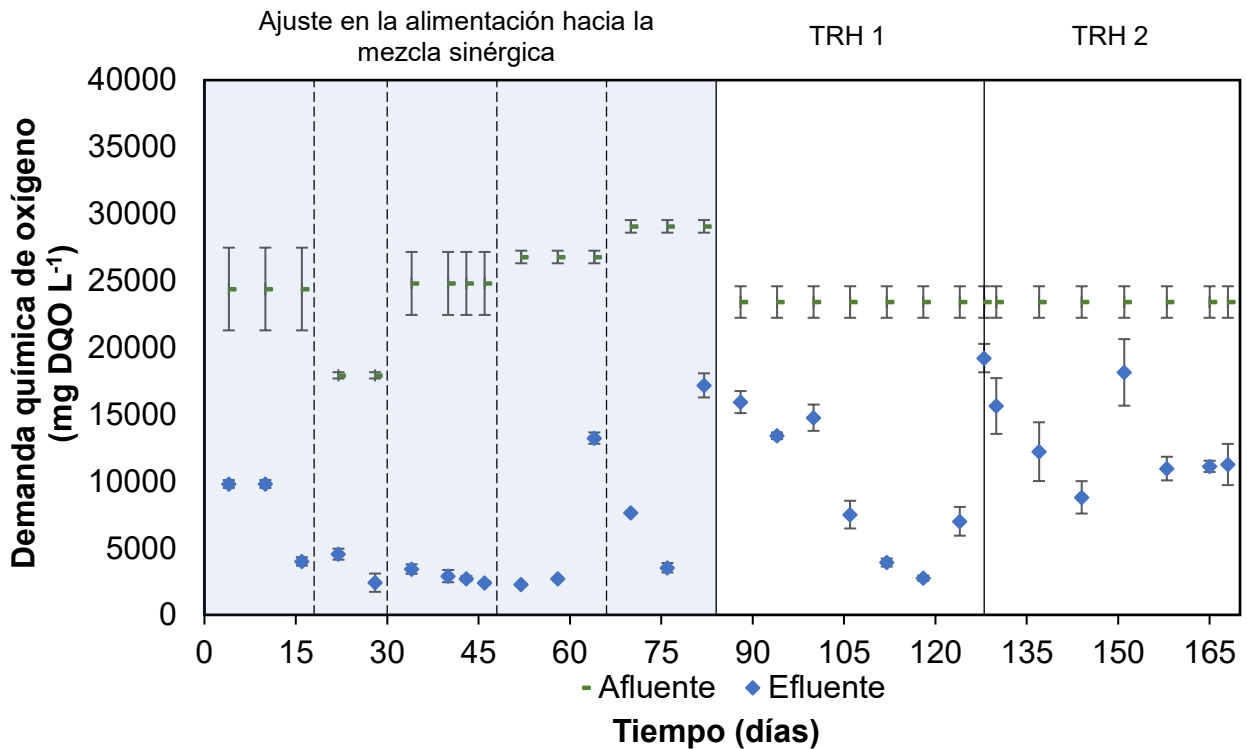
En los sistemas en operación semicontinua, la acumulación gradual de materia orgánica puede interferir en el análisis del desempeño real del proceso, especialmente si se considera únicamente la concentración SV como indicador. Esta limitación está relacionada a que la medición de los SV no permite diferenciar entre la fracción de materia orgánica que ha sido parcialmente degradada y aquella que aún no se transforma, lo cual dificulta la identificación de los procesos de estabilización. Por esta razón, en este estudio se empleó un análisis complementario basado en la DQO, con el fin de cuantificar la fracción de materia orgánica efectivamente degradada, y con ello, evaluar la estabilidad del sistema con un criterio más robusto.

#### *1.3.3.2. Dinámica de la demanda química de oxígeno en la CoDA de los co-sustratos*

La **Figura 10**, **Figura 11** y **Figura 12** presenta la evolución de la dinámica de la DQO en el afluente y efluente de cada BD operado bajo las diferentes VCO. La DQO es un parámetro clave para la evaluación de fracción de materia orgánica fácilmente oxidable, por lo tanto, es un indicador complementario de la estabilidad del proceso de DA.

En los tres gráficos, el eje de las abscisas representa el tiempo de operación del sistema en días, mientras que el eje de las ordenadas corresponde a la concentración de DQO expresada en  $\text{mg DQO L}^{-1}$ , como indicador de la carga orgánica presente en el efluente. Cada figura incluye dos curvas, *i*) afluente, representa la cantidad de materia orgánica ingresada al sistema (afluente), y *ii*) efluente, que refleja el contenido de materia orgánica no degradada luego del tratamiento anaeróbico.

**Figura 10.** Dinámica de la remoción de materia orgánica expresada como DQO en función del tiempo bajo una VCO de  $0.5 \text{ SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$

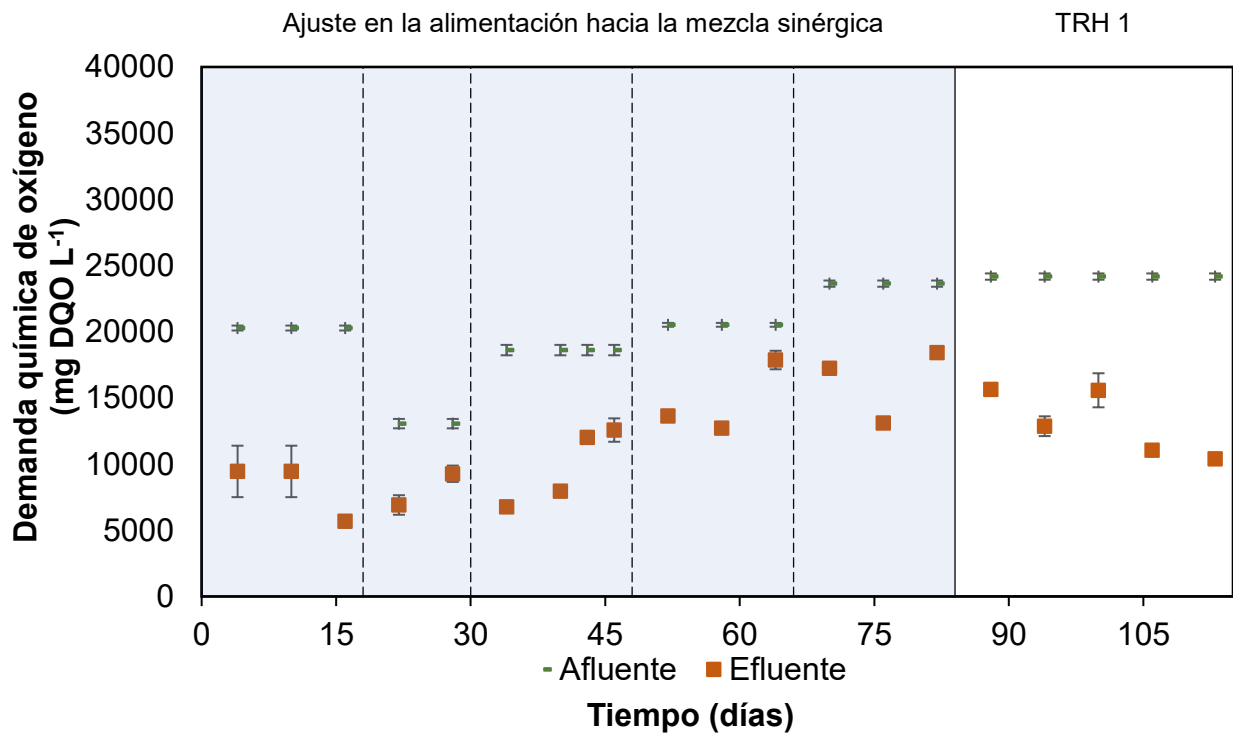


En el biodigestor BD1, durante la etapa previa a la alimentación con la mezcla sinérgica, la remoción de DQO superó el 30%, lo que indica un desempeño aceptable según el umbral de eficiencia mínima propuesto por Angelidaki et al., (2011), quienes establecen 30% de remoción de DQO para considerar un funcionamiento adecuado del BD. El comportamiento del BD1 en la etapa inicial de operación indica que el BD alcanzó un nivel elemental de estabilización de la materia orgánica permitiendo su conversión en metano, evitando la acumulación de compuestos intermedios que afectarían el proceso de DA. En términos operativos, la remoción de DQO mayor al 30% indica que el sistema disponía de una base funcional para tolerar el cambio en la concentración y composición del afluente.

En la **Figura 10** se observa que, durante la fase de cambio en la alimentación, el proceso logró disminuir la DQO del afluente a valores entre 2000-4000 mg L<sup>-1</sup> en el efluente, lo que refleja una alta eficiencia de remoción de materia orgánica. Sin embargo, al operar el BD con la mezcla sinérgica, durante el primer TRH se registró

un incremento temporal en la DQO, que posteriormente descendió. La tendencia en la DQO indica una inestabilidad temporal causada por la composición de los co-sustratos alimentados al proceso de DA. Esta tendencia se observó nuevamente en el segundo TRH, con variaciones en la DQO de hasta 20 000 mg L<sup>-1</sup>, alcanzado una remoción final de solo el 28%. A pesar de las fluctuaciones registradas en el biodigestor BD1, la dinámica de la DQO indica que el sistema logró mantener una degradación de materia orgánica en rangos aceptables.

**Figura 11.** Dinámica de la remoción de materia orgánica expresada como DQO en función del tiempo bajo una VCO de 0.75 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup>

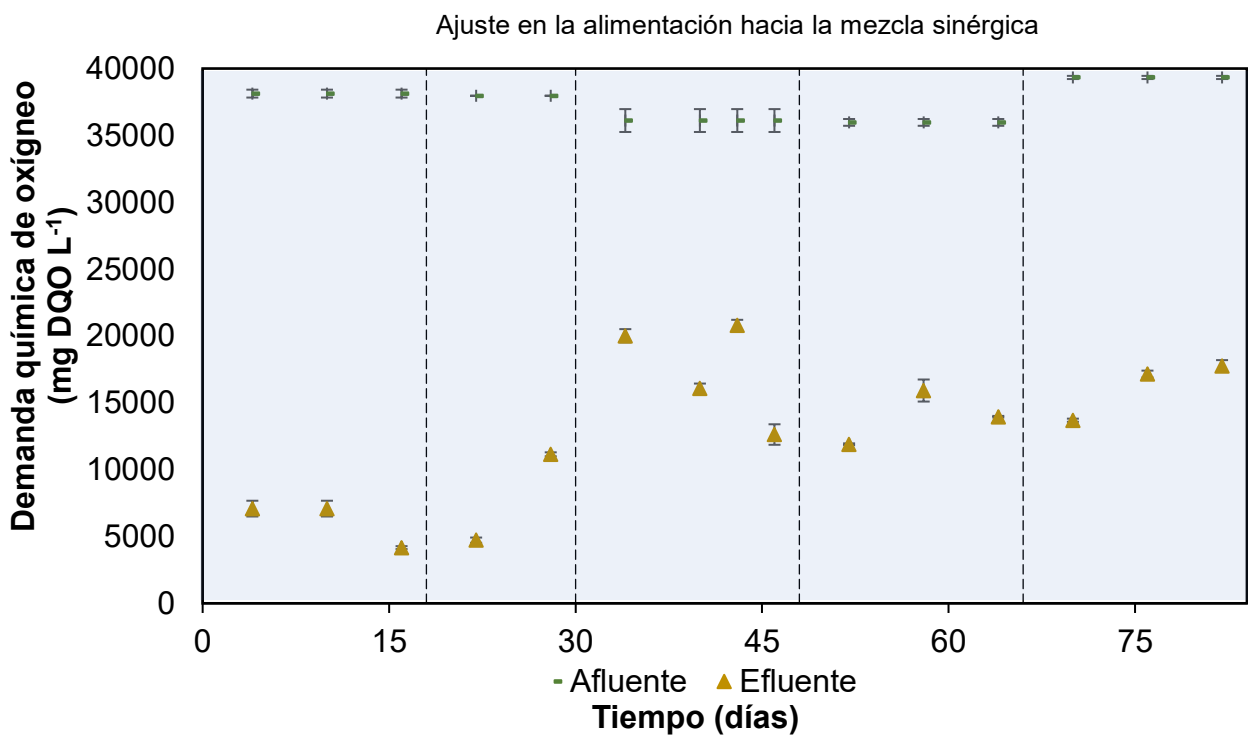


En el caso del biodigestor BD2, la remoción de DQO fue menor desde el periodo de adaptación (aproximadamente del 25%) y presentó un descenso gradual durante la operación y por debajo de umbral de eficiencia mínima propuesto por Angelidaki et al., (2003). En la **Figura 11** se observa el comportamiento del DQO del efluente que tuvo descensos hasta de 5 000 mg L<sup>-1</sup>, sin embargo, durante la operación del biodigestor BD2 se evidenciaron incrementos graduales hasta superar los 15 000 mg L<sup>-1</sup>. El patrón de la DQO refleja una acumulación progresiva de materia orgánica desde el inicio de la operación del biodigestor, lo que indica que el sistema se

sobrecargó y el TRH fue insuficiente para degradar la materia orgánica biodegradable presente en los sustratos.

Durante la alimentación con la mezcla 54AM:17P:29EB (%SV) correspondiente a la operación entre los días 66 a 82, caracterizada por una mayor proporción de AM, se evidenció un leve incremento en la remoción de DQO. El efecto del aumento en la remoción fue transitorio y se atribuye al aporte de fracciones fácilmente degradable de las AM. Sin embargo, la alimentación con la mezcla sinérgica ocasionó un descenso en la eficiencia de remoción de materia orgánica, con valores por debajo del umbral de estabilidad.

**Figura 12.** Dinámica de la remoción de materia orgánica expresada como DQO en función del tiempo bajo una VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



Por su parte, el biodigestor BD3 mostró desde el inicio del periodo de adaptación un comportamiento inestable, con remociones de DQO inferiores al 20%, valor que se mantiene por debajo del umbral de eficiencia mínima. En la **Figura 12** se observa que el efluente presentó aumentos progresivos en la DQO con picos que superaron los  $20\,000 \text{ mg L}^{-1}$  durante el cambio en la alimentación. El patrón del biodigestor

BD3 muestra que el sistema no logró estabilizar la degradación de materia orgánica, incluso con la adición progresiva de AM, no se observó mejora en la degradación y no superaron los niveles mínimos de eficiencia. La acumulación acelerada de DQO en efluente indica una fuerte inhibición del proceso, atribuible a la combinación de factores como sobrecarga orgánica, presencia de compuestos recalcitrantes aportados por la P y un TRH excesivamente corto, donde la rápida acidogénesis causó un desequilibrio entre la etapa de producción y consumo de AGV, lo que interfirió en un adecuado proceso de DA y se reflejó en la baja producción de metano.

Los BD mostraron un comportamiento creciente en la DQO del efluente a lo largo del tiempo de operación, lo cual es consistente con la acumulación progresiva de materia orgánica previamente evidenciada en los SV. Este aumento se manifestó en el biodigestor BD1 (**Figura 10**) a partir del primer TRH, mientras que en los biodigestores BD2 (**Figura 11**) y BD3 (**Figura 12**) la tendencia se presentó desde el inicio de la operación, lo cual indica una acumulación temprana de compuestos no degradados en condiciones de mayor carga orgánica.

Las remociones de DQO estuvieron influenciadas significativamente por la VCO, siendo el biodigestor BD1 el que presentó los valores más altos de remoción durante los primeros días de operación con la mezcla sinérgica. Este comportamiento evidencia que, a menor carga, el sistema presenta una mayor capacidad de adaptación metabólica, permitiendo un procesamiento más eficiente de la materia orgánica biodegradable y confirma los resultados de Angelidaki et al., (2003).

Durante la etapa con la mezcla 17P:83EB (%SV) correspondiente a la operación entre los días 18 a 30, las remociones de DQO fueron las más bajas para todos los biodigestores, lo cual se puede relacionar con la limitada biodegradabilidad de la fracción lignocelulósica predominante en la P y una menor disponibilidad de compuestos fácilmente degradables. Posteriormente, al incorporar las aguas mieles en la mezcla 54AM:17P:29EB (%SV) correspondiente a la operación entre los días 66 a 82, la degradación de DQO mejoró de forma notoria, alcanzando remociones máximas de 41% y 30% para los biodigestores BD1 y BD2, respectivamente. Sin

embargo, esta mejora no se sostuvo durante la operación con la mezcla sinérgica (66AM:17P:17EB, %SV), que mostró una reducción en la remoción de DQO en un 3.85% y 5.03% durante el primer TRH en las VCO de 0.5 y 0.75 kg SV m<sup>-3</sup><sub>op</sub> d<sup>-1</sup>, respectivamente. En el TRH 2, la remoción disminuyó un 8.6% adicional, alcanzando valores de apenas 28% en el biodigestor BD1. Los resultados obtenidos sugieren que, a pesar de que el potencial de biometanización evidenciado por Guerrero et al., (2023) en operación discontinua (*batch*) para la mezcla sinérgica de co-sustratos evaluada, la operación semicontinua presentó limitaciones asociadas a las variables operativas como la VCO y el TRH.

Finalmente, la baja eficiencia en la remoción de DQO, particularmente en el biodigestor BD3 puede atribuirse a la composición química de los sustratos. Diversos estudios han documentado la presencia de compuestos inhibidores, tales como cafeína, taninos y fenoles libres, los cuales interfieren negativamente en la actividad enzimática de los microorganismos involucrados en la DA de residuos de café (Selvankumar et al., 2017).

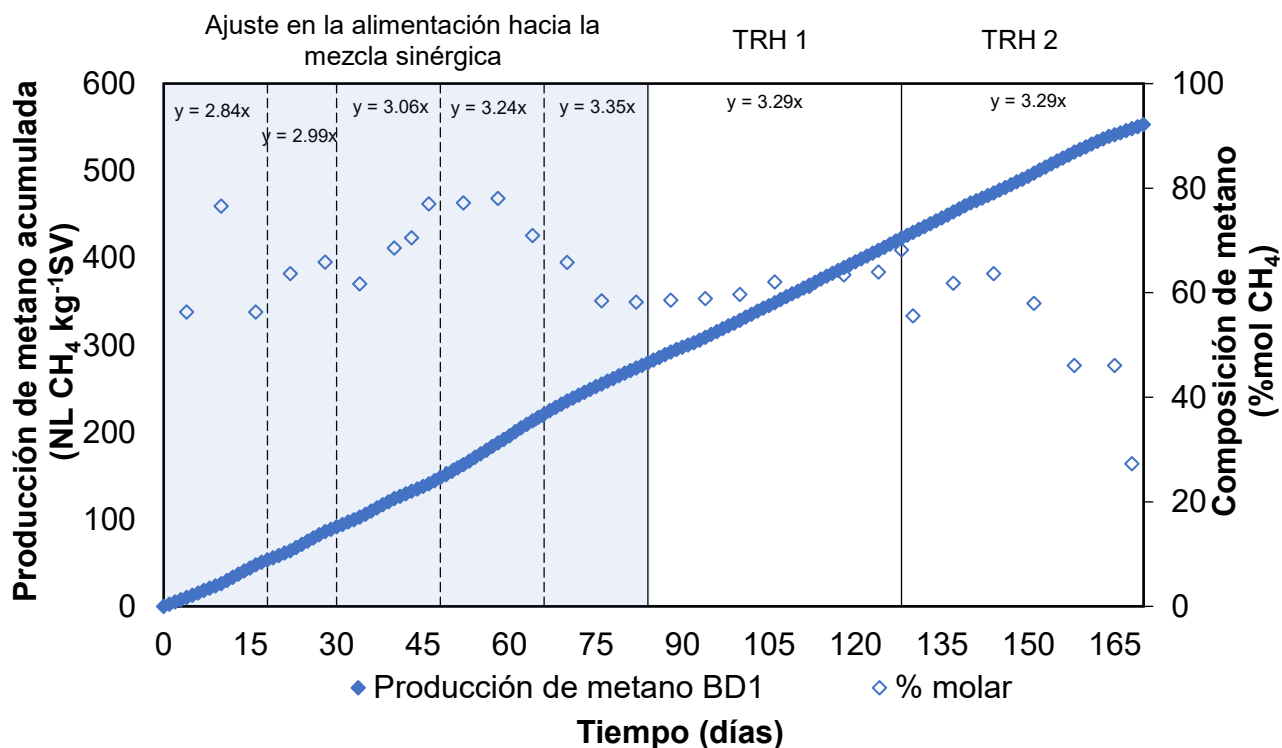
La acumulación progresiva de materia orgánica no degradada generó condiciones adversas para la estabilización del proceso, particularmente en condiciones de alta carga orgánica. En este contexto, la presencia de fracciones lignocelulósicas recalcitrantes, así como la interacción poco favorable entre los componentes del sustrato, limitó la tasa de conversión biológica de la materia orgánica, impactando negativamente la remoción de DQO. Aunque en los ensayos en operación discontinua (*batch*) se identificó una sinergia positiva entre la mezcla de P y AM con EBF, ese comportamiento no se obtuvo en la operación semicontinua. Por lo tanto, los resultados muestran la necesidad de un TRH adecuado para permitir una biodegradación de los compuestos orgánicos presentes en los sustratos y, en consecuencia, mejorar la estabilidad y eficiencia del proceso de CoDA.

### 1.3.3.3. Producción y rendimiento de metano

Tras el análisis de la remoción de SV y la evolución de la DQO como indicadores de degradación de materia orgánica y estabilidad del proceso, se requiere complementar el estudio con la evaluación de la producción de metano, debido a que este parámetro refleja directamente la conversión de materia orgánica en energía aprovechable.

En la **Figura 13**, **Figura 14** y **Figura 15** se presenta la evolución de la producción acumulada de metano y su composición molar en los tres biodigestores (BD1, BD2 y BD3) operados a diferentes VCO. En cada gráfica, la abscisa corresponde al tiempo de operación (días), mientras que la ordenada (eje Y principal) representa la producción acumulada de metano y la ordenada secundaria muestra la composición molar del biogás. La evolución de la pendiente de la curva de producción acumulada (indicadas en las gráficas como  $y=mx$ ) permite comparar las tasas de generación de metano durante cada etapa del proceso.

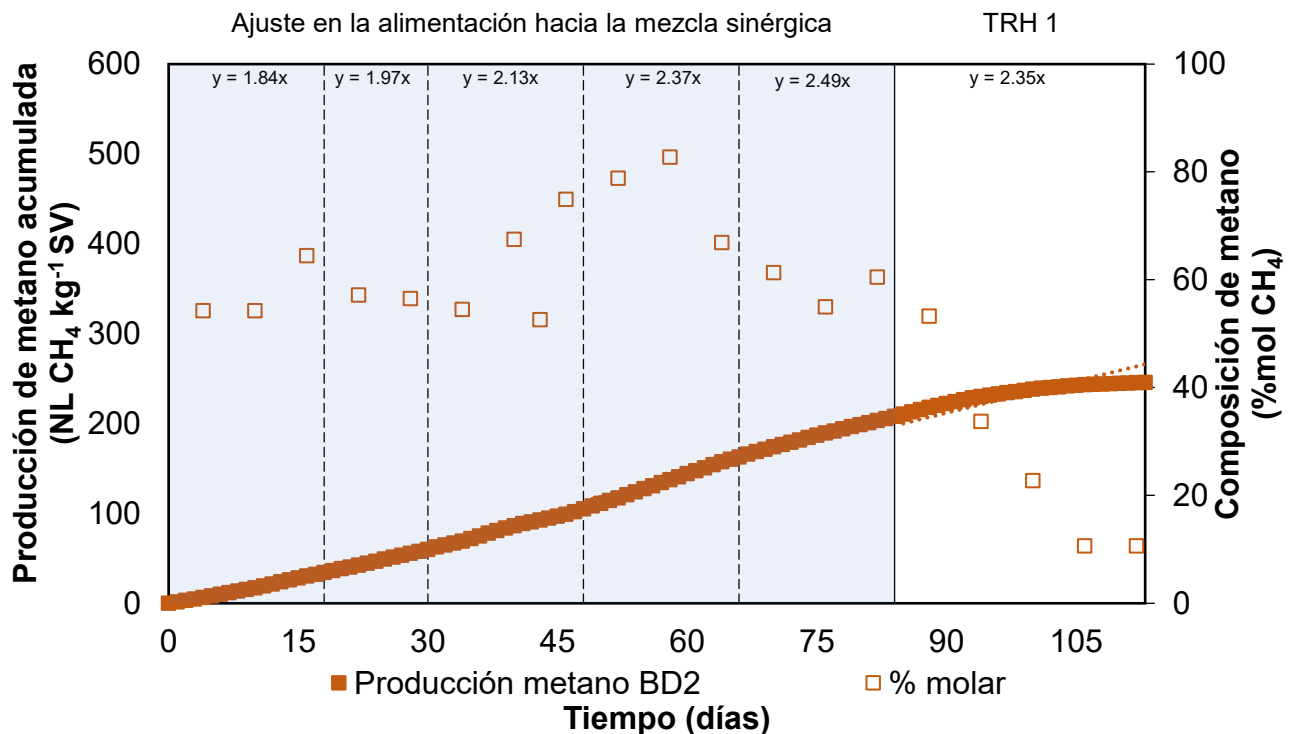
**Figura 13.** Producción de metano acumulada y evolución de su composición molar bajo una VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En el biodigestor BD1, la producción de metano tuvo un incremento durante el tiempo de operación, oscilando entre 2.84 y 3.35 NL CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> SV d<sup>-1</sup>, con ligeras variaciones en la pendiente que refleja la tasa de producción de biometano en cada etapa de alimentación. En la **Figura 13** se observa que, durante el cambio en la alimentación y el primer TRH, la producción de metano mantuvo incrementos lo que indica que el proceso DA fue estable en la conversión de materia orgánica a metano. Con relación a la composición molar del metano en el biogás, durante el cambio en la alimentación se obtuvo concentraciones entre 60-80% CH<sub>4</sub>, evidenciando un buen desarrollo de la etapa metanogénica.

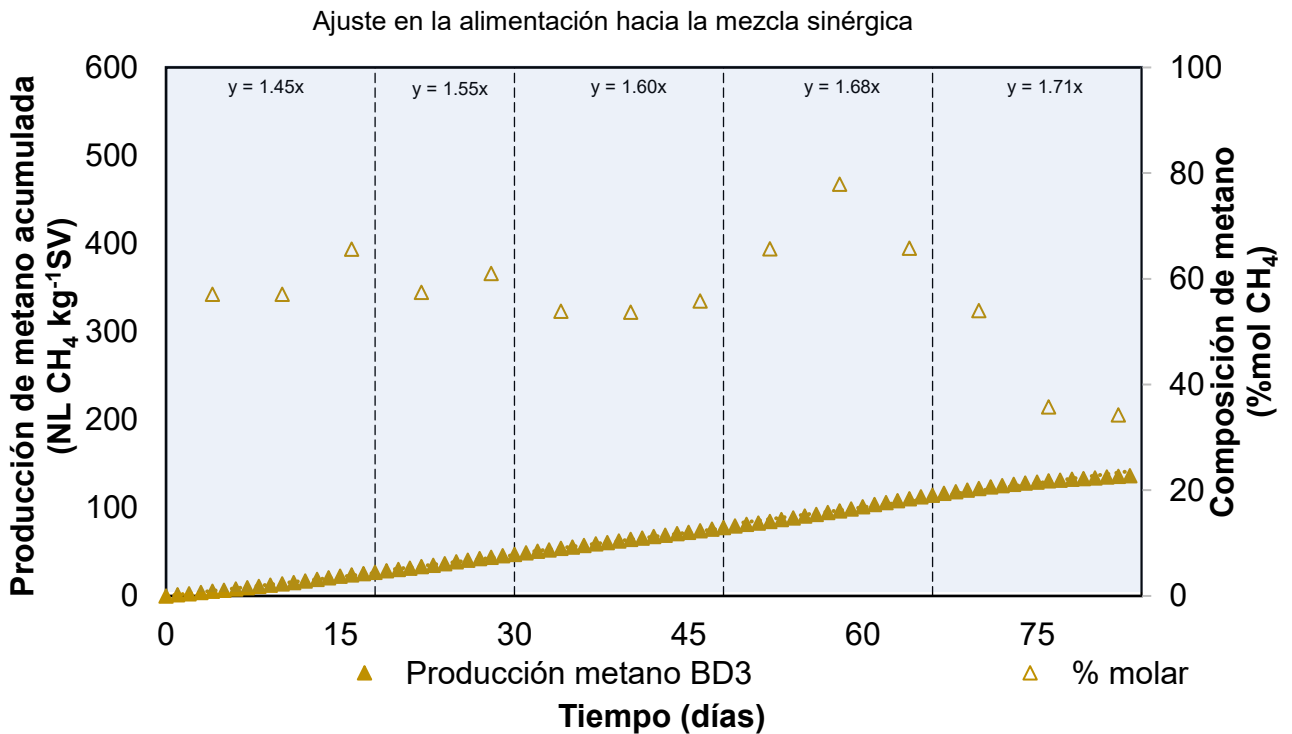
No obstante, en el segundo TRH se observa un decrecimiento en la producción acumulada de metano y una caída en la fracción molar de metano que descendió por debajo del 40% en los últimos días del monitoreo. El comportamiento del biodigestor BD1 está asociado a la acumulación de materia orgánica discutida anteriormente, que disminuyó la eficiencia de global del proceso afectando la etapa metanogénica. Este resultado es comparable con el reportado por Dhar et al., (2016), quienes evaluaron la DA de residuos sólidos municipales y reportaron un bajo rendimiento en la producción de metano e inestabilidad en el proceso debido a la acumulación de SV, lo que dificultaba la remoción efectiva de materia orgánica y su conversión en energía.

**Figura 14.** Producción de metano acumulada y evolución de su composición molar bajo una VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En la **Figura 14** se muestra el comportamiento del biodigestor BD2, que tuvo una producción de metano con pendientes iniciales más elevadas, alcanzando hasta  $2.49 \text{ NL CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$  durante la etapa de cambio en la alimentación, lo que refleja una mayor tasa de generación de metano en el corto plazo en comparación con el desempeño del BD1. No obstante, este comportamiento no se mantuvo estable, debido a que durante el primer TRH descendió a  $2.35 \text{ NL CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$  y la composición molar se redujo considerablemente hasta un 10.6% en los últimos días del monitoreo, evidenciando una inhibición severa del sistema, específicamente en la etapa metanogénica. La tendencia del biodigestor BD2 muestra una inhibición acelerada de la metanogénesis, que se atribuye al desequilibrio ocasionado por la carga orgánica aplicada al sistema. La literatura reporta que en sistema semicontinuos con elevadas cargas orgánicas y TRH inadecuados se induce a un desbalance metabólico que inhibe la etapa metanogénica, reflejándose en la caída de la producción de metano y su composición molar (Amani et al., 2010).

**Figura 15.** Producción de metano acumulada y evolución de su composición molar bajo una VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En el biodigestor BD3, la producción fue progresivamente creciente desde 1.45 hasta 1.71 NL CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> SV d<sup>-1</sup> durante la etapa inicial de operación, lo que sugiere una respuesta inicial favorable en términos de producción de metano. En la **Figura 15** se observa que, durante la operación, la composición molar de metano disminuyó progresivamente hasta el 40%, lo que indica que una fracción creciente del biogás producido correspondía a CO<sub>2</sub>. El cambio en la composición del producto gaseoso de la DA refleja el desequilibrio entre la acidogénesis y la metanogénesis, por lo tanto, la eficiencia del bioproceso se vio comprometida por la sobrecarga orgánica. Este sistema no alcanzó el equilibrio funcional y la acumulación de materia orgánica fue persistente, tal como se confirmó previamente con el análisis de DQO. Algunos autores recomiendan operar con una baja VCO para evitar la inhibición del proceso por acumulación de AGV, debido a que la tasa acidogénica aumenta como resultado de una VCO demasiado alta (Nagao et al., 2012).

Durante el periodo de cambio en la alimentación, todos los biodigestores alcanzaron sus máximas composiciones molares de metano, registrando valores promedio de

66.7% en el biodigestor BD1 (**Figura 13**), 63.83% en el biodigestor BD2 (**Figura 14**) y 56.8% en el biodigestor BD3 (**Figura 15**). No obstante, la comparación entre las tasas de producción de metano indica que una mayor velocidad de producción no siempre conlleva a una mayor eficiencia de proceso, como se evidenció en el biodigestor BD2. Aunque en el biodigestor BD2 se alcanzaron valores de producción de metano superiores para algunas relaciones de mezcla, la pérdida de calidad del biogás generó un impacto negativo sobre la eficiencia del proceso. Por su parte, el biodigestor BD1 demostró una producción de metano con mayor estabilidad y mejor composición molar de CH<sub>4</sub>, lo cual se reflejó en una producción acumulada de 550.5 NL CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> SV, superior un 57.8% a la del biodigestor BD2 y en un 109.8% a la evidenciada en el biodigestor BD3.

Estos resultados demuestran que la producción sostenida de metano requiere no solo una adecuada tasa de conversión de materia orgánica, sino también un equilibrio metabólico que permita mantener la composición del biogás en niveles adecuados (mayor al 50% de acuerdo con Escalante-Hernández et al., 2017). La evolución simultánea de la producción de metano y la composición molar de biogás es una herramienta útil para diagnosticar el rendimiento del sistema de CoDA. Los datos confirman que operar a VCO moderadas y garantizar un TRH suficiente son condiciones críticas para asegurar una producción adecuada de metano.

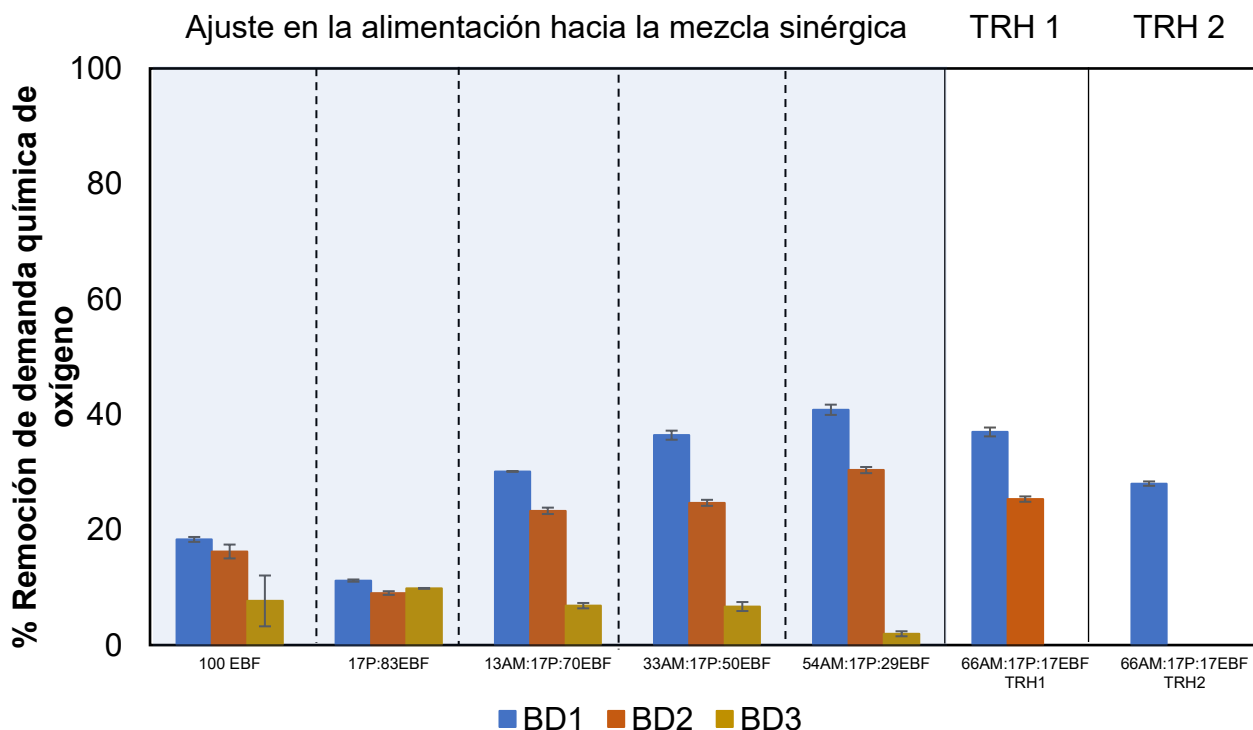
#### *1.3.4. Desempeño del bioproceso de co-digestión: remoción de DQO y generación de metano*

Los resultados obtenidos anteriormente evidenciaron que la acumulación progresiva de materia orgánica en los BD, particularmente bajo condiciones de alta carga orgánica, compromete la estabilidad del proceso de CoDA de residuos de café con EBF. La acumulación reflejada por las bajas remociones de DQO y la presencia de materia orgánica no degradada, sugiere que fracción considerable de los sustratos alimentadas al sistema no fue transformada eficientemente.

Por lo tanto, con el fin de complementar la evaluación del desempeño del sistema de DA, se aplicó un balance de masa en términos de DQO, el cual permitió estimar para cada relación de mezcla la fracción de materia orgánica efectivamente degradada, la proporción convertida en metano y la materia orgánica acumulada dentro del sistema. En tal sentido, a partir del monitoreo de los BDs se calcularon los indicadores de remoción de materia orgánica y conversión a metano, aportando una base cuantitativa para la comparación del rendimiento de cada BD bajo las diferentes condiciones operativas evaluadas.

La **Figura 16** muestra los resultados del balance de masa en términos de la DQO, expresados como el porcentaje de remoción de materia orgánica para cada mezcla evaluada en los biodigestor. En el eje de las ordenada se presenta el porcentaje de remoción de DQO, que indica la eficiencia con que cada sistema logró degradar la materia orgánica presente en los residuos, mientras que en el eje de las abscisas se muestran las distintas proporciones de mezcla de sustratos utilizadas durante las fases de operación.

**Figura 16.** Comparación de la remoción de DQO obtenida para cada relación de mezcla de co-sustratos en los biodigestores operados a diferentes VCO



En la **Figura 16** se observa que el biodigestor BD1 presentó los valores más altos de remoción, alcanzando un máximo de 47% con la relación de mezcla 54AM:17P:29EB (%SV). Este resultado indica que una menor VCO y un mayor TRH favorecen la estabilidad del biodigestor debido a que hay una degradación efectiva de la materia orgánica presente en el afluente. El bajo nivel de acumulación de materia orgánica registrado en el biodigestor durante el primer TRH se tradujo en una mayor eficiencia global del bioproceso.

En el biodigestor BD2, se logró una degradación aceptable con las relaciones de mezclas previas a la alimentación con la mezcla sinérgica. Sin embargo, la eficiencia global del proceso de vino fue limitada por una mayor acumulación de materia orgánica no degradada, lo que reflejó una menor capacidad de procesamiento frente a la carga orgánica de la alimentación. La mezcla sinérgica ocasionó una reducción significativa en la eficiencia de biodegradación, evidenciado en la incapacidad del sistema para adaptarse adecuadamente a la composición de los sustratos en operación semicontinua.

En cuanto al biodigestor BD3, los valores de eficiencia obtenidos fueron consistentemente más bajos en todas las relaciones de mezcla. En este caso, la acumulación dentro del BD fue el factor determinante en el proceso de DA, indicando que gran parte de la materia orgánica alimentada permaneció dentro del biodigestor sin ser transformada ni degradada. Este comportamiento no solo redujo la remoción de DQO, sino que también limitó la producción de metano, comprometiendo la eficiencia del proceso.

En la **Tabla 8**, se presenta las eficiencias operacionales del sistema de CoDA para las diferentes VCO y relaciones de mezcla evaluadas. Se incluyeron dos indicadores clave: la eficiencia del biodigestor y la eficiencia del bioproceso.

**Tabla 8.** Eficiencias operacionales del bioproceso y biodigestor para las velocidades de carga orgánica evaluadas

Parámetro	Unidades	Relación de mezcla								
		VCO (kg SV m <sup>-3</sup> <sub>op</sub> d <sup>-1</sup> )	MonoDA			CoDA binaria		CoDA terciaria		
			M1	M2	M3	M4	M5	M6 TRH 1	M6 TRH 2	
Eficiencia del biodigestor	(m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> m <sup>-3</sup> <sub>digestor</sub> d <sup>-1</sup> )	0.5	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.49	0.47	
		0.75	0.44	0.51	0.55	0.55	0.56	0.50	-	
		1	0.27	0.30	0.30	0.36	0.23	-	-	
Eficiencia del bioproceso	(m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> SV d <sup>-1</sup> )	0.5	0.62	0.71	0.69	0.95	0.81	0.76	0.72	
		0.75	0.39	0.46	0.55	0.71	0.58	0.29	-	
		1	0.30	0.37	0.38	0.47	0.26	-	-	

MonoDA.M1: Mezcla 1. 100 EBF.

CoDA binaria. M2: Mezcla 2. 17P:83EBF.

CoDA terciaria. M3: Mezcla 3. 13AM:17P:70EBF; M4: Mezcla 4. 33AM:17P:50EB; M5. Mezcla 5: 54AM:17P:29EB; M6: Mezcla 6. 66AM:17P:17EB

Durante el período de cambio de alimentación de los co-sustratos, el biodigestor BD2 presentó los valores más altos de eficiencia del biodigestor, alcanzando hasta una eficiencia de  $0.56 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ m}^{-3}_{\text{digestor}} \text{ d}^{-1}$  con la mezcla M5: 54AM:17P:29EB (%SV). La mayor producción en la fase de adaptación puede atribuirse al aumento en la carga orgánica aplicada, que favoreció la producción de biogás en las mezclas previas a la alimentación sinérgica. Sin embargo, a pesar de este aumento en la eficiencia del BD, se evidenció una menor calidad del biogás generado en el biodigestor BD2 comparado con el biodigestor BD1. Por lo tanto, la eficiencia del bioproceso cayó abruptamente a  $0.29 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ kg}^{-1} \text{ SV} \text{ d}^{-1}$  con la mezcla sinérgica en el BD2, lo que indica un desequilibrio en la etapa metanogénica, reflejado en las bajas tasas de degradación de DQO previamente discutidas.

En contraste, el biodigestor BD1 operado bajo un carga orgánica baja y un mayor TRH, presentó un comportamiento más estable. Las eficiencias del biodigestor se mantuvieron alrededor de  $0.49 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ m}^{-3}_{\text{digestor}} \text{ d}^{-1}$  en la mezcla sinérgica durante el primer TRH, con una ligera disminución a  $0.47 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ m}^{-3}_{\text{digestor}} \text{ d}^{-1}$  en el TRH 2. La eficiencia del bioproceso, en cambio, se mantuvo alta y constante con valores de  $0.76$  y  $0.72 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ kg}^{-1} \text{ SV} \text{ d}^{-1}$  durante el primer y segundo TRH, respectivamente. Esta estabilidad indica que las condiciones operativas del biodigestor BD1 favorecieron la etapa metanogénica en el proceso de DA y una mejor conversión del sustrato, incluso ante la complejidad de los sustratos.

El comportamiento del BD3 fue significativamente diferente respecto a los biodigestores BD1 y BD2. Desde el inicio de la operación, el biodigestor BD3 presentó valores más bajos en ambos indicadores de eficiencia. Durante la etapa de cambio en la alimentación, cuando se operó con la mezcla M4: 33AM:17P:50EB (%SV), la eficiencia del biodigestor solo alcanzó un  $0.36 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ m}^{-3}_{\text{digestor}} \text{ d}^{-1}$ , y la eficiencia del bioproceso fue de  $0.47 \text{ m}^3_{\text{CH}_4} \text{ kg}^{-1} \text{ SV} \text{ d}^{-1}$ . Lo anterior, demuestra que el rendimiento global del sistema fue deficiente, y se atribuye al colapso funcional del bioproceso, debido a la acumulación de materia orgánica y la acidificación del BD, lo que impactó negativamente la etapa metanogénica.

La comparación entre los tres BD revela que, aunque una mayor VCO favorece el incremento en la producción de biogás, como ocurrió en el biodigestor BD2, esto no garantiza una conversión eficiente de los sustratos ni una operación estable a largo plazo. El biodigestor BD1 mostró el mejor equilibrio entre carga, degradabilidad del sustrato y TRH, mientras que el biodigestor BD3 demostró las consecuencias negativas de operar al límite de capacidad del sistema.

Con relación a la influencia de las relaciones de mezcla, se evidenció que la incorporación de AM tuvo un efecto positivo sobre las eficiencias energéticas del proceso. Las mezclas M4: 33AM:17P:50EB (%SV) y M5: 54AM:17P:29EB (%SV), generaron los mayores valores de eficiencia de bioproceso en los tres BD, mientras que la mezcla M2: 17P:83EB (%SV), con una alta proporción de material lignocelulósico aportado por la P, produjo indicadores de eficiencia más bajos, lo que refuerza el carácter recalcitrante del residuo. Los resultados coinciden con lo reportado por Armenta Romero & Matiz Ángel, (2024) y Gómez-Salcedo et al., (2021), quienes reportaron mejores rendimientos en el procesos de CoDA al aumentar las proporciones de componentes solubles y fermentables en la alimentación del sistema.

Los resultados muestran que las limitaciones inherentes de los sistemas semicontinuos, donde la saturación de material orgánico y la acumulación de compuestos inhibitorios son desafíos significativos. Por lo tanto, es importante operar los sistemas de DA con VCO moderadas y un TRH adecuado, además de implementar estrategias complementarias como pretratamientos de los sustratos complejos (relacionados a la P), que permitiría mantener un equilibrio de las etapas metabólicas de la DA y mejorar la eficiencia global del proceso.

#### **1.4. CONCLUSIONES**

El desempeño del proceso CoDA de residuos agroindustriales de café (P y AM) con EBF está fuertemente influenciado por la VCO. La eficiencia del bioproceso mostró una tendencia decreciente con el incremento de la VCO, evidenciando que, si bien cargas orgánicas mayores pueden aumentar inicialmente la producción de metano,

también inducen sobrecargas que deterioran progresivamente el rendimiento del sistema.

Los resultados demostraron que una VCO de  $0.5 \text{ kg SV} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{op} \cdot \text{d}^{-1}$  permite mantener condiciones estables durante un periodo de operación de hasta dos TRH (88 días), favoreciendo una remoción de materia orgánica superior al 30%, una producción acumulada de metano de  $542 \text{ NL CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$  y una calidad del biogás entre 45-60%.

En contraste, las VCO intermedia y alta, de  $0.75$  y  $1.0 \text{ kg SV} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{op} \cdot \text{d}^{-1}$ , respectivamente, promovieron una rápida acumulación de materia orgánica no degradada, comprometiendo la producción de metano y la estabilidad del sistema. Particularmente, el biodigestor BD3 presentó la menor eficiencia, atribuida a la naturaleza recalcitrante de los residuos de café, ricos en compuestos lignocelulósicos.

Los resultados evidenciados en este trabajo proporcionan una base técnica relevante para la operación de sistemas de tratamiento de residuos agroindustriales de café como la P y las AM en contextos rurales y de pequeña escala.

## CAPITULO II

### EFFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN SOBRE LA BIOMASA MICROBIANA EN PROCESOS DE CO-DIGESTIÓN

**Resumen:** En este capítulo se presenta la respuesta de la biomasa microbiana frente a la acidificación del proceso de co-digestión anaeróbica (CoDA) de los residuos agroindustriales de café (P y AM) junto con EBF. En los tres biodigestores tubulares operados en modo semicontinuo a diferentes velocidades de carga orgánica (VCO), se estudió el grado de acidificación, los rendimientos de conversión metanogénica y acidogénica y la evaluación de la actividad de los consorcios microbianos típicos de la DA.

Los resultados mostraron que el incremento progresivo en la proporción de AM en la mezcla alimentada provocó un aumento significativo en la generación de AGV y posteriormente su acumulación, en especial bajo condiciones de alta carga orgánica. El grado de acidificación se mantuvo controlado en el biodigestor BD1 en comparación con el biodigestor BD2, donde la acumulación de AGV fue creciendo gradualmente. En contraste, en el biodigestor BD3 la acidificación provocó la inhibición total del proceso.

La comparación entre los rendimientos de conversión evidenció una transición funcional del bioproceso, debido a que, en las fases iniciales de alimentación, la etapa metanogénica fue estable. Sin embargo, a medida que transcurrió la operación de los BD e incrementó la proporción de AM, predominó la etapa acidogénica. Esta tendencia fue corroborada por las mediciones de AME y AHE, donde se evidenció que la acumulación de AGV conlleva a la acidificación y por ende compromete la funcionalidad de las comunidades microbianas metanogénicas.

**Palabras clave:** acidificación, ácidos grasos volátiles, estabilidad del proceso, rendimiento acidogénico, rendimiento metanogénico.

## 2.1. INTRODUCCIÓN

La cadena de producción de café genera aproximadamente 6 millones de toneladas de residuos anualmente, cuya disposición inadecuada puede ocasionar daños medioambientales (Luz et al., 2017). Frente a esta problemática, en los últimos años la DA se ha consolidado como una alternativa tecnológica ambientalmente segura para el tratamiento y valorización de residuos orgánicos (Neves et al., 2006), presentando ventajas sobre otros métodos de gestión, tales como la reducción de la carga contaminante, estabilización de materia orgánica y producción simultánea de biogás.

La DA es un proceso bioquímico que depende del equilibrio metabólico entre diversos consorcios microbianos (principalmente bacterias fermentativas, bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas) que actúan de manera secuencial en la transformación de materia orgánica en biogás (Adekunle & Okolie, 2015). La DA se desarrolla mediante cuatro etapas principales: *i*) hidrólisis, *ii*) acidogénesis, *iii*) acetogénesis y *iv*) metanogénesis. Desde un punto de vista funcional del proceso, estas etapas se pueden agrupar en dos grandes fases: una *fase productora de ácidos*, donde los compuestos orgánicos se transforman en AGV, y una *fase consumidora de ácidos*, en la que intermediarios son metabolizados principalmente por las arqueas metanogénicas para generar metano. El adecuado funcionamiento del proceso requiere que la cinética de producción AGV no supere la capacidad de consumo de las poblaciones metanogénicas; de lo contrario, los AGV se acumulan, el pH disminuye y se produce la acidificación del sistema, una de las principales causas de inestabilidad operativa en la DA (Lohani & Havukainen, 2018).

La acidificación del proceso de DA es consecuencia de un desbalance metabólico que puede originarse por sobrecarga de sustratos fácilmente fermentables, cambios en las condiciones operativas o inhibición de la actividad metanogénica por la presencia de compuestos tóxicos. Por lo tanto, la acidificación del proceso no solo compromete la producción de metano, sino que también altera la funcionalidad de las comunidades microbianas reduciendo el equilibrio entre las bacterias acidogénicas y las arqueas metanogénicas (Franke-Whittle et al., 2014).

En este contexto, la CoDA de la P y AM del café, se plantea como una estrategia que permite mejorar la estabilidad y eficiencia de la DA, debido a que al utilizar como co-sustrato EBF, actúa como estabilizante gracias a su capacidad tampón, contenido de nutrientes y aporte de una comunidad microbiana diversa capaz de degradar la materia orgánica, lo que genera sinergias entre co-sustratos que favorecen el equilibrio del proceso (Kampioti & Komilis, 2022).

La P y las AM de café, constituyen residuos agroindustriales con un elevado potencial para la producción de biogás debido a su alto contenido de carbohidratos y compuestos orgánicos fácilmente degradables; no obstante, esta misma característica lo hace sensible a la sobrecarga acidogénica y por ende, la acumulación de AGV puede afectar las vías metabólicas para la producción del metano.

Existen dos vías metabólicas para la producción de metano, que incluye la metanogénesis aceticolástica y la metanogénesis hidrogenotrófica. En la vía aceticolástica, el precursor del metano es el ácido acético producido en la acetogénesis, mientras que en la vía hidrogenotrófica, el dióxido de carbono es el precursor del principal producto en la mezcla del biogás (Z. Xu et al., 2014). La metanogénesis aceticolástica y la metanogénesis hidrogenotrófica representan el 70% y el 30%, respectivamente, del total del metano producido (Conrad, 2005). Lo anterior, se ha corroborado en que los cambios en las actividades metanogénicas inciden directa en el proceso de DA (Wijekoon et al., 2011).

Debido a que la metanogénesis es el paso limitante en el proceso de DA, es necesario estudiar el efecto de los AGV en las comunidades microbianas. Aunque la literatura ha evaluado sistemas de digestión de residuos de café, la interacción entre la dinámica microbiana y el riesgo de acidificación en la CoDA de estos residuos con EBF operada en BDs semicontinuos aún no se encuentra caracterizada (Neves et al., 2006; Villa Montoya et al., 2019). Por lo tanto, existe un vacío importante en la evaluación conjunta del grado de acidificación, el rendimiento acidogénico y metanogénico, y la AME y AHE cuando se tratan los residuos de café.

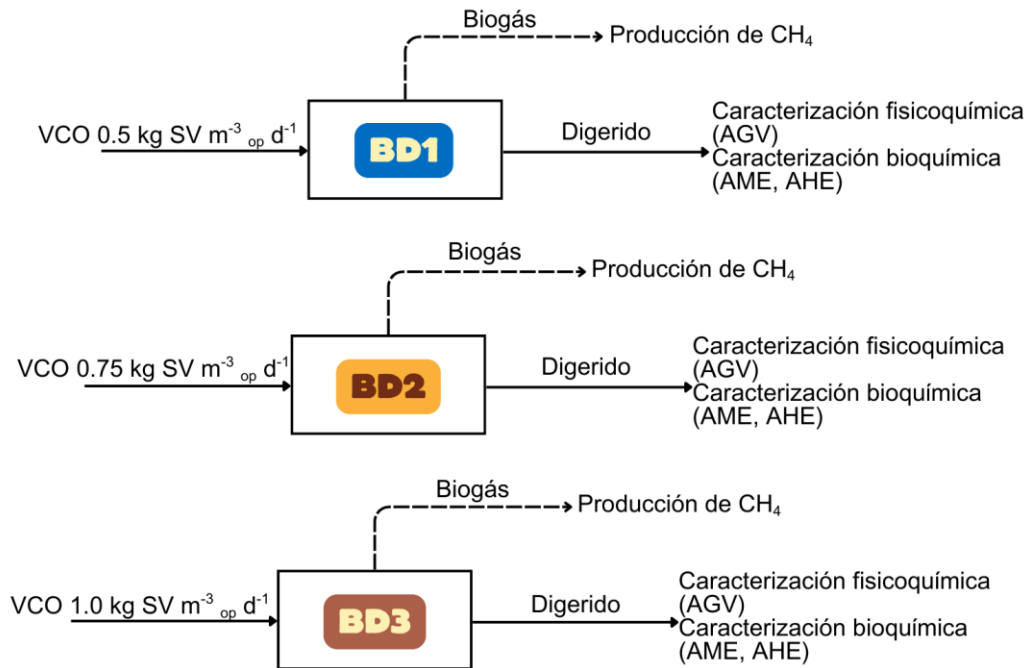
El análisis de las interacciones mencionadas anteriormente es fundamental para evaluar el efecto de la acumulación de AGV en la estabilidad del sistema.

Por lo anterior, este capítulo tiene como objetivo analizar, desde un enfoque integral, el impacto de la acidificación sobre la dinámica microbiana en un BD tubular operado bajo condiciones semicontinuas, alimentado con una mezcla de P y AM de café y EBF expuesta en el capítulo anterior. Abordar el proceso de CoDA desde la perspectiva del efecto de la inhibición por AGV proporciona una base científica sólida para comprender la resiliencia o vulnerabilidad del sistema ante procesos de acidificación cuando se tratan residuos orgánicos complejos como los provenientes del beneficio húmedo del café.

## **2.2. METODOLOGÍA**

El desarrollo experimental se realizó mediante la determinación del grado de acidificación, el análisis comparativo de los rendimientos metanogénico y acidogénico y la evaluación de la AME y AHE en 3 diferentes condiciones VCO, con el fin de identificar las condiciones que afectan el equilibrio entre la producción y el consumo de AGV.

**Figura 17. Esquema metodológico para la evaluación del efecto de la acidificación sobre la dinámica microbiana**



### 2.2.1. Determinación el grado de acidificación del biodigestor

Con el fin de cuantificar el grado de acidificación del BD y evaluar su influencia sobre la estabilidad del proceso, se estableció la relación entre la materia orgánica solubilizada y los AGV producidos. Esta relación permitió identificar la fracción de materia fácilmente fermentable presente en la fase soluble de la mezcla final (DQO<sub>s</sub>). El cálculo se realizó aplicando la Ecuación 5 de acuerdo con Cerdán et al., (2021):

$$\text{Grado de acidificación} = \frac{DQO_{AGV}}{DQO_s} \times 100 \quad (\text{Ecuación 5})$$

### 2.2.2. Comparación del potencial metanogénico y acidogénico

Para evaluar la eficiencia de conversión de la materia orgánica en metano y AGV, se estimaron los rendimientos metanogénico y acidogénico de cada biodigestor. El rendimiento de conversión a metano se obtuvo aplicando la Ecuación 6:

$$\text{Rendimiento } CH_4 = \frac{DQO_{CH_4}}{DQO_{alimento}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

De esta relación, el  $DQO_{CH_4}$  corresponde a la cantidad de equivalentes de DQO transformados en gas metano, considerando que 1 g  $DQO_{CH_4}$  equivale a 350 mL de  $CH_4$  en condiciones estándar (1 atm, 273 K) y sin contenido de vapor de agua.

De manera análoga, el rendimiento acidogénico se calculó como la proporción de DQO equivalente de AGV generados con respecto a la  $DQO_{alimento}$ , de acuerdo con la Ecuación 7 propuesta por Cerdán et al., (2021):

$$\text{Rendimiento AGV } (\% \text{ w/w}) = \frac{DQO_{AGV}}{DQO_{alimento}} \quad (\text{Ecuación 7})$$

La concentración de AGV en las ecuaciones 5 y 7 se expresó en equivalente de  $DQO_{AGV}$ , calculados a partir de las concentraciones individuales de cada ácido y los factores estequiométricos correspondientes: 1.07 g DQO  $g^{-1}$  de acético, 1.51 g de DQO  $g^{-1}$  de propiónico, 1.82 g DQO  $g^{-1}$  de butírico, 2.04 g DQO  $g^{-1}$  de valérico y 2.20 g DQO  $g^{-1}$  de caproico.

La concentración y composición de AGV de cadena corta, es decir, ácido acético (HAc), ácido propiónico (HPr), ácido butírico (HBu), ácido i-butírico (i-HBu), ácido valérico (HVa), ácido i-valérico (i-HVa) y ácido caproico (HCa) se analizaron mediante cromatografía de gases (Raposo et al., 2013), usando una columna capilar BP21 GC (material de empaque: polietilenglicol) que utiliza como gas de arrastre helio y está acoplada a un detector de ionización de llama.

### 2.2.3. *Ensayos de actividad microbiana en el efluente de los biodigestores*

Con el fin de evaluar el desempeño funcional de biomasa presente en el sistema, se midió semanalmente la AME y la AHE durante cada periodo de retención hidráulica de la mezcla sinérgica. La AME se determinó debido a que la metanogénesis constituye una etapa crítica en el proceso de DA, teniendo en cuenta que las arqueas metanogénicas son sensibles a variaciones en las condiciones operativas y la presencia de compuesto inhibitorios como los AGV. Esta medición permitió obtener información sobre la capacidad del consorcio microbiano para transformar los metabolitos intermedios en metano, así como conocer el desarrollo y adaptación de la biomasa al proceso. El procedimiento experimental se desarrolló según el protocolo experimental descrito por Astals et al., (2015).

Por su parte, la AHE se evaluó para estimar la eficiencia de los microorganismos en la descomposición de la materia orgánica compleja, reconociendo que la hidrólisis puede representar la etapa limitante en la velocidad de la DA. En este caso, el procedimiento experimental se desarrolló según el protocolo experimental descrito por Peces et al., (2018), lo que permitió analizar la evolución de los consorcios microbianos en cada biodigestor y su grado de adaptación a la biodegradabilidad de los sustratos.

## **2.3. RESULTADOS**

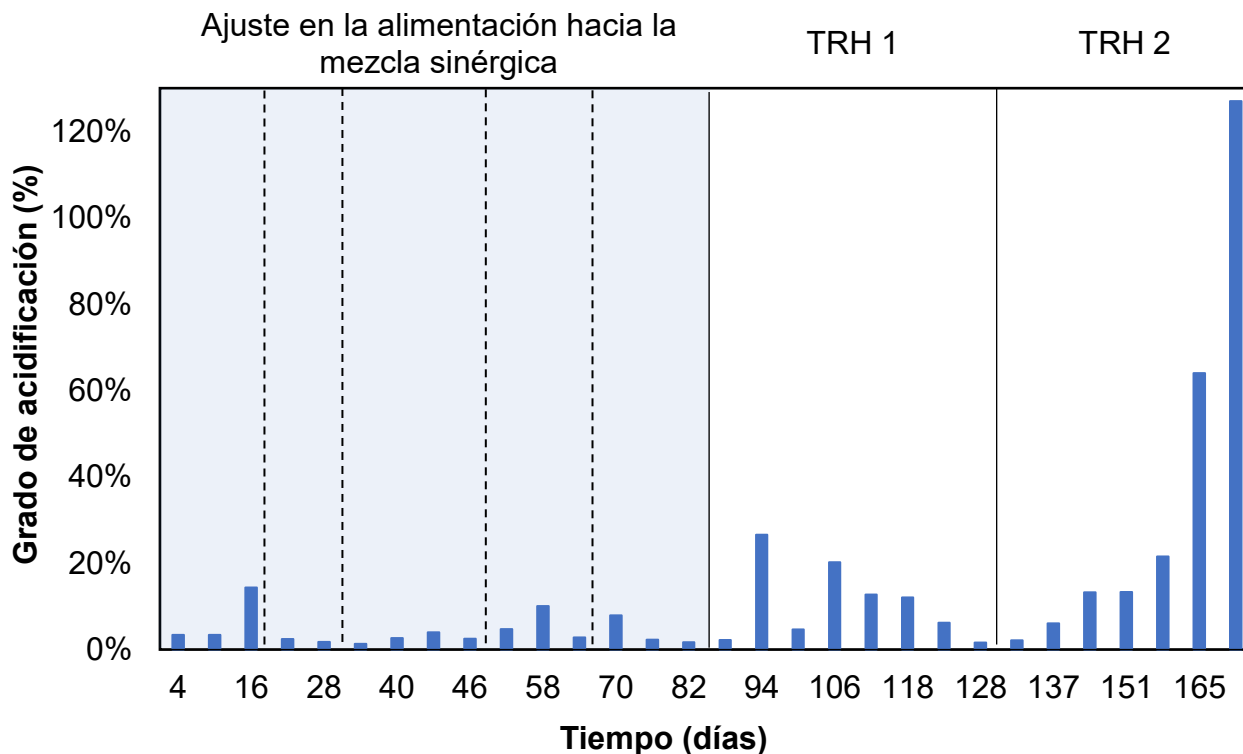
### 2.3.1. *Grado de acidificación del biodigestor*

Durante la etapa acidogénica de la CoDA, los compuestos orgánicos presentes en los residuos de café, principalmente carbohidratos, se descomponen en moléculas más simples como ácidos carboxílicos de cadena corta, comúnmente denominados AGV. El equilibrio entre la fase productora de AGV y su consumo por parte de las arqueas metanogénicas en los BD fue evaluado a partir de la relación entre la concentración de AGV acumulados respecto a la materia orgánica soluble disponible en el sistema, en función del tiempo de operación.

Dada la elevada fracción de compuestos orgánicos fácilmente fermentables presentes en los residuos de café, se considera que tienen un alto potencial para la generación de AGV, lo que incrementa el riesgo de un desbalance en la etapa acidogénica bajo determinadas condiciones de carga orgánica. Por consiguiente, se evaluó el grado de acidificación del bioproceso en la CoDA de residuos de café (P y AM) con EBF, con el objeto de analizar el equilibrio o desbalance entre la producción y acumulación de AGV y su influencia en la estabilidad de la etapa metanogénica.

La **Figura 18**, **Figura 19** y **Figura 20** se presenta la evolución del grado de acidificación en cada biodigestor operado bajo las distintas VCO evaluadas. Por lo tanto, en las gráficas, la ordenada relaciona el grado de acidificación expresado como porcentaje de la materia orgánica soluble transformada en AGV y la abscisa se muestra el tiempo de operación en días.

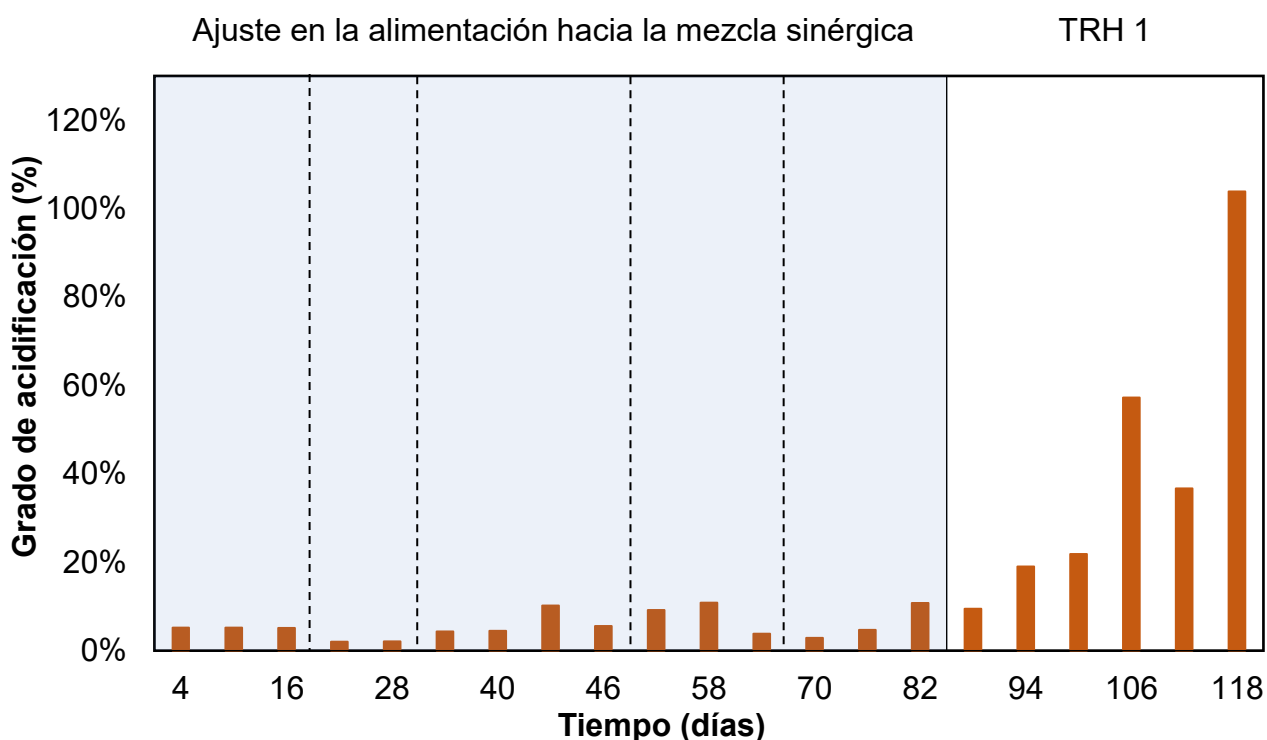
**Figura 18.** Evolución del grado de acidificación del BD operado bajo una VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



El biodigestor BD1 mostró un comportamiento estable durante la etapa inicial del proceso, con un grado de acidificación inferior al 20%. En la **Figura 18** grado de acidificación obtenido durante el cambio de la alimentación de los residuos de café con EBF indica una adecuada cinética entre las etapas de producción y consumo de ácidos. Sin embargo, al operar el biodigestor con la mezcla sinérgica de co-sustratos (66AM:17P:17EB, %SV), es decir, desde el día 88, se evidenció un desequilibrio en el consumo de ácidos con un grado acidificación moderado entre el 20-27% durante el primer TRH. Posteriormente, el grado de acidificación aumentó progresivamente hasta que en el día 165 superó el 50% de conversión de la materia orgánica alimentada a AGV, lo que ocasionó la falla del bioproceso. El incremento de AGV indica que las comunidades microbianas no lograron adaptarse a la composición de los sustratos alimentados y el proceso se desequilibró.

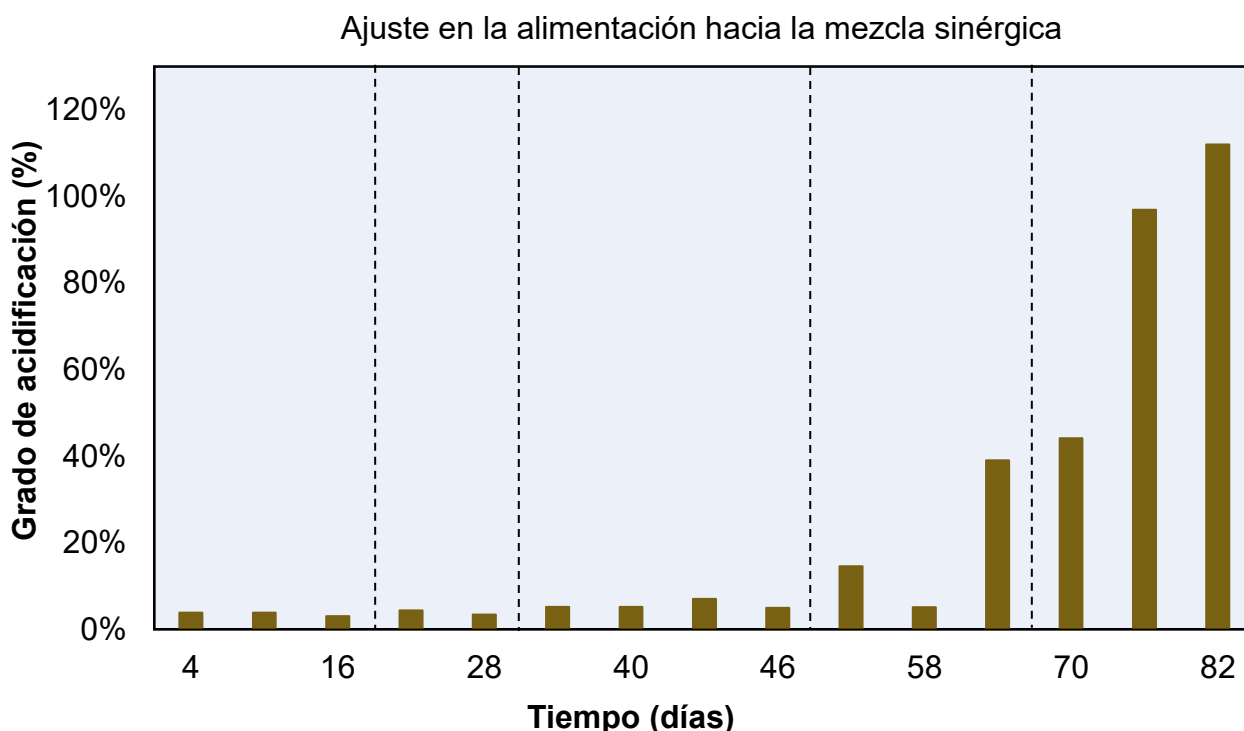
El comportamiento evidenciado en el BD1 coincide con lo reportado por Perimenis et al., (2018), quienes estudiaron el potencial acidogénico de residuos vegetales agroindustriales, y reportaron que el aumento en la conversión acidogénica estaba relacionada al contenido lignocelulósico presente en los sustratos, debido que son más recalcitrantes a la conversión de la materia orgánica. En el presente estudio, la introducción de P y AM de café promovió la acumulación de intermediarios, debido a la complejidad estructural de los residuos que ralentiza la hidrólisis. De manera similar, Mata-Alvarez et al., (2000), reportaron que un factor influyente en la acumulación de AGV e inhibición del proceso está relacionada a cambios en la composición de la materia prima (sustratos) que pueden afectar la eficiencia de degradación de la materia orgánica por parte de las comunidades microbianas. El anterior resultado, es coherente con la pérdida de estabilidad observada en el BD1, donde el cambio de la alimentación provocó un aumento significativo en el grado de acidificación al final del TRH 2.

**Figura 19.** Evolución del grado de acidificación del BD2 operado bajo una VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$



En la **Figura 19** se evidenció que el biodigestor BD2 mostró un comportamiento progresivo en el aumento de la acidificación, que finalmente tuvo un pico máximo en el día 118 de operación. El aumento en el grado de acidificación refleja una mayor fracción de materia orgánica fácilmente fermentable presente en la fase soluble del efluente, lo que indica una sobrecarga del sistema, asociada a que en la VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3}\text{op d}^{-1}$  el TRH fue insuficiente para mantener el equilibrio cinético de la acidogénesis. Aunque las fluctuaciones operativas del sistema en el biodigestor BD2 fueron similares a las observadas en el biodigestor BD1, el sistema mostró una mayor susceptibilidad al riesgo de acidificación hacia el final del proceso. El riesgo latente evidencia que, un aumento en la carga orgánica requiere una vigilancia más rigurosa debido a una menor estabilidad metabólica en comparación con el biodigestor BD1.

**Figura 20.** Evolución del grado de acidificación del BD3 operado bajo una VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



El biodigestor BD3 operado a la mayor VCO, mostró una respuesta crítica a la sobrecarga orgánica aplicada. El grado de acidificación aumentó considerablemente con la incorporación de las AM en la alimentación, ocasionando un incremento superior al 100% de acidificación en el día 76. Por lo tanto, no fue posible operar con la mezcla sinérgica de co-sustratos debido a la acidificación temprana y severa. En la **Figura 20** se demuestra que la alta concentración de compuestos solubles fácilmente fermentables presentes en los residuos de café, excedieron la capacidad del bioproceso para transformar la materia orgánica en biogás. El TRH de 22 días y la elevada disponibilidad de biomasa generó un ambiente ácido y desfavorable para la CoDA, provocando la producción acelerada de AGV. Los resultados obtenidos se corroboran con lo reportado en la literatura, debido a que una alta VCO sin ajustes en el TRH conduce a la rápida acumulación de AGV y posteriormente el fallo del bioproceso (Jaimes-Estévez et al., 2020).

Los resultados obtenidos demuestran que la naturaleza ácida de los residuos de café (P y AM), tienen un papel importante en la acidificación del proceso durante el

proceso de CoDA. Tanto la P como las AM, caracterizados por su contenido de compuestos fácilmente fermentables, favorecen la rápida producción y acumulación de AGV superando la capacidad metabólica de los consorcios microbianos presentes en la etapa acetogénica. La acumulación de ácidos genera una caída en el pH y eventualmente la desestabilización del proceso. En el biodigestor BD1, donde la VCO fue menor, el proceso mostró una mayor capacidad de consumo de ácidos, permitiendo operar el sistema por un mayor tiempo a pesar de la carga ácida aportada por los co-sustratos. Por el contrario, en el biodigestor BD3, la alta concentración de sustratos ácidos provocó una acidificación temprana, comprometiendo la estabilidad del BD. Por su parte, en el biodigestor BD2, la presencia del estiércol bovino permitió el tratamiento de los residuos de café, no obstante, la alimentación continua de compuestos ácidos incrementó el riesgo de acidificación en el BD, que desencadenó el desequilibrio del bioproceso.

### *2.3.2. Relación entre el potencial acidogénico y metanogénico de los co-sustratos*

Cuando se emplean residuos agroindustriales con alto contenido de compuestos fácilmente fermentables, como los residuos de café, es importante conocer la relación entre el potencial acidogénico y metanogénico, debido a que son un indicador de la viabilidad y estabilidad del proceso de co-digestión anaeróbica.

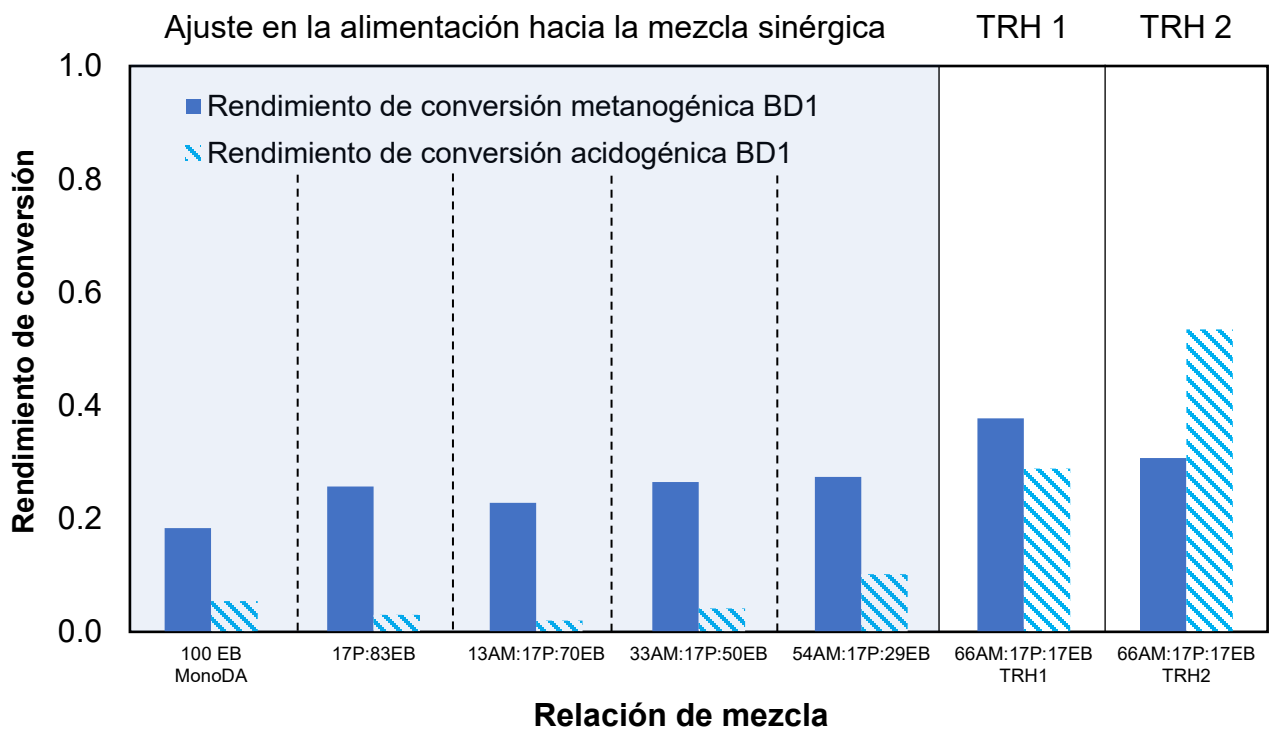
La acumulación de AGV es un indicador temprano del desequilibrio metabólico del bioproceso, debido a que proporciona información sobre la disociación funcional de las etapas de acidogénesis y metanogénesis. En este estudio, la rápida conversión de la materia orgánica soluble en AGV indicó una actividad acelerada por parte de los consorcios microbianos conformados por bacterias fermentativas; mientras que la acumulación de los metabolitos producidos durante la acidogénesis evidencia una limitación en la capacidad de las arqueas metanogénicas para consumir dichos ácidos y producir metano.

En este contexto, el potencial acidogénico y el potencial metanogénico está estrechamente relacionados, debido a que compiten por la misma fracción de

materia orgánica soluble. Así, el incremento en el rendimiento de conversión acidogénica coincide con la reducción del rendimiento de conversión metanogénica.

Por lo tanto, en la **Figura 21** **Figura 22** y **Figura 23** se presenta la comparación entre el rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica, de acuerdo con las ecuaciones 6 y 7, para caracterizar el estado funcional y el nivel de estabilidad metabólica bajo las distintas VCO evaluadas. En las gráficas, el eje de la ordenada representa la fracción de DQO transformada en metano o acumulada como AGV respecto a la fracción de DQO alimentada, mientras que en el eje de la abscisa se muestra cada una de las relaciones de mezcla evaluadas durante el tiempo de operación de los biodigestores.

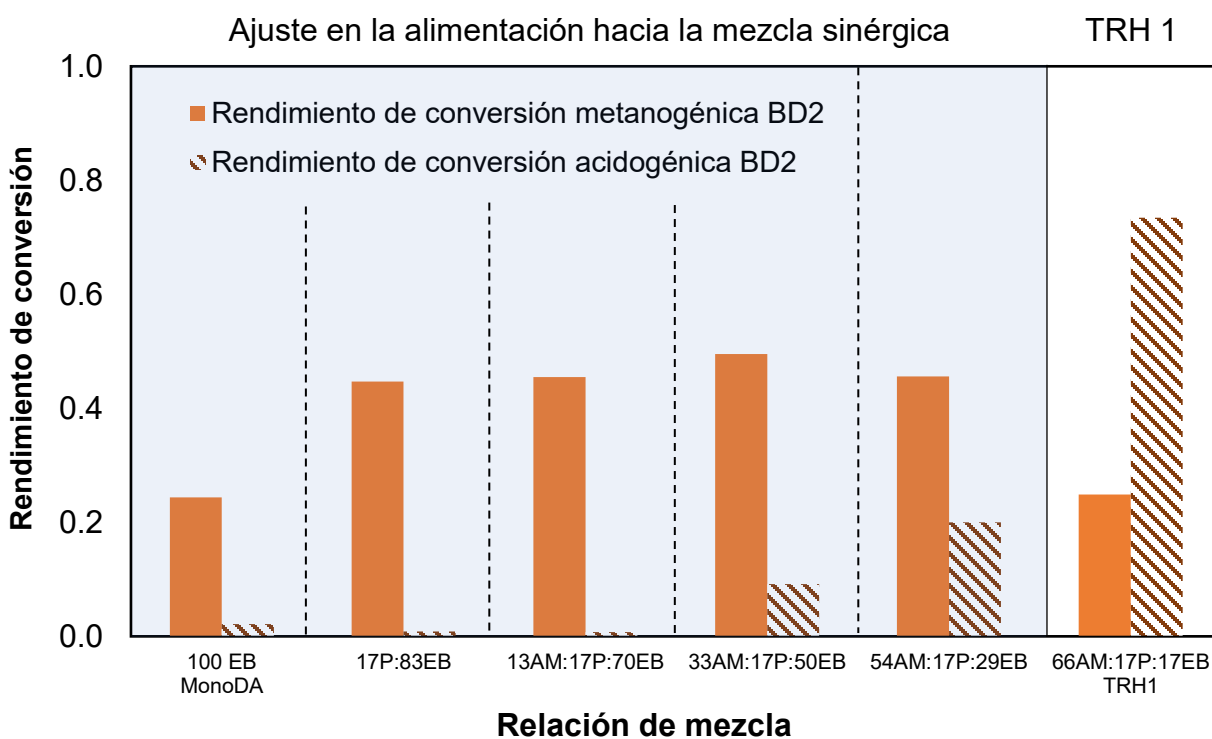
**Figura 21.** Rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del biodigestor operado bajo una VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En el biodigestor BD1 se observó un evolución favorable tanto en el rendimiento de conversión metanogénica como acidogénica. Durante las primeras relaciones de mezclas el rendimiento metanogénico superó considerablemente al rendimiento

acidogénico, indicando una conversión eficiente de los AGV a metano. Lo que indica que la estabilidad del proceso estuvo influenciada por el contenido de EBF en la alimentación y que predominó al inicio de la operación del bioproceso. Sin embargo, al aumentar la proporción de AM en el afluente, el rendimiento acidogénico incrementó considerablemente superando al rendimiento metanogénico en un 71% en el TRH 2. Los resultados evidenciaron un desequilibrio metabólico progresivo, debido a que la producción de AGV sobrepasó la capacidad de las arqueas metanogénicas para su conversión, demostrando un creciente riesgo de acidificación. Los rendimientos de conversión acidogénica son comparables a los reportados en la literatura para sustratos similares. Traverso et al., (2000) reportaron una conversión de  $DQO_{AGV}$  de aproximadamente 24% para residuos vegetales mixtos, valor similar al alcanzado durante la fase de cambio de alimentación en el BD1. Por su parte, Shen et al., (2014) reportaron valores de rendimiento acidogénico superior al 55% utilizando melaza como sustrato. La melaza de caña es un residuo generado a partir de la fabricación de azúcar que tiene un contenido de carbono de 73.2%, comparable con el contenido de carbono presente en la P y AM del 49.2% y 50.5%, respectivamente. El comportamiento reportado en la literatura es consistente con el obtenido en el segundo TRH, donde se evidenció una elevada conversión acidogénica.

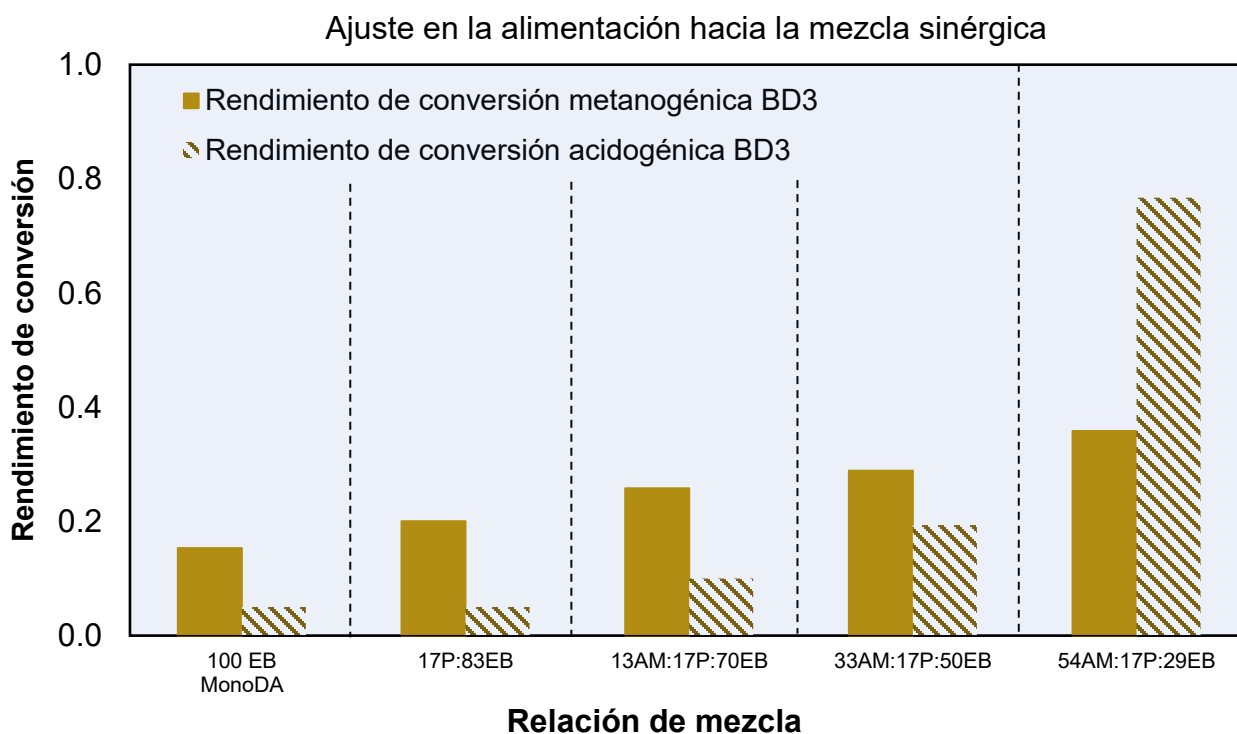
**Figura 22.** Rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del biodigestor operado bajo una VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



El biodigestor BD2 mostró un comportamiento similar al presentado en el biodigestor BD1. En la **Figura 22** se observa que al inicio de la operación del proceso de CoDA el comportamiento fue equilibrado y mantuvo altos rendimiento de conversión metanogénica. Sin embargo, el incremento en la proporción de AM coincidió con el aumento progresivo del rendimiento de conversión acidogénico, acompañado de una caída abrupta del rendimiento metanogénico. Durante la operación con la mezcla sinérgica de co-sustratos durante el primer TRH, el sistema experimentó una acumulación excesiva de AGV que superó la capacidad de consumo por parte de la biomasa microbiana, reflejando la inestabilidad del bioproceso y en consecuencia una baja tasa de producción de metano. Los resultados obtenidos son comparable con los reportados por Sosa-Hernández et al., (2016), respecto al rendimiento de conversión metanogénica. Los investigadores evidenciaron un rendimiento de conversión de DQO de sustrato a metano del 24%, utilizando como sustrato levadura agotada. El resultado obtenido anteriormente, es considerablemente

menor respecto al rendimiento obtenido en este estudio del 45%. Con relación al rendimiento de conversión acidogénica, Espinoza-Escalante et al., (2008), reportaron un rendimiento de conversión de  $DQO_{AGV}$  del 16% utilizando vinazas de tequila, inferior al obtenido en este estudio. En general, las variaciones en el rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del presente estudio, respecto a lo reportado en la literatura, se atribuyen a la sobrecarga orgánica que provoca la inhibición del proceso y la acumulación de intermediarios volátiles.

**Figura 23.** Rendimiento de conversión metanogénica y acidogénica del biodigestor operado bajo una VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En el biodigestor BD3 se presentó un bajo rendimiento metanogénico para todas las relaciones de mezcla evaluadas comparado con el comportamiento de los biodigestores BD1 y BD2. Además, se evidenció un incremento progresivo en el rendimiento acidogénico en el biodigestor BD3 atribuido a la sobrecarga en la concentración del sustrato. En la relación de mezcla 54AM:17P:29EB (%SV), el rendimiento acidogénico incrementó a un 114%, demostrando la dominancia de la etapa acidogénica, donde la acumulación de AGV generó un ambiente ácido que

incidió sobre la estabilidad del bioproceso. Perimenis et al., (2018) evaluaron el potencial acidogénico de residuos alimentarios con una concentración de 22 g DQO L<sup>-1</sup> en el afluente, similar a la implementada en este estudio y obtuvieron rangos de rendimiento acidogénico de aproximadamente 56%, evidenciando que cuando el proceso de DA se detiene en la etapa acidogénica, la conversión del sustrato en AGV se limita en cierto punto del proceso debido al efecto propio de la inhibición acidogénica.

Por lo anterior, los resultados obtenidos en este estudio reflejan el alto potencial acidogénico de los residuos de café, especialmente las AM, debido a que su contenido de materia orgánica fácilmente fermentable contribuye al desequilibrio en la etapa acidogénica que propicia la acumulación excesiva de AGV. La literatura señala que los sustratos con una alta fracción soluble aceleran la acidogénesis y desencadena inhibición del proceso cuando no se tratan adecuadamente (Mata-Alvarez et al., 2014).

Reportes previos sobre el tratamiento de residuos de orgánicos con alta carga soluble son consistentes con el patrón observado en este estudio para la CoDA de residuos de café. Por lo tanto, con relación a lo señalado por Mendieta et al., (2020), quienes enfatizaron la importancia de las estrategias de dilución y co-digestión para mitigar la acidificación en sistemas con sustratos altamente fermentables, la CoDA fue implementada en el presente estudio bajo condiciones de operación semicontinua. De igual forma, según lo reportado por Mata-Alvarez et al., (2014), el balance entre la producción y consumo de AGV es un factor clave de estabilidad durante el proceso de DA. Además, cuando un parámetro operativo como el TRH no se ajusta adecuadamente, puede inducir la inhibición metanogénica. Es por ello, que los resultados obtenidos en el biodigestor BD3 reflejan un escenario típico de sobrecarga del sistema, debido a que la alta proporción de AM alimentada al proceso generaron un ambiente ácido desfavorable para las comunidades microbianas típicas de la DA.

Los anteriores resultados ratifican que la naturaleza ácida de los residuos de café representa un desafío importante que influye en la estabilidad del proceso de CoDA

bajo operación semicontinua. Además, demuestran que los efectos sinérgicos positivos obtenidos por Guerrero et al., (2023) en operación discontinua (*batch*) no reflejan la viabilidad de la CoDA en operación semicontinua. La comparación con la literatura valida la importancia de monitorear los rendimientos acidogénico y metanogénico como indicadores tempranos del desequilibrio del bioproceso.

### 2.3.3. *Evaluación funcional de los consorcios microbianos mediante la actividad metanogénica e hidrolítica*

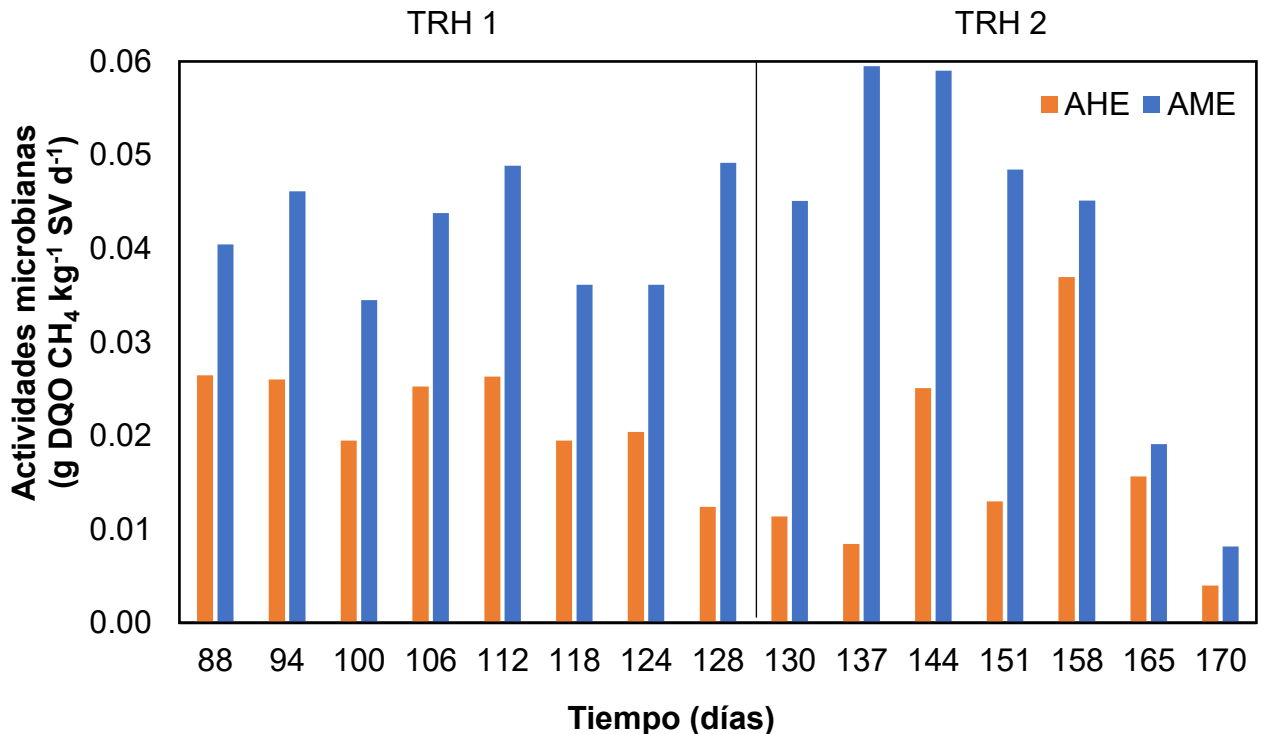
Tanto el bajo pH como la elevada producción de AGV inciden directamente en la respuesta de los microorganismos en el proceso de DA. Por lo tanto, la evaluación del desempeño de los consorcios microbianos mediante la AME y la AHE permiten observar la adaptabilidad de los microorganismos ante las variaciones en la composición de los sustratos y la VCO.

Los ensayos de actividades se realizaron durante el monitoreo de la mezcla sinérgica (66AM:17P:17EB, %SV) en los periodos de retención hidráulica (TRH 1 y TRH 2). Por lo tanto, la **Figura 24** y **Figura 25**, se muestra la evolución de la eficiencia biológica de los biodigestores BD1 y BD2 mediante parámetros bioquímicos que permiten destacar el equilibrio microbiano en el proceso de DA.

Con relación al biodigestor BD3, no fue posible analizar la AME ni la AHE durante la operación con la mezcla sinérgica de co-sustratos, debido a la inhibición causada en el sistema por la alta carga orgánica, lo que imposibilitó el desarrollo de comunidades microbianas metanogénica que mantuvieran la eficiencia operacional del bioproceso. La **Figura 23** discutida previamente en la sección: *Grado de acidificación del biodigestor*, evidencia la acidificación temprana impidió la adaptación de la biomasa microbiana a la carga ácida aportada por los residuos de café.

En las gráficas (**Figura 24** y **Figura 25**), el eje de las ordenadas representa la actividad microbiana, mientras que en el eje de las abscisas se muestra el tiempo de operación de los BD en días.

**Figura 24.** Evolución de las actividades microbianas en el biodigestor operado bajo una VCO de  $0.50 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$

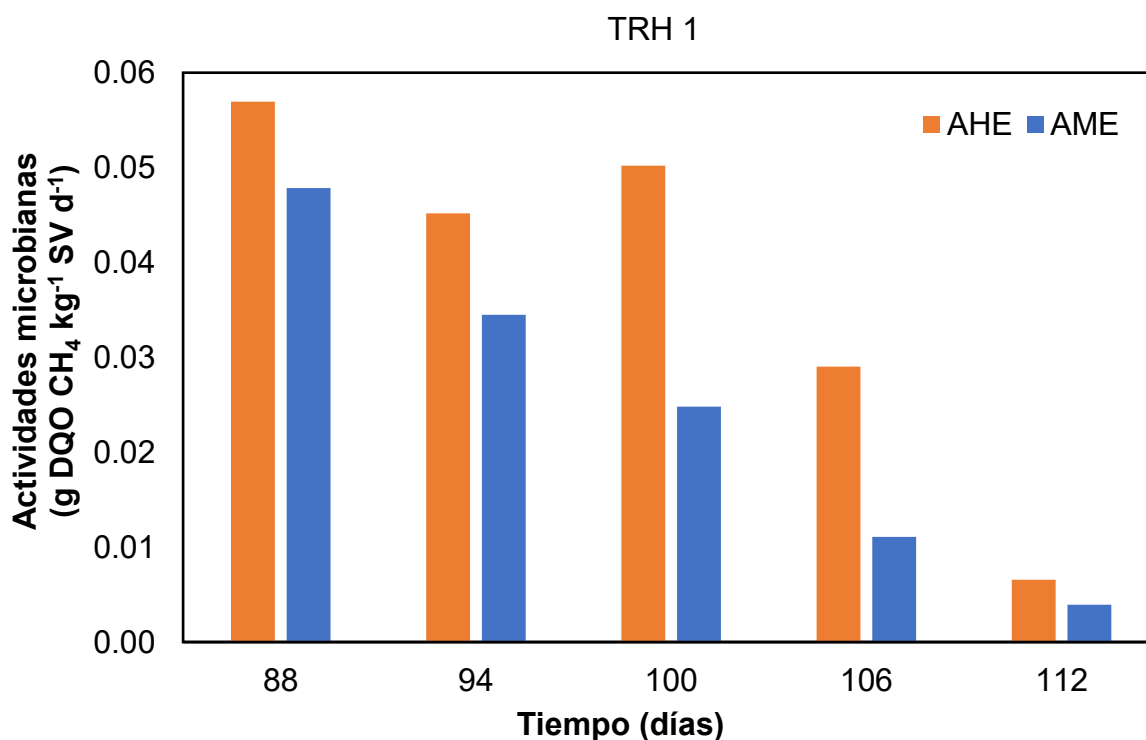


En el biodigestor BD1, durante el primer TRH el consorcio microbiano demostró una respuesta inicial con una AME en el rango de  $0.035\text{-}0.050 \text{ g DQO CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$ , reflejando que la capacidad metanogénica de la biomasa microbiana fue capaz de transformar de manera eficiente los AGV generados. Por su parte, la AHE se mantuvo estable alrededor de  $0.025 \text{ g DQO CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$ , lo que indica que en la primera etapa de la DA hubo una baja hidrólisis de componentes lignocelulósicos presentes en los residuos de café, generando metabolitos necesarios para las etapas posteriores.

Sin embargo, durante el segundo TRH la AME alcanzó valores más altos en comparación el primer TRH (superiores a  $0.050 \text{ g DQO CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$ ) que rápidamente descendieron por debajo del umbral mínimo para AME ( $0.025 \text{ g DQO CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$  en mesofílica) de lodos anaeróbicos saludables (Astals et al., 2015), lo que refleja un deterioro de la actividad microbiana en el BD. Con relación a la AHE, se presentó un comportamiento irregular que varió en el tiempo, sin embargo, estos valores fueron inferiores respecto al primer TRH. El comportamiento de las

actividades evidencia un fenómeno de disociación entre las etapas hidrolítica y metanogénica, lo que indica que, aunque los microorganismos tuvieron la capacidad de mantener altas tasa de conversión a metano, el sistema paulatinamente perdió su equilibrio metabólico y la capacidad de hidrólisis de la fracción orgánica presente en los sustratos. El comportamiento observado en la **Figura 24** es consistente con lo discutido en la literatura por Chen et al. (2008), quienes reportaron que la sobrecarga gradual de AGV (evidenciada en la **Figura 18**) deteriora AME y la capacidad de las arqueas metanogénicas ocasionada por un entorno ácido.

**Figura 25.** Evolución de las actividades microbianas en el biodigestor operado bajo una VCO de  $0.75 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$



El comportamiento del biodigestor BD2 mostrado en la **Figura 25**, evidencia que durante la operación en el primer TRH, tanto la AME como la AHE no tuvo una tendencia clara. Al inicio de la operación, el sistema contaba con valores adecuados para ambas actividades ( $0.056 \text{ g DQO CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$  para la AHE y  $0.048 \text{ g DQO CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$  para la AME), lo que indicó una capacidad activa para transformar la materia orgánica en los intermediarios requeridos para la producción de metano.

No obstante, las actividades disminuyeron considerablemente en función del tiempo, lo que refleja el potencial de inhibición del BD, causado por la acumulación de AGV y el aumento del grado de acidificación previamente discutido. La reducción de la AME es un indicador de la inhibición, teniendo en cuenta que la carga ácida de las AM sobrepasó el límite de adaptación del sistema. El monitoreo de las actividades microbianas es un parámetro importante en la identificación de desequilibrios metabólicos en BD, lo que permite mantener la sostenibilidad a largo plazo (Astals et al., 2015).

Investigaciones como la de Fang et al., (2011) describieron un comportamiento similar con una AME inferior a  $0.10 \text{ g DQO CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$ , indicando la necesidad de realizar ajustes en el TRH como alternativa para restaurar el equilibrio en el BD. Por su parte Castro et al., (2017) reportaron que una alta VCO desencadenaba la acidogénesis rápida, generando fallos irreversibles en el BD debido a que el ambiente ácido evitaba el desarrollo de las arqueas metanogénicas necesarias para la producción de metano.

La AME y AHE demuestran que las condiciones de operación en los biodigestores BD1 y BD2, tiene una funcionalidad parcial en la ruta metabólica del proceso de DA. Lo anterior debido, a una limitación de la biomasa microbiana para adaptarse a la naturaleza de los sustratos alimentados. Aunque el comportamiento de la AHE fue estable, la AME tuvo una disminución progresiva, lo que está relacionado con la acumulación de ácidos en la etapa acidogénica de la DA. Desde un punto de vista bioquímico, los resultados demuestran que la estabilidad del sistema depende del control acidogénico que influye directamente sobre las poblaciones metanogénicas, lo que constituye un punto crítico en la operación semicontinua de los BD.

## **2.4. CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos evidenciaron que el rendimiento acidogénico superó al metanogénico en todas las condiciones VCO evaluadas.

El mayor desbalance en acidificación se presentó cuando la CoDA se realizó a VCO de  $1.0 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\text{op}\cdot\text{d}^{-1}$ , donde la inhibición se manifestó antes de implementar la mezcla sinérgica de co-sustratos. Lo anterior, implica que el aumento en la VCO por encima de  $0.75 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\text{op}\cdot\text{d}^{-1}$  excede la capacidad de los consorcios microbianos presentes en el sistema de CoDA para el consumo de materia orgánica aportado por los residuos de café (P y AM) con EBF, lo que genera una acumulación excesiva de AGV y en consecuencia la inhibición de la fase metanogénica en el proceso biológico.

Aunque la CoDA de los residuos del café (P y AM) con EBF a VCO de  $0.5 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\text{op}\cdot\text{d}^{-1}$  evidenció una mayor resiliencia operativa la dinámica del proceso con el tiempo mantuvo un riesgo latente de acidificación, evidenciando que incluso las condiciones de velocidad de carga orgánica baja y moderada no garantizaron estabilidad prolongada.

La AME y AHE permitieron corroborar los hallazgos de inestabilidad del proceso de CoDA de residuos del café. Se evidenció disminución de la AME en las etapas avanzadas del proceso, a pesar de registrarse una AHE activa. El anterior resultado confirmó el desequilibrio entre las etapas metabólicas del proceso anaeróbico, reflejado en la acumulación de intermediarios volátiles y la reducción en la conversión eficiente de la materia orgánica hacia metano.

## CAPITULO III

### IDENTIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE INESTABILIDAD QUE CONDUCEN A LA ACIDIFICACIÓN

**Resumen:** En este capítulo se muestra el riesgo de acidificación teniendo en cuenta las condiciones críticas de inestabilidad durante la CoDA de residuos de café con EBF, utilizando un sistema de BD tubulares en operación semicontinua. Por lo anterior, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos: concentración y perfil de AGV, AT y AP, relación acético/propiónico y la composición molar del biogás ( $\text{CH}_4/\text{CO}_2$ ).

En este contexto, los hallazgos confirman que la gestión adecuada de la VCO y la composición de los co-sustratos, junto con el monitoreo del perfil de AGV, es esencial para detectar la acidificación, lo que conlleva a un proceso de CoDA de residuos de café con EBF más estable. Además, los indicadores de alerta temprana (IAT) basados en la desviación estándar relativa (RSD) demostraron ser herramientas útiles para anticipar procesos de inestabilidad en sistemas con VCO moderada, aunque su efectividad disminuyó en condiciones de sobrecarga, donde la rápida acumulación de AGV redujo el margen de respuesta.

**Palabras clave:** acidificación, ácidos grasos volátiles, indicadores de alerta temprana, inhibición metanogénica.

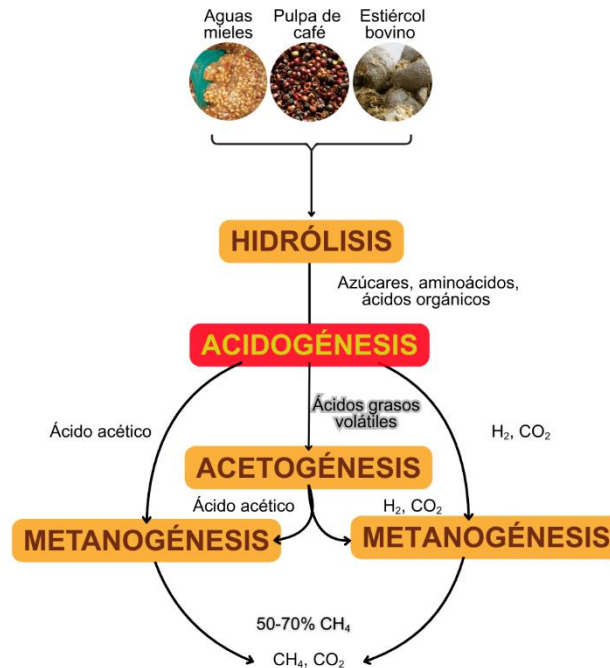
### 3.1. INTRODUCCIÓN

Los residuos agroindustriales del beneficio húmedo del café tienen creciente atención para su gestión debido al potencial de utilizar su fracción orgánica para diferentes aplicaciones energéticas, aportando así valor añadido a todo el proceso del que se generen y de esta forma, cerrar el ciclo de generación de residuos.

Una opción para el tratamiento de residuos agroindustriales es la DA, que es típicamente implementada para la producción de metano (biogás), como sustituto del gas natural (Angelidaki et al., 2011), y un digerido (fase líquida) rica en nutrientes (L. D. P. Castro et al., 2018). La DA es un proceso secuencial de cuatro etapas metabólicas (**Figura 26**): hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, donde el equilibrio entre la etapa acidogénica y metanogénica es esencial para la estabilidad operativa del proceso. Durante la DA diversas comunidades microbianas anaeróbicas intervienen de manera secuencial para convertir la materia orgánica biológicamente en biogás (Angelidaki et al., 2011). En la etapa inicial del proceso (hidrólisis), predominan las *bacterias hidrolíticas* encargadas de degradar los compuestos orgánicos macromoleculares complejos (carbohidratos, lípidos y proteínas) en compuestos orgánicos más simples y solubles. Posteriormente, en las *bacterias acidogénicas* (acidogénesis) transforman los monómeros en AGV, alcoholes y dióxido de carbono, mientras que las *bacterias acetogénicas* (acetogénesis) convierten los AGV de cadena larga en acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, que sirven como precursores de la metanogénesis. En la etapa final, las *arqueas metanogénicas* utilizan el acetato (metanogénesis aceticolástica) o el hidrógeno y dióxido de carbono (metanogénesis hidrogenotrófica) para producir metano (CH<sub>4</sub>) (Cao et al., 2025).

**Figura 26.** Diagrama de flujo del proceso de degradación de la materia orgánica de la co-digestión anaeróbica de residuos de café con estiércol bovino.

Adaptado de Y. Li et al., (2011)



Uno de los principales desafíos de la DA es la acidificación causada por la acumulación excesiva de AGV, debido a que durante la acidogénesis se produce mayoritariamente ácidos orgánicos como acetato, propionato y butirato, lo que provoca el descenso del pH y la inhibición progresiva de la metanogénesis (Perimenis et al., 2018). La condición de inhibición en la DA, surge cuando la VCO supera la capacidad metabólica de los consorcios microbianos o cuando la capacidad tampón no mitiga adecuadamente la acidez producida por los sustratos. En la acidogénesis, la rápida hidrólisis de los carbohidratos solubles favorece la formación de ácido propiónico y butírico, que tiene efecto inhibitorio sobre las arqueas metanogénicas.

Otro factor importante para considerar en la acidificación de la DA es la relación entre el ácido acético y el ácido propiónico como indicador crítico de la inestabilidad del bioproceso, debido a que cuando aumenta por encima de 1.0, se demuestra estrés metabólico debido a que el exceso de ácido propiónico refleja: i) la limitada

conversión de la etapa acetogénica y *ii*) la acumulación de metabolitos secundarios como los ácidos orgánicos (Hill, Cobb, Bolte, et al., 1987).

En el contexto de la CoDA de residuos de café, el tratamiento de estos sustratos tiene una alta fracción de azúcares solubles que potencial el rendimiento acidogénico debido a la degradación asincrónicas de los componentes en el residuo (Gómez-Salcedo et al., 2021). Sin embargo, el uso de estiércol bovino como co-sustrato puede prevenir los riesgos de acidificación y actúa como co-sustrato tampón (Mata-Alvarez et al., 2014).

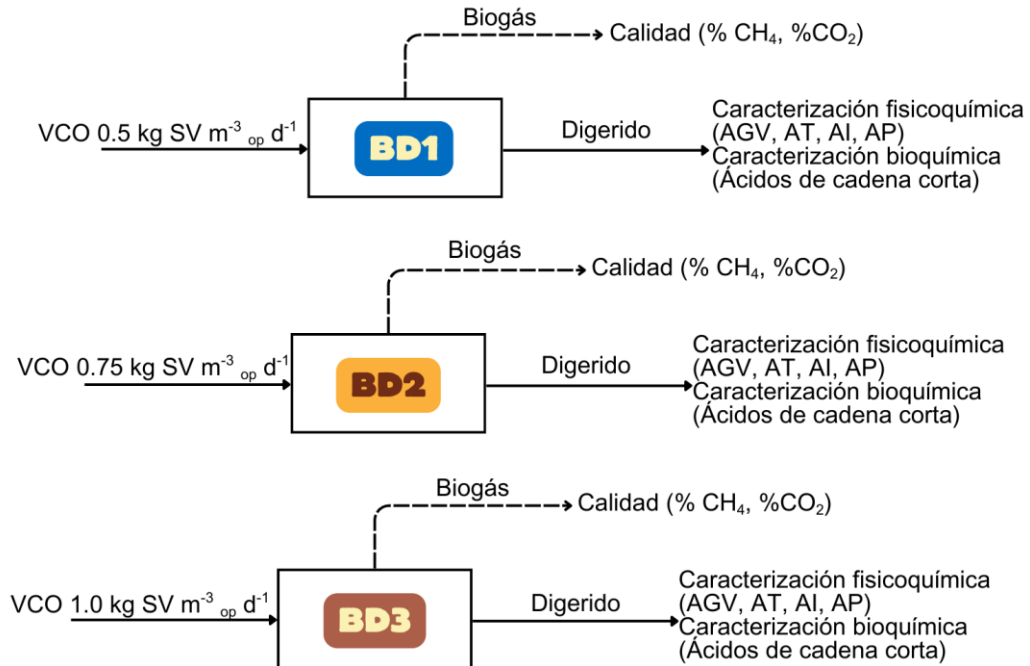
Durante la DA de los residuos de café se promueve la acidogénesis, generando concentraciones excesivas de AGV que desestabilizan el pH y en consecuencia, alteran la relación  $CH_4/CO_2$  en el biogás cayendo por debajo de 0.5, lo que indica una metanogénesis inhibida y con una mayor contribución de  $CO_2$  debido a una fermentación incompleta (Fang et al., 2011). Las anteriores condiciones comprometen la eficiencia del proceso debido a que favorecen el crecimiento de las bacterias acidogénicas sobre el de las arqueas metanogénicas.

La literatura reporta que el estudio del perfil de AGV, las alcalinidades total (AT), parcial (AP) e intermedia (AI) y el contenido de metano en el biogás, permite identificar las condiciones tempranas de inestabilidad y detectar límites de VCO del proceso anaeróbico para la operación en semicontinuo (Widjaja et al., 2019).

Por lo tanto, este capítulo se centra en la identificación de las condiciones de inestabilidad que conducen a la acidificación del proceso de co-digestión de residuos de café (P y AM) con EBF, analizando el impacto de la VCO y las mezclas de sustratos sobre los indicadores fisicoquímicos estudiados (AGV, pH, AI/AP, relación acético/propiónico,  $CH_4/CO_2$ ).

### 3.2. METODOLOGÍA

**Figura 27.** Esquema metodológico para la identificación de condiciones de inestabilidad en la co-digestión de residuos de café



#### 3.2.1. Condiciones de inestabilidad de la CoDA de residuos de café con EBF a partir de los indicadores de alerta temprana

Se evaluó el proceso de CoDA mediante IAT para la detección de fallas en el bioproceso por acidificación. Los IAT permiten identificar inestabilidad del proceso antes de que ocurriera la falla crítica en el sistema. Los IAT que se evaluaron fueron: concentración de AGV, AT, AP, Al, así como las relaciones AGV/AT, Al/AP y el contenido de metano en el biogás (Miramontes-Martínez et al., 2023).

Para determinar el día de la falla del proceso se utilizaron como criterios el contenido de AGV totales superior a  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  y el contenido de  $\text{CH}_4$  menor a 45% (Angelidaki et al., 2005). Una variación superior al 20% respecto a la semana anterior será considerada como una señal de alerta.

### 3.2.2. *Determinación de las concentraciones de ácidos críticos para la inhibición*

Se determinaron las concentraciones críticas de los ácidos de cadena corta que conducen a la inhibición de la metanogénesis y al estrés microbiano siguiendo la metodología descrita en la sección 2.2.2. Teniendo en cuenta que, la relación  $HPr/HAc > 1.4$  y el nivel de acetato  $> 800 \text{ mg L}^{-1}$ , los cuales son considerados como un indicador de falla inminente en los biodigestores anaeróbicos (Hill, Cobb, Bolte, et al., 1987). Además, las proporciones de los AGV de cadena ramificada como *i-Hbu* o *i-HVa* presentes en concentraciones entre  $5-15 \text{ mg L}^{-1}$  en el efluente, generan en el biodigestor disminución de la calidad y cantidad de biogás y espuma en el efluente (Hill & Bolte, 1989).

## 3.3. RESULTADOS

### 3.3.1. *Identificación de la acidificación de la CoDA de residuos de café con EBF mediante IAT*

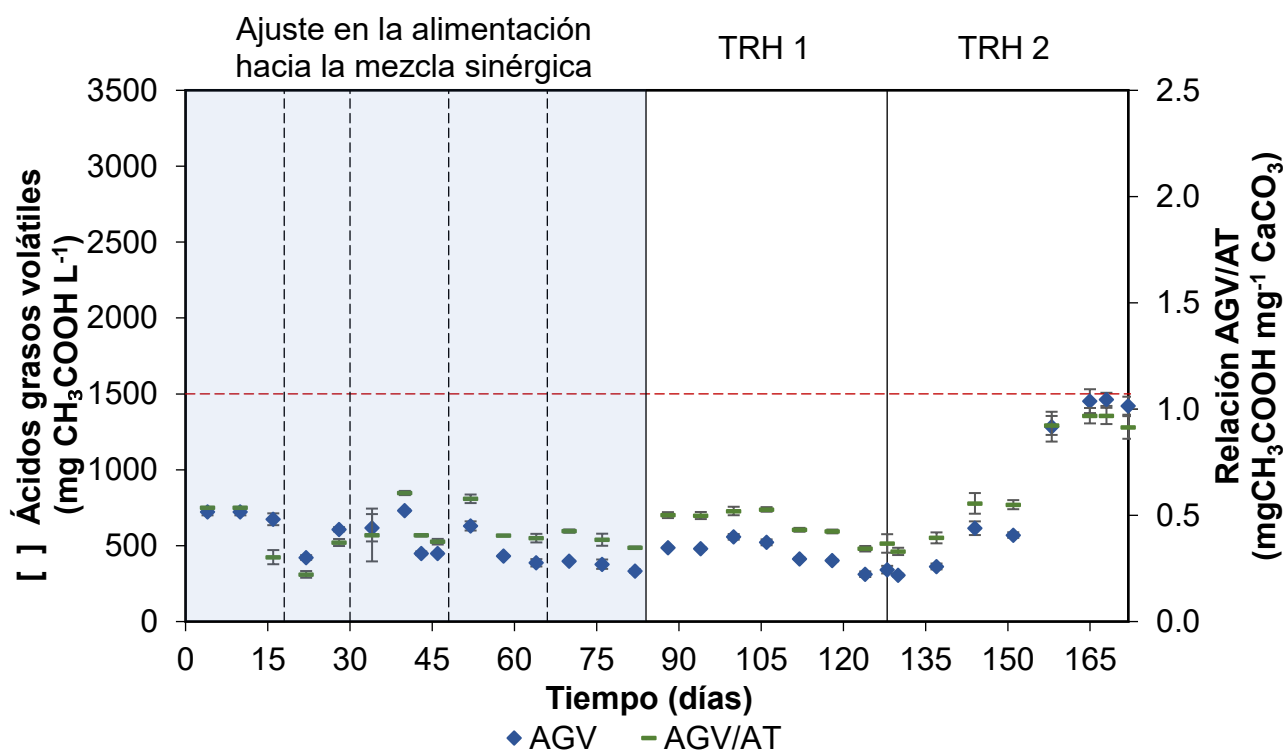
#### 3.3.1.1. *Evolución de los AGV y de capacidad buffer durante la co-digestión de residuos de café con EBF*

Durante la operación de los tres biodigestores se implementó un monitoreo periódico de parámetros fisicoquímicos para evaluar la estabilidad del proceso de DA. Por lo tanto, se evaluó la estabilidad del bioproceso a través del análisis de la concentración de AGV y la relación AGV/AT, los cuales permitieron evaluar el equilibrio metabólico entre las etapas acidogénica y metanogénica de la CoDA de residuos de café con estiércol bovino.

La relación AGV/AT se utilizó como indicador de la capacidad buffer del bioproceso, representada por la cantidad de ácidos que el lodo efluente neutralizó sin alterar el pH. De acuerdo con la literatura, valores inferiores a 0.3-0.4 indican una operación estable, mientras que valores superiores a 0.8 indican riesgo elevado de acidificación (Shahriari et al., 2013).

Bajo estos criterios, los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 28**, **Figura 29** y **Figura 30**, donde se presenta la evolución temporal del proceso de CoDA mediante: *i*) la concentración de AGV expresada como mg equivalentes de ácido acético y *ii*) la relación AGV/AT, comúnmente denominada capacidad buffer. En el eje de las abscisas se presenta el tiempo de operación en días, mientras que, en el eje de las ordenadas izquierda, se presenta la concentración de AGV y en el eje de las ordenadas derecha, se representa la relación AGV/AT. Adicionalmente, en cada una de las figuras se incluyó una línea discontinua roja la cual señala el límite de inhibición asociado a la acumulación de ácidos grasos volátiles, permitiendo identificar visualmente los periodos en los que el sistema se aproximó o superó dicho umbral.

**Figura 28.** Evolución de los AGV y de la relación AGV/AT en el biodigestor operado con una VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



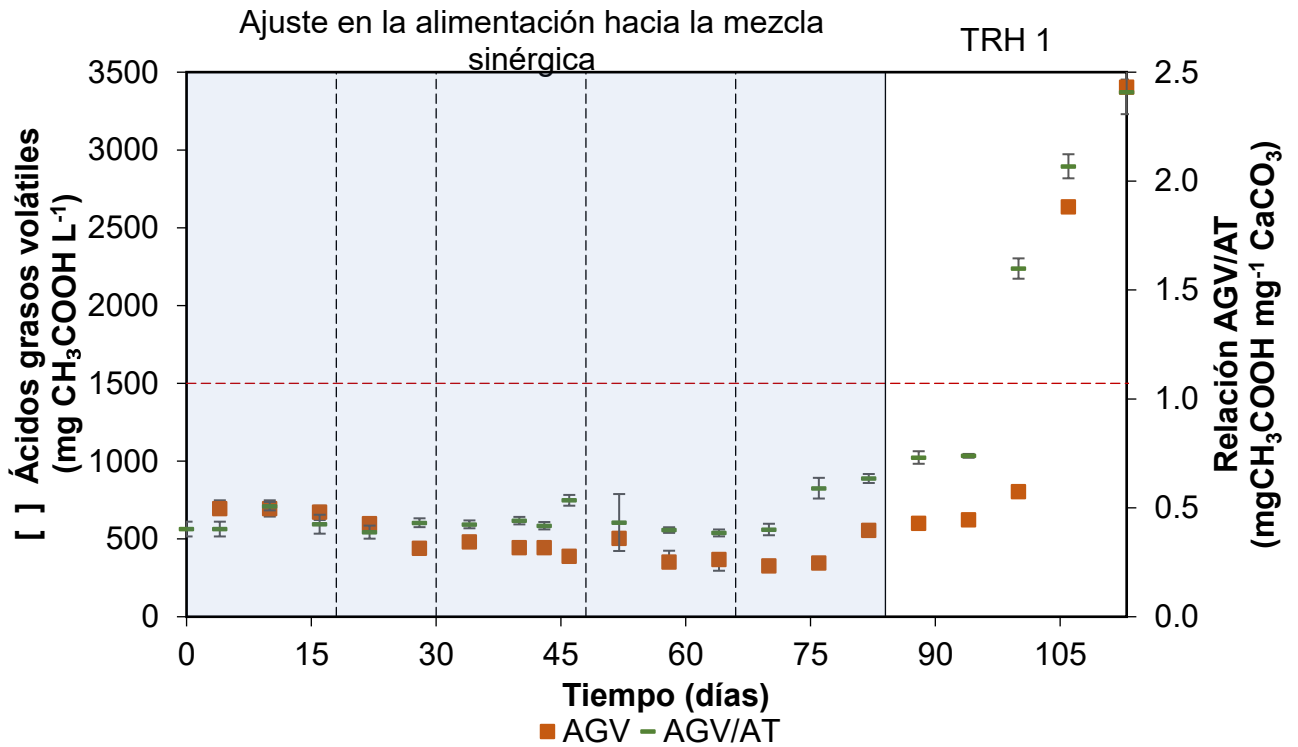
En la **Figura 28** la tendencia muestra leves variaciones en etapa de cambio de alimentación. En el biodigestor BD1 (operado con la VCO más baja), durante el TRH 1 se evidenció una operación estable entre los días 84 al 128, puesto que tanto la

concentración de AGV como la relación AGV/AT no superó el límite de inestabilidad. Sin embargo, durante la operación en el TRH 2, se presentó un crecimiento abrupto en la concentración de AGV que señala un desequilibrio en proceso anaeróbico. Operar el BD con la VCO más baja, tuvo un comportamiento resiliente a la acidificación debido a la acción alcalina aportada por el EBF, que actuó como un amortiguador en el proceso, lo cual se refleja en la capacidad buffer del proceso que limita la acumulación de ácidos como el propiónico y el butírico (Søndergaard et al., 2015).

En el biodigestor BD1, el perfil de AGV indicó estabilidad metabólica durante la fase de transición de los co-sustratos, desde la monodigestión de EBF hasta la CoDA terciaria de la mezcla sinérgica de co-sustratos, evidenciado en concentraciones promedio de AGV de 800-900 mg L<sup>-1</sup> y AGV/AT de 0.42 mg CH<sub>3</sub>COOH mg<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>. La tendencia de los IAT refleja una fase estacionaria durante los primeros 120 días de operación, debido a un equilibrio trófico entre la acidogénesis y la acetogénesis.

La operación en el TRH 1 con la mezcla sinérgica, el biodigestor BD1 se mantuvo estable en rangos adecuados tanto para AGV (439.5 mg CH<sub>3</sub>COOH L<sup>-1</sup>) como para capacidad buffer (0.45 mg CH<sub>3</sub>COOH mg<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>). No obstante, durante el TRH 2, se registró un ascenso tanto en la concentración de AGV como en la relación AGV/AT. El incremento de la relación AGV/AT fue mayor a 0.8, lo que refleja una transición hacia el desequilibrio del bioproceso. La literatura informa que mantener una alcalinidad alta evita la acidificación del BD anaeróbico (Cai et al., 2021).

**Figura 29.** Evolución de los AGV y de la relación AGV/AT en el biodigestor operado con una VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$

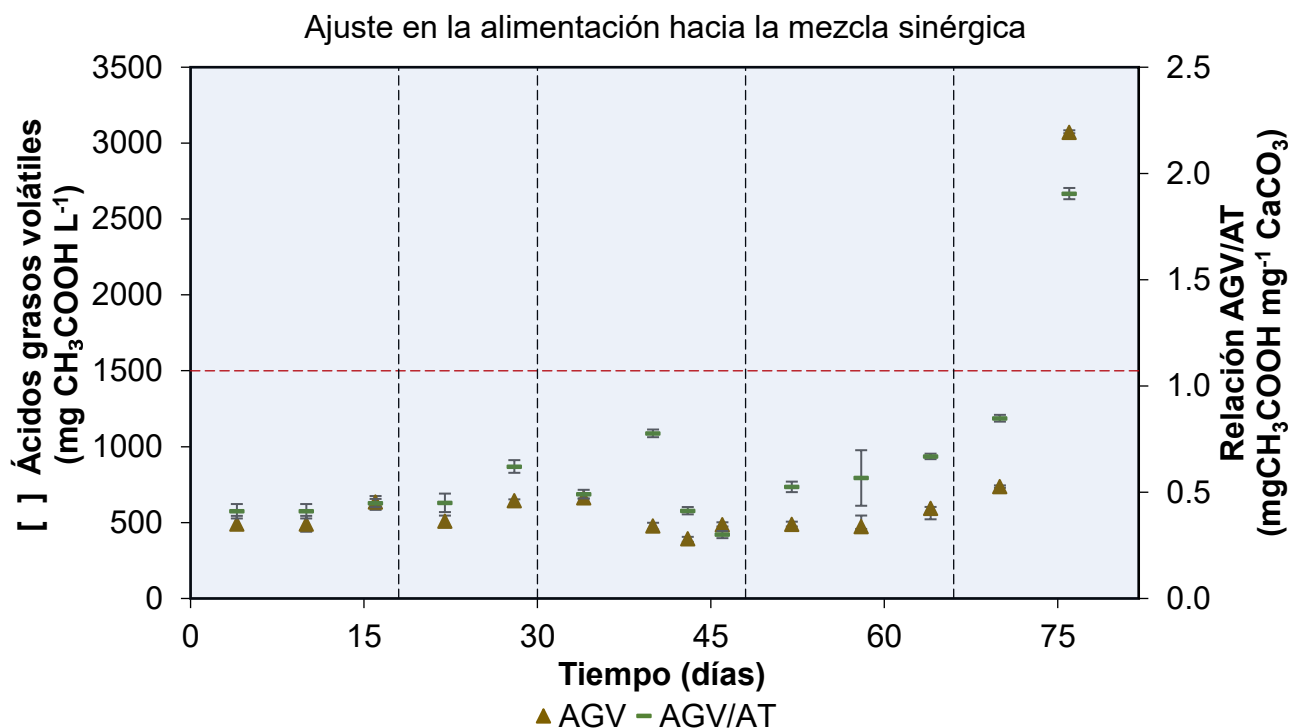


En la **Figura 29** se presenta el comportamiento biodigestor BD2, que fue similar al reportado en el BD1 durante la fase de cambio de alimentación de los co-sustratos, es decir, durante los primeros 84 días. No obstante, durante la operación con la mezcla sinérgica en el TRH, es decir, a partir del día 84, se evidenció inestabilidad en el bioproceso como consecuencia de una acumulación exponencial de AGV, alcanzando una concentración de  $2636 \text{ mg CH}_3\text{COOH L}^{-1}$  en el día 106 de operación. Los IAT evaluados en el BD excedieron los umbrales críticos para sistemas en operación semicontinua con valores de  $3404 \text{ mg CH}_3\text{COOH L}^{-1}$  y  $2.07 \text{ mg CH}_3\text{COOH mg}^{-1} \text{ CaCO}_3$  al final del TRH 1, lo que requirió interrumpir la operación del biodigestor.

La elevada producción de AGV en el biodigestor BD2 ilustra un desbalance trófico entre la producción de ácidos y su consumo para la producción de metano, lo que inhibe el proceso de DA. La inestabilidad presentada se alinea con lo reportado por Appels et al., (2008), quien informó que una sobrecarga orgánica aumenta la

producción de AGV que puede ser tóxica para los microorganismos, especialmente los metanogénicos.

**Figura 30.** Evolución de los AGV y de la relación AGV/AT en el biodigestor operado con una VCO de  $1.0 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



El biodigestor BD3 presentó inestabilidad desde la fase inicial de operación como se evidencia en la **Figura 30**. La tendencia del biodigestor BD3 mostró un aumento progresivo en la concentración de AGV debido a la sobrecarga orgánica que favoreció la hidrólisis rápida de las fracciones solubles presentes en las AM, lo que generó intermediarios inhibidores que redujeron la metanogénesis. En cuanto a la relación AGV/AT, aumentó desde 0.4 hasta  $2.16 \text{ mg CH}_3\text{COOH mg}^{-1} \text{ CaCO}_3$  al final del monitoreo de la relación de mezcla 54AM:17P:29EB (%SV) correspondiente a la operación entre los días 66 a 82, por lo tanto, fue necesario detener la operación en el biodigestor debido a la inhibición del proceso que imposibilitó la etapa metanogénica.

Lo anterior, permite evidenciar que los perfiles de concentración AGV mostrados en la **Figura 28**, **Figura 29** y **Figura 30** establecen una relación directa entre la VCO y la acidificación del bioproceso. En el biodigestor BD1, la tendencia de producción de ácidos es lineal con una resiliencia de hasta el 60% de tratamiento de las fracciones solubles presentes en los co-sustratos, principalmente aportados por las AM. Por su parte, en el biodigestor BD2, la acumulación exponencial de AGV indica una transición crítica en el consumo de ácidos y finalmente, en el biodigestor BD3, la sobrecarga orgánica ocasiona un desequilibrio trófico en las etapas metabólicas del proceso de digestión confirmando el colapso del bioproceso.

Los resultados obtenidos son comparables con los indicadores reportados en la literatura para procesos de DA. El alto contenido de fracciones solubles en los sustratos genera umbrales críticos de AGV ( $< 1500 \text{ mg CH}_3\text{COOH L}^{-1}$ , de acuerdo con Fang et al., 2011) que requieren ajuste cuando se tratan residuos de café, debido a que el límite de toxicidad es rápidamente superado por la excesiva producción de ácidos.

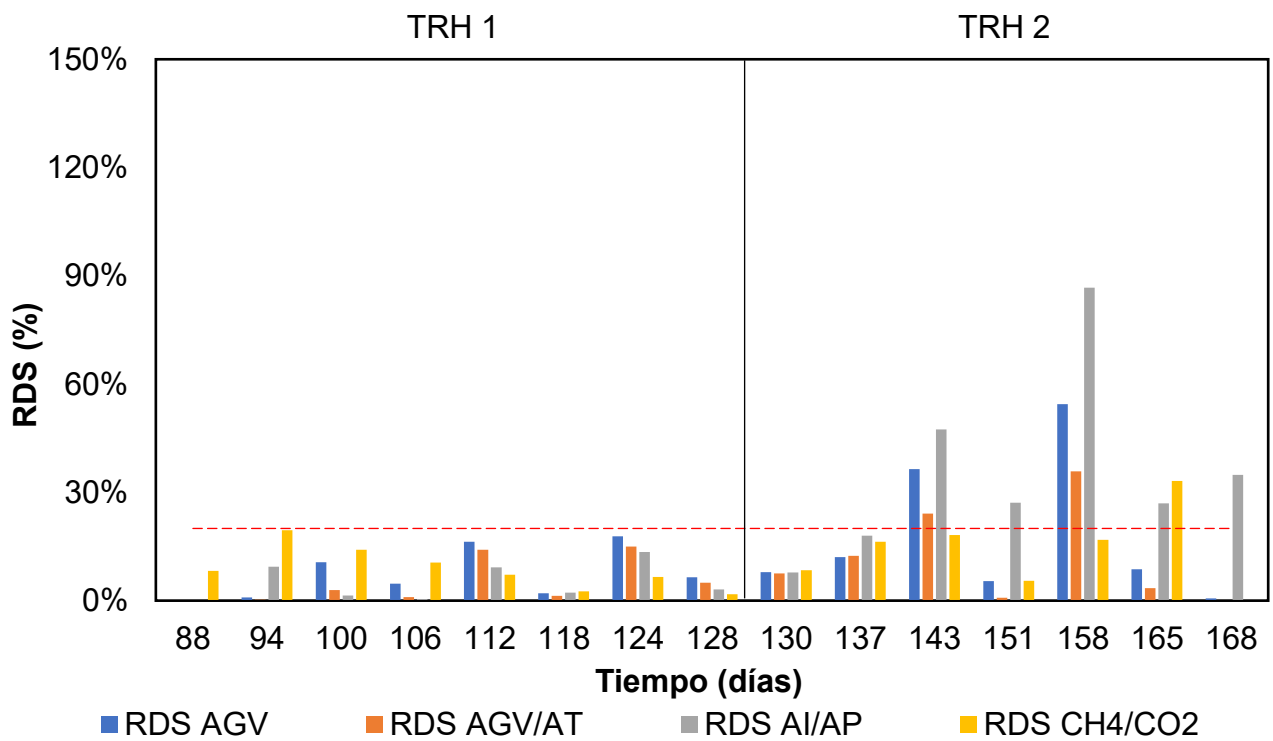
#### 3.3.1.2. *Capacidad predictiva de falla de los indicadores de alerta temprana*

Basados en los perfiles de concentración de AGV y la relación AGV/AT, se implementó como herramienta estadística la desviación estándar relativa (RDS, por sus siglas en inglés) para identificar la inestabilidad en el bioproceso. También se incluyó el análisis de parámetros como la relación de alcalinidades (AI/AP), que refleja la generación de ácidos orgánico (Miramontes-Martínez et al., 2023) y la relación  $\text{CH}_4/\text{CO}_2$ , debido a que cuando ocurre la acidificación en procesos de DA, el contenido de  $\text{CO}_2$  aumenta respecto al contenido de  $\text{CH}_4$  (D. Li, Chen, et al., 2017).

En la **Figura 31** y **Figura 32** se presenta la RDS para distintos IAT durante la co-digestión de la mezcla sinérgica de residuos de café con estiércol bovino en los biodigestores BD1 y BD2. Estos indicadores se utilizaron para evaluar la capacidad predictiva de fallas en la CoDA de residuos de café considerando como umbral crítico una RDS mayor al 20% (Miramontes-Martínez et al., 2023). El biodigestor

BD3, no fue incluido en el análisis gráfico de los IAT debido a que presentó fallas operativas tempranas que impidieron analizar la operación con la mezcla sinérgica, con una caída drástica en la producción de metano y una acumulación excesiva de AGV durante las primeras fases de alimentación. Sin embargo, en el **Anexo 1** se presentan los indicadores de alerta temprana y los tiempos de alarma para cada BD.

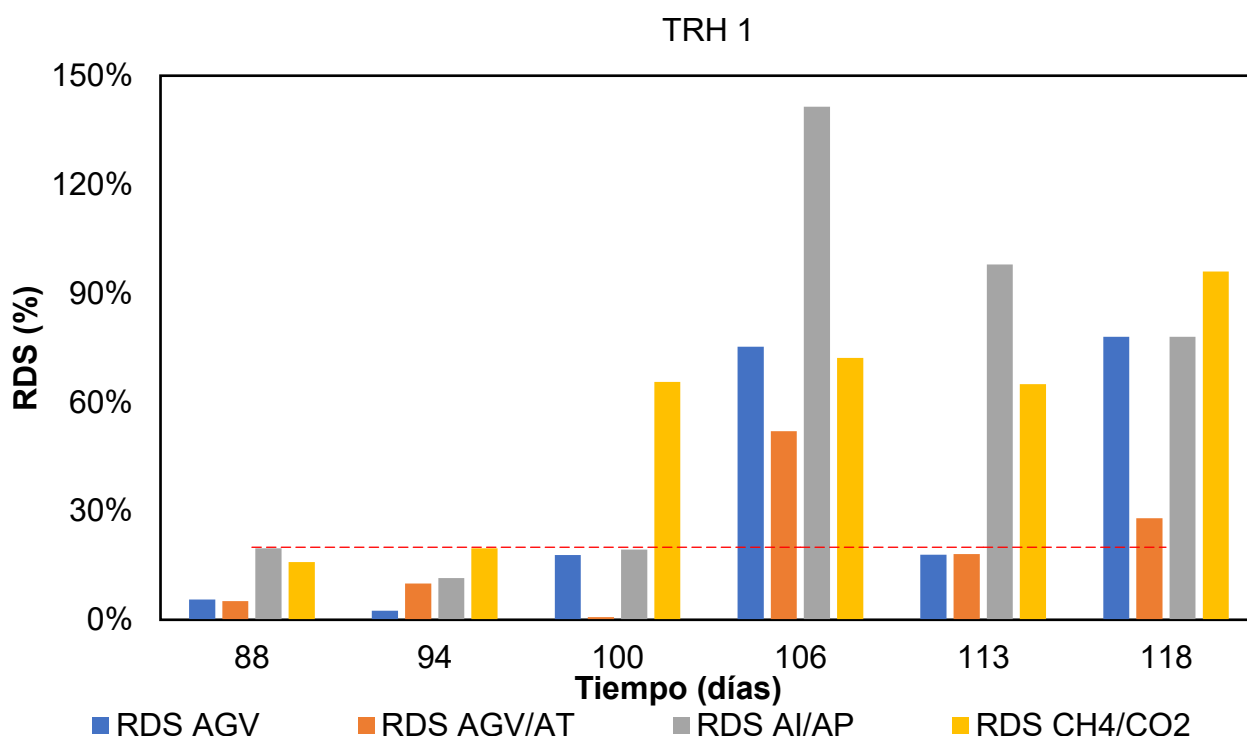
**Figura 31.** Desviación estándar relativa de los IAT evaluados en el biodigestor BD1 operado a VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



Para el biodigestor BD1, los IAT evaluados se mantuvieron por debajo del umbral de inestabilidad durante el TRH 1 como se evidencia en la **Figura 31**. No obstante, durante el TRH 2 se evidenció un aumento progresivo en los IAT, y finalmente en el día 143 hubo un aumento crítico que comprometió la estabilidad del BD. La relación AI/AP fue el indicador con mayor desviación, alcanzando un valor de 141%, lo que indica una alteración en el equilibrio ácido-base del sistema de digestión. Las variaciones en la RDS indican una acidificación progresiva de la CoDA de residuos de café con EBF, considerado que los indicadores reflejaron un desacoplamiento

entre los productores de acidogénicos y los consumidores metanogénicos (Zou et al., 2022). Según Miramontes-Martínez et al., (2023) las variaciones son un indicador de condición de inestabilidad, lo que resalta el valor de los IAT como herramienta para detección de falla en el monitoreo de la estabilidad del proceso de DA.

**Figura 32.** Desviación estándar relativa de los IAT evaluados en el biodigestor BD2 operado a VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En la **Figura 32** se presenta la respuesta de los IAT en el biodigestor BD2, la cual evidencia sensibilidad frente al aumento en la carga orgánica. Desde el inicio de la operación con la mezcla sinérgica (día 88), se registraron desviaciones cercanas al 20%, con un aumento crítico en todos los parámetros monitoreados a partir del día 100. La relación CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> alcanzó una RDS del 65%, mientras que la relación AI/AP logró un valor de 145% en solo 6 días de diferencia desde la primera alerta. Esta desviación refleja un suceso de acidificación súbita, desencadenado por una sobrecarga de materia orgánica fácilmente degradable, principalmente aportada por las AM, lo que generó una producción acelerada de AGV sin permitir la respuesta

de las arqueas metanogénicas para su conversión a metano. Este comportamiento ha sido reportado en la literatura en sistemas con elevada carga orgánica y cortos TRH, lo que limita la capacidad de los IAT como herramienta para la predicción de fallas (D. Li, Chen, et al., 2017).

Los resultados obtenidos permiten identificar a los IAT como herramienta predictiva de fallas en sistemas con VCO baja, como en el caso del biodigestor BD1. Una VCO baja permite detectar las desviaciones en los IAT antes de que se manifieste la inhibición total del sistema, facilitando así una respuesta operativa oportuna. Por su parte, la moderada VCO aplicada en el biodigestor BD2 no permitió detectar la inestabilidad del proceso mediante los IAT, lo cual compromete la efectividad de la herramienta. D. Li, Chen, et al., (2017) indicaron que la eficacia de los IAT disminúa cuando se aplicaban en sistemas con sustratos con un alto contenido de fracciones solubles y condiciones de sobrecargas orgánicas.

De los indicadores evaluados, la relación AI/AP fue el parámetro con mayor sensibilidad ante las perturbaciones del sistema, siendo el primero en alertar la falla en ambos biodigestores. Este resultado coincide con estudios como el realizado por Miramontes-Martínez et al., (2023), que identifican esta relación como un parámetro auxiliar para anticipar la falla del bioproceso. No obstante, recomiendan tomar decisiones en conjunto con la relación  $\text{CH}_4/\text{CO}_2$ , que muestra una alta sensibilidad al cambio de alimentación.

### *3.3.2. Umbrales críticos de AGV y su rol en la inhibición del proceso metanogénico de la CoDA de residuos de café*

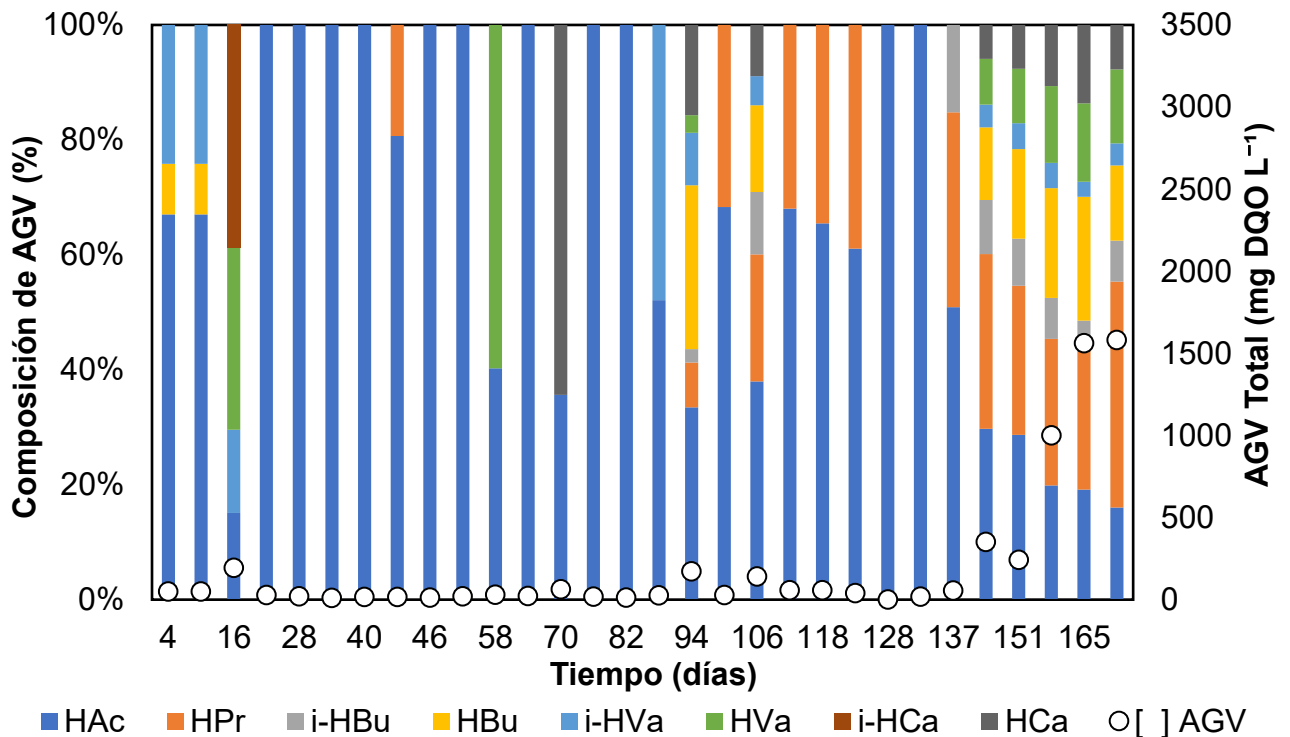
El monitoreo de los AGV en el proceso de DA es una herramienta clave para determinar el estado funcional del sistema. Los ácidos desempeñan un papel fundamental en el control de procesos anaeróbicos debido a que son compuestos intermedios generados durante la etapa acidogénica, que finalmente son consumidos en la etapa metanogénica. Sin embargo, una acumulación excesiva de AGV está asociado a la inhibición microbiana, lo que incide en la reducción en la

producción de metano, acidificación del medio y pérdida de la eficiencia global del bioproceso.

La literatura ha establecido que concentraciones críticas de AGV en proceso de DA que pueden generar inestabilidad en los biodigestores y dependen de la naturaleza del sustrato, lo que influye en la disminución significativa en la producción de metano. Hill et al., (1987) determinaron que un aumento en la concentración de HAc mayor a 853.3 mg DQO L<sup>-1</sup> y una relación P/A superior a 1.4, pueden ocasionar problemas en la etapa metanogénica. Por su parte, Li et al., (2017) identificaron límites para los HPr, HBU y i-HVa de 121.08, 18.18 y 20.39 mg DQO L<sup>-1</sup>, respectivamente, cuando se trataban desechos porcinos. En otro estudio, Hill & Bolte, (1989) definieron concentraciones críticas para los ácidos i-HBU y i-HVa de 27.27 y 30.58 mg DQO L<sup>-1</sup> respectivamente, indicando que niveles superiores podrían generar fallas inminentes en los biodigestores, incluyendo la formación de espuma. Además, señalaron que las concentraciones de los ácidos en mención pueden utilizarse como indicadores para predecir fallas de manera temprana en los BD.

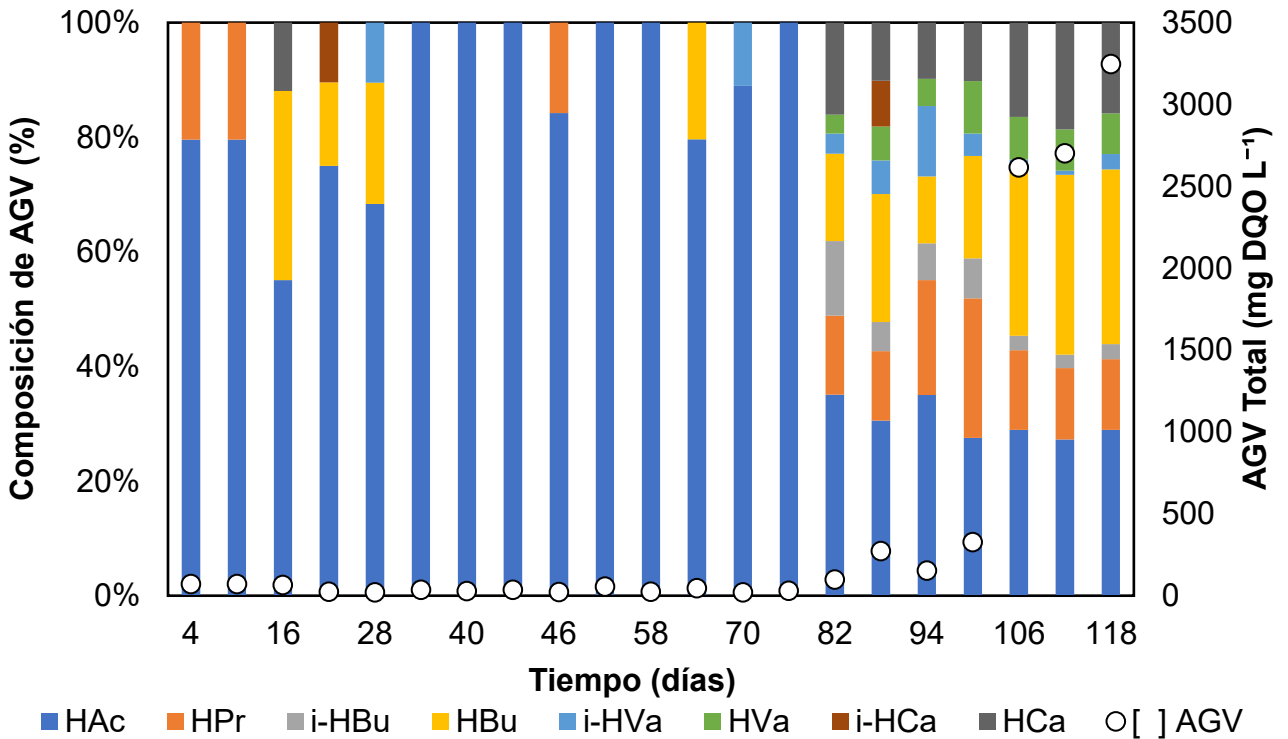
En la **Figura 33**, **Figura 34** y **Figura 35** se presenta la evolución de la concentración total de AGV (eje ordenada derecha) y su composición relativa (eje ordenada principal) para los BD operados a las distintas VCO. La cuantificación de los AGV de cadena corta entre 2 y 6 carbonos fue realizada mediante cromatografía utilizando un cromatógrafo de gases con una columna capilar GC BP21 (material de relleno: polietilenglicol) acoplada a un detector de ionización de llama (FID), lo que permitió identificar la distribución de los principales ácidos producidos en el sistema de digestión. En los biodigestores BD1 y BD2 se observa que, durante el periodo de ajuste en la alimentación, las concentraciones de AGV permanecieron por debajo de 200 mg DQO L<sup>-1</sup>, con una predominancia del ácido acético, lo que indica una conversión eficiente de los metabolitos intermedios reflejado en una adecuada actividad metanogénica.

**Figura 33.** Composición relativa y concentración total de AGV el biodigestor BD1 operado a VCO de  $0.5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



En la **Figura 33** se observa el perfil de AGV durante el monitoreo del biodigestor BD1. Se evidenció un comportamiento estable durante los primeros 137 días, incluso operando la mezcla sinérgica de co-sustratos. El ácido acético representó en promedio el 76.91% de la concentración total de AGV, reflejando una ruta metabólica centrada en la acetogénesis. Sin embargo, a partir del día 143 se evidenció un cambio significativo en la composición del perfil ácido, debido a que las concentraciones de ácido propiónico, butírico e iso-butírico aumentaron hasta alcanzar 254.84, 44.37 y 33.13 mg DQO·L<sup>-1</sup>, respectivamente, valores que superan los umbrales críticos establecidos en la literatura para procesos mesofílicos. Según Hill et al. (1987), una relación propiónico/acético (P/A) mayor a 1.4 y una concentración de ácido acético superior a 800 mg DQO·L<sup>-1</sup> indican condiciones de inhibición inminente. Además, concentraciones elevadas de ácidos ramificados como el iso-butírico (>27 mg DQO·L<sup>-1</sup>) han sido asociadas con la formación de espuma en el efluente y desbalance microbiano (Hill & Bolte, 1989).

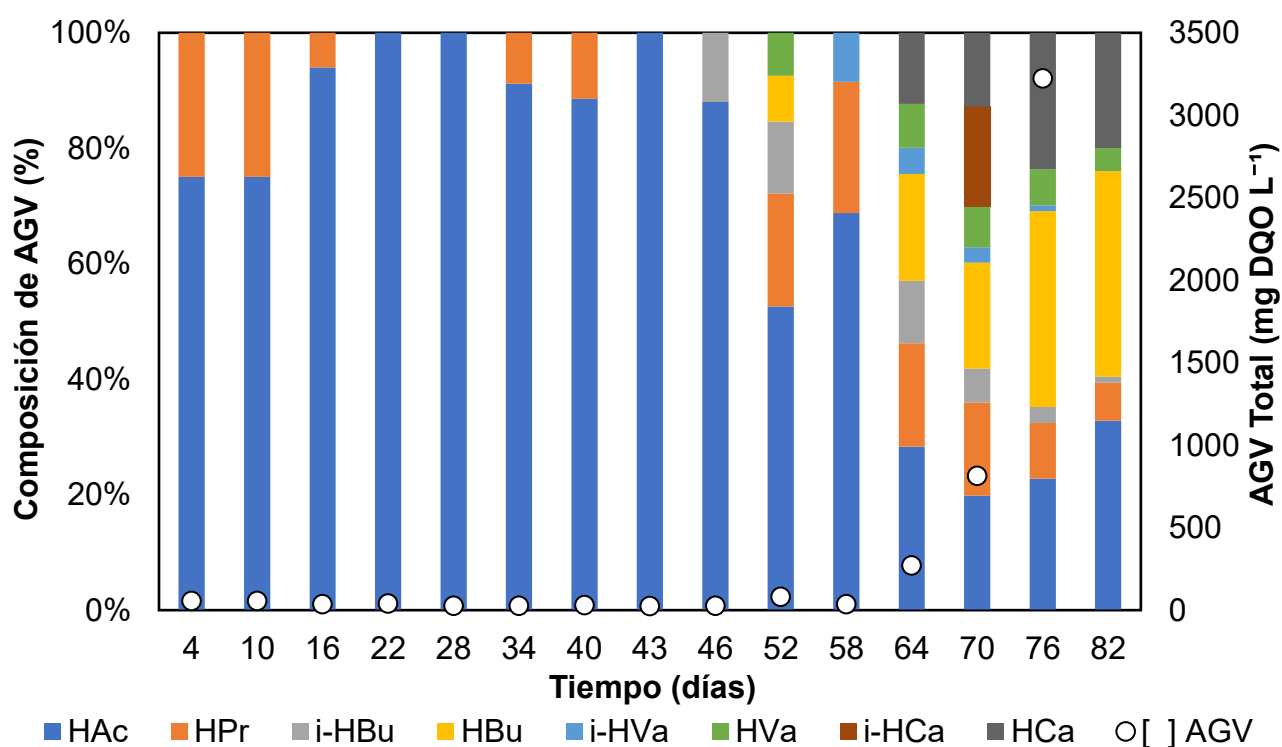
**Figura 34.** Composición relativa y concentración total de AGV el biodigestor BD2 operado a VCO de  $0.75 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ op d}^{-1}$



El perfil de ácidos mostrado en la **Figura 34** para el biodigestor BD2, evidencia inestabilidad en un menor tiempo de operación. En los primeros días predominó la concentración de ácido acético, sin embargo, a partir del día 88 se identificó un aumento considerable en la proporción de AGV diferentes al HAc. Las concentraciones de butírico, isobutírico e isovalérico fueron de 60.84, 13.81 y 15.92 mg DQO·L<sup>-1</sup>, respectivamente. Aunque los niveles de i-HBu e i-HVa no superaron los límites propuestos por Hill & Bolte (1989), su aumento simultáneo sugiere un desbalance ácido que afectó la eficiencia de las rutas metanogénicas. La presencia de ácidos de cadena corta con elevada toxicidad al proceso de DA, acompañado de una alta concentración de AGV, soportan los efectos inhibitorios discutidos anteriormente. Aunque ningún ácido excedió el umbral crítico, la presencia de todos los AGV de cadena corta en el efluente, se lo conoce como inhibición sinérgica de AGV (Jiménez-Páez et al., 2024).

Tanto el biodigestor BD1 como el biodigestor BD2 mostraron una disminución progresiva en la proporción relativa del ácido acético, acompañado por un aumento en el perfil de los ácidos orgánicos, lo cual indica un desacoplamiento entre la acidogénesis y la metanogénesis. Este fenómeno ha sido descrito por varios autores como una señal de transición hacia condiciones de inestabilidad metabólica (D. Li, Chen, et al., 2017). El aumento sostenido en la concentración total de AGV, especialmente en BD2, alcanzando valores superiores a 3,000 mg DQO·L<sup>-1</sup>, compromete la capacidad tampón del sistema y favorece la caída del pH, lo cual impacta negativamente sobre la comunidad microbiana metanogénica.

**Figura 35.** Composición relativa y concentración total de AGV el biodigestor BD3 operado a VCO de 1.0 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup>



En el caso del biodigestor BD3, la inestabilidad se manifestó de forma temprana y severa, como se observa en la **Figura 35**. Durante los primeros días del monitoreo (días 4 al 40), predominó en el perfil de AGV el ácido acético, representando más del 90% del total, acompañado de una baja concentración de ácidos en el efluente por debajo de los 500 mg DQO·L<sup>-1</sup>. Este resultado refleja un funcionamiento estable

a la VCO aplicada en el biodigestor BD3. Sin embargo, a partir del día 58, se evidenció un cambio en el perfil ácido, donde predominó la presencia de ácidos como el propiónico, iso-butírico, iso-valérico, valérico e incluso iso-caprónico, que aumentaron significativamente al final del tiempo de operación. Por su parte, la concentración de ácido acético disminuyó hasta representar apenas el 28.89% del total de los AGV en el día 94.

Durante esta fase final de operación del biodigestor BD3, las concentraciones de AGV superaron los límites operativos aceptados en la literatura. Por ejemplo, al día 94, se estimó una concentración de ácido propiónico de aproximadamente 276.4 mg DQO·L<sup>-1</sup>, superando el umbral de 121.08 mg DQO·L<sup>-1</sup> reportado por D. Li, Chen, et al., (2017), mientras que el ácido iso-butírico alcanzó valores cercanos a 40.7 mg DQO·L<sup>-1</sup>, excediendo el umbral crítico de 27.27 mg DQO·L<sup>-1</sup> propuesto por Hill & Bolte, (1989). Adicionalmente, la relación entre ácido propiónico y acético (P/A) en el día 94 fue superior a 2.4, lo cual representa un fuerte indicio de inhibición metanogénica (Hill, Cobb, & Bolte, 1987).

El comportamiento del BD3 demuestra que una acumulación de AGV en el sistema, en la que no solo uno, sino varios ácidos superaron simultáneamente sus umbrales individuales, generando condiciones de estrés severo afectando a las comunidades microbianas. El creciente perfil ácido de los BD y la disminución sostenida de la fracción de ácido acético evidencian un desacoplamiento funcional entre la acidogénesis y la metanogénesis. La caída en la producción de metano en los BDs discutida en el CAPITULO I., coincidió con los picos de acumulación de AGV, confirmando la relación directa entre el deterioro de la actividad metanogénica y los cambios en el perfil de AGV.

A diferencia de los biodigestores BD1 y BD2, en el biodigestor BD3 el aumento en la concentración de ácidos ocurrió en una ventana temporal más corta, sin un periodo de adaptación adecuado ni una fase estable en el consumo de AGV. Por lo anterior, se evidencia que la carga orgánica aplicada en el biodigestor BD3 superó rápidamente la capacidad de amortiguación del sistema, lo cual aceleró la inhibición de las rutas metanogénicas. La concentración total de AGV superó los 3 000 mg

DQO·L<sup>-1</sup> en los últimos días del monitoreo, valor crítico que ha sido citado como umbral general de acidificación severa (Mata-Alvarez et al., 2014).

Los hallazgos reportados en los biodigestores BD1, BD2 y BD3, confirmó que los periodos en los que se registró un aumento sostenido de AGV coincidieron con los momentos de pérdida de eficiencia en la producción de metano, lo que valida el uso de las concentraciones de los ácidos como indicadores de falla en la funcionalidad del bioproceso. Sin embargo, también se identificó que la VCO influye no solo en la magnitud de las concentraciones críticas alcanzadas, sino también en la velocidad con la que estas se acumulan, lo cual reduce el tiempo disponible para tomar medidas correctivas.

### **3.4. CONCLUSIONES**

La evaluación del perfil de AGV y su concentración total en el sistema P, AM y EBF durante la CoDA, permitió identificar las condiciones de inestabilidad que condujeron a la acidificación del proceso cuando se realizó a tres diferentes velocidades de carga orgánica.

La integración de los Indicadores de Alerta Temprana (IAT) se constituyó en una herramienta de diagnóstico para detectar la inestabilidad de la CoDA de los residuos del café con estiércol bovino por acidificación debida al incremento de la VCO. El análisis de los RDS evidencia la sensibilidad de los IAT con la variación de la VCO a la cual se lleva a cabo la CoDA de los residuos del café con estiércol bovino.

Cuando la CoDA se realizó a VCO de 0.5 kg SV·m<sup>-3</sup>op·d<sup>-1</sup>, los IAT permitieron identificar oportunamente la falla del proceso. Sin embargo, al aumentar la VCO (0.75 y 1.0 kg SV·m<sup>-3</sup>op·d<sup>-1</sup>), la respuesta del sistema fue tardía, mostrando que la capacidad predictiva de los IAT disminuye cuando la sobrecarga orgánica está en el límite de operación.

El monitoreo individual de los AGV se destacó como la herramienta más efectiva para identificar perturbaciones oportunamente. Los IAT demostraron ser más efectivos bajo la VCO de 0.5 kg SV m<sup>-3</sup>op d<sup>-1</sup>, destacando la relación AI/AP como la

más sensible ante las perturbaciones. Por el contrario, llevar a cabo la CoDA a VCO más altas, dificulta la detección oportuna de fallas debido a un corto TRH que imposibilita la identificación del fallo en el proceso.

## CONCLUSIONES GENERALES

La evaluación integral del proceso de CoDA de la pulpa y aguas mieles de café con estiércol bovino fresco bajo condiciones de operación semicontinua permitió identificar que el principal factor de riesgo que conducía la acidificación del proceso estuvo asociado a la VCO aplicada al sistema, asociado a la naturaleza lignocelulósica y ácida de los co-sustratos.

Durante la operación del BD con VCO baja ( $0.5 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\text{op}\cdot\text{d}^{-1}$ ), se evidenció un desempeño estable durante los primeros 120 días (TRH 1) de operación, representado por una adecuada conversión de la materia orgánica en metano y una baja generación de AGV. No obstante, en el TRH 2 la estabilidad del proceso de CoDA estuvo comprometida por la acumulación de compuesto intermediarios que conllevaron a que el proceso no tuviera una adecuada metabolización para la producción de metano, desencadenando la falla del bioproceso en la condiciones de mínima carga orgánica.

Realizar la CoDA de los residuos del café con estiércol bovino a  $VCO \geq 0.75 \text{ kg SV}\cdot\text{m}^{-3}\text{op}\cdot\text{d}^{-1}$ , generó un rápido desbalance entre las etapas de producción y consumo de AGV, reflejado en la disminución de la AME, lo que condujo a inestabilidad y posteriormente, falla operativa del sistema.

Los resultados evidenciaron que el proceso de CoDA de los residuos del café con estiércol bovino estuvo limitado principalmente por la etapa metanogénica, fuertemente inhibida por la acumulación excesiva de AGV. Por lo tanto, el análisis de IAT, especialmente la relación AI/AP y la evolución del perfil de los AGV, demostró ser una herramienta adecuada para anticipar el riesgo de acidificación, aunque su efectividad disminuye con el incremento en la VCO debido al efecto de la sobrecarga orgánica en el equilibrio metabólico del sistema de DA.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad, V., Avila, R., Vicent, T., & Font, X. (2019). Promoting circular economy in the surroundings of an organic fraction of municipal solid waste anaerobic digestion treatment plant: Biogas production impact and economic factors. *Bioresource Technology*, 283, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.064>
- Acosta, N., Duh Kang, I., Rabaey, K., & De Vrieze, J. (2021). Cow manure stabilizes anaerobic digestion of cocoa waste. *Waste Management*, 126, 508–516. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.02.010>
- Adekunle, K. F., & Okolie, J. A. (2015). A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 06(03), 205–212. <https://doi.org/10.4236/ABB.2015.63020>
- Amani, T., Nosrati, M., & Sreekrishnan, T. R. (2010). Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects - A review. In *Environmental Reviews* (Vol. 18, Issue 1, pp. 255–278). National Research Council of Canada. <https://doi.org/10.1139/A10-011>
- Angelidaki, I., Boe, K., & Ellegaard, L. (2005). Effect of operating conditions and reactor configuration on efficiency of full-scale biogas plants. *Water Science and Technology*, 52(1–2), 189–194. <https://doi.org/10.2166/wst.2005.0516>
- Angelidaki, I., Ellegaard, L., & Ahring, B. K. (2003). Applications of the anaerobic digestion process. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 82, 1–33. [https://doi.org/10.1007/3-540-45838-7\\_1](https://doi.org/10.1007/3-540-45838-7_1)
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M., & Stams, A. J. M. (2011). Biomethanation and its potential. In *Methods in Enzymology* (Vol. 494, pp. 327–351). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385112-3.00016-0>
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781. <https://doi.org/10.1016/J.PECS.2008.06.002>
- Armenta Romero, S. D., & Matiz Ángel, J. D. (2024). *Co-digestión anaeróbica de residuos de la cadena agroindustrial del café en operación semicontinua a escala laboratorio.*

- Astals, S., Batstone, D. J., Tait, S., & Jensen, P. D. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, 81, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.063>
- Babaei, A., & Shayegan, J. (2011). Effect of Organic Loading Rates (OLR) on Production of Methane from Anaerobic Digestion of Vegetables Waste. *Proceedings of the World Renewable Energy Congress – Sweden, 8–13 May, 2011, Linköping, Sweden*, 57, 411–417. <https://doi.org/10.3384/ECP11057411>
- Battista, F., Fino, D., & Mancini, G. (2016). Optimization of biogas production from coffee production waste. *Bioresource Technology*, 200, 884–890. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.020>
- Cai, G., Zhao, L., Wang, T., Lv, N., Li, J., Ning, J., Pan, X., & Zhu, G. (2021). Variation of volatile fatty acid oxidation and methane production during the bioaugmentation of anaerobic digestion system: Microbial community analysis revealing the influence of microbial interactions on metabolic pathways. *Science of The Total Environment*, 754, 142425. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.142425>
- Campos, R. C., Pinto, V. R. A., Melo, L. F., Rocha, S. J. S. S. da, & Coimbra, J. S. (2021). New sustainable perspectives for “Coffee Wastewater” and other by-products: A critical review. In *Future Foods* (Vol. 4). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100058>
- Cao, J., Zhang, C., Li, X., Wang, X., Dai, X., & Xu, Y. (2025). Microbial Community and Metabolic Pathways in Anaerobic Digestion of Organic Solid Wastes: Progress, Challenges and Prospects. *Fermentation* 2025, Vol. 11, Page 457, 11(8), 457. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION11080457>
- Castro, L. D. P., Vecino-Gutierrez, K. P., Díaz-Moyano, L. J., Jaimes-Estévez, J., & Escalante-Hernández, H. (2018). Lighting the anaerobic digestion process in rural areas: obtainment of struvite from bovine manure digestate. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2), 78–88. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.71184>

- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., & Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.035>
- Cerdán, J. M. A., Tejido-Nuñez, Y., Aymerich, E., de GoñiGoñi, J. G. M., & Garcia-Aguirre, J. (2021). A Comprehensive Comparison of Methane and Bio-Based Volatile Fatty Acids Production from Urban and Agro-Industrial Sources. *Waste and Biomass Valorization*, 12(3), 1357–1369. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01093-3>
- Chala, B., Oechsner, H., Latif, S., & Müller, J. (2018). Biogas potential of coffee processing waste in Ethiopia. *Sustainability (Switzerland)*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/su10082678>
- Chandra, R., Takeuchi, H., & Hasegawa, T. (2012). Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 16, Issue 3, pp. 1462–1476). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.11.035>
- Chapagain, A. K., & Hoekstra, A. Y. (2007). The water footprint of coffee and tea consumption in the Netherlands. *Ecological Economics*, 64(1), 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.02.022>
- Comino, E., Riggio, V. A., & Rosso, M. (2012). Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresource Technology*, 114, 46–53. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.02.090>
- Conrad, R. (2005). Quantification of methanogenic pathways using stable carbon isotopic signatures: a review and a proposal. *Organic Geochemistry*, 36(5), 739–752. <https://doi.org/10.1016/J.ORGGEOCHEM.2004.09.006>
- Corro, G., Pal, U., Bañuelos, F., & Rosas, M. (2013). Generation of biogas from coffee-pulp and cow-dung co-digestion: Infrared studies of postcombustion emissions. *Energy Conversion and Management*, 74, 471–481. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.07.017>

- de Oliveira Fernandes, M. A., Baêta, B. E. L., Adarme, O. F. H., & Fonseca, A. (2025). LCA-based carbon footprint analysis of anaerobic digestion of coffee husk waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 207. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2024.114993>
- Dhar, H., Kumar, P., Kumar, S., Mukherjee, S., & Vaidya, A. N. (2016). Effect of organic loading rate during anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 217, 56–61. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.12.004>
- Donoso-Bravo, A., Ortega, V., Lesty, Y., Bossche, H. Vanden, & Olivares, D. (2019). Addressing the synergy determination in anaerobic co-digestion and the inoculum activity impact on BMP test. *Water Science and Technology*, 80(2), 387–396. <https://doi.org/10.2166/WST.2019.292>
- Du, N., Li, M., Zhang, Q., Ulsido, M. D., Xu, R., & Huang, W. (2021). Study on the biogas potential of anaerobic digestion of coffee husks wastes in Ethiopia. *Waste Management and Research*, 39(2), 291–301. <https://doi.org/10.1177/0734242X20939619>
- Escalante, H., Lesmes, H. J. Z., Camacho, C. S., Rubiano, L. D. Y., Ruiz, M. C. C., Ortega, M. D., Cataño, D. L., Papagayo, Y. O., Prada, J. O., & Rojas, D. M. C. (2011). *Atlas del Potencial Energético de la Biomasa Residual en Colombia*.
- Escalante-Hernández, H., Castro-Molano, L., Besson, V., & Jaimes-Estévez, J. (2017). Feasibility of the anaerobic digestion of cheese whey in a Plug Flow Reactor (PFR) under local conditions. *Ingeniería. Investigación y Tecnología*, XVIII, 265–277.
- Espinoza-Escalante, F. M., Pelayo-Ortiz, C., Gutiérrez-Pulido, H., González-Álvarez, V., Alcaraz-González, V., & Bories, A. (2008). Multiple response optimization analysis for pretreatments of Tequila's stillages for VFAs and hydrogen production. *Bioresource Technology*, 99(13), 5822–5829. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.10.008>
- Fang, C., Boe, K., & Angelidaki, I. (2011). Anaerobic co-digestion of by-products from sugar production with cow manure. *Water Research*, 45(11), 3473–3480. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2011.04.008>

- FNC. (2025). *EL CAFÉ EN EL AUMENTO DEL PIB, LA DINAMIZACIÓN DE LA ECONOMÍA Y EL CUMPLIMIENTO DEL REGLAMENTO DE NO DEFORESTACIÓN DE LA UE, TEMAS DEL GERENTE DE LA FNC - Federación Nacional de Cafeteros Caldas*. <https://caldas.federaciondecafeteros.org/listado-noticias/el-cafe-en-el-aumento-del-pib-la-dinamizacion-de-la-economia-y-el-cumplimiento-del-reglamento-de-no-deforestacion-de-la-ue-temas-del-gerente-de-la-fnc/>
- Franke-Whittle, I. H., Walter, A., Ebner, C., & Insam, H. (2014). Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities. *Waste Management*, 34(11), 2080–2089. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.07.020>
- Goberna, M., Schoen, M. A., Sperl, D., Wett, B., & Insam, H. (2010). Mesophilic and thermophilic co-fermentation of cattle excreta and olive mill wastes in pilot anaerobic digesters. *Biomass and Bioenergy*, 34(3), 340–346. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.11.005>
- Gómez, X., Cuetos, M. J., Cara, J., Morán, A., & García, A. I. (2006). Anaerobic co-digestion of primary sludge and the fruit and vegetable fraction of the municipal solid wastes. Conditions for mixing and evaluation of the organic loading rate. *Renewable Energy*, 31(12), 2017–2024. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2005.09.029>
- Gómez-Quiroga, X., Aboudi, K., Álvarez-Gallego, C. J., & Romero-García, L. I. (2019). Enhancement of Methane Production in Thermophilic Anaerobic Co-Digestion of Exhausted Sugar Beet Pulp and Pig Manure. *Applied Sciences* 2019, Vol. 9, Page 1791, 9(9), 1791. <https://doi.org/10.3390/APP9091791>
- Gómez-Salcedo, Y., Baquerizo-Crespo, R., Da Silva, A. J., Oliva-Merencio, D., & Pereda-Reyes, I. (2021). Anaerobic digestion of solid wastes from coffee wet processing. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 37, 281–292. <https://doi.org/10.20937/RICA.53753>
- Gouvea, B. M., Torres, C., Franca, A. S., Oliveira, L. S., & Oliveira, E. S. (2009). Feasibility of ethanol production from coffee husks. *Biotechnology Letters*, 31(9), 1315–1319. <https://doi.org/10.1007/s10529-009-0023-4>

- Guerrero, E., Ocampo Díaz, S., & Jaramillo, J. G. (2023). *Efectos sinérgicos de la co-digestión anaeróbica de aguas mieles y pulpa de café con estiércol bovino*. Universidad Industrial de Santander. <https://noesis.uis.edu.co/handle/20.500.14071/15291>
- Guerrero, E., & Ocampo, S. (2023). *Efectos sinérgicos de la co-digestión anaeróbica de aguas mieles y pulpa de café con estiércol bovino*.
- Hernández, M. A., Rodríguez Susa, M., & Andres, Y. (2014). Use of coffee mucilage as a new substrate for hydrogen production in anaerobic co-digestion with swine manure. *Bioresource Technology*, 168, 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.101>
- Hernández-Sarabia, M., Sierra-Silva, J., Delgadillo-Mirquez, L., Ávila-Navarro, J., & Carranza, L. (2021). The potential of the biodigester as a useful tool in coffee farms. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/app11156884>
- Hill, D. T., & Bolte, J. P. (1989). Digester Stress as Related to Iso-butyric and Iso-valeric Acids\*. In *Biological Wastes* (Vol. 28).
- Hill, D. T., Cobb, S. A., & Bolte, J. P. (1987). Using Volatile Fatty Acid Relationships To Predict Anaerobic Digester Failure. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 30(2), 496–501. <https://doi.org/10.13031/2013.31978>
- Hill, D. T., Cobb, S. A., Bolte, J. P., & Asae, A. M. (1987). *Using Volatile Fatty Acid Relationships to Predict Anaerobic Digester Failure*.
- J. Cerino-Córdova, F., E. Dávila-Guzmán, N., M. García León, A., J. Salazar-Rabago, J., & Soto-Regalado, E. (2020). Revalorization of Coffee Waste. In *Coffee - Production and Research*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92303>
- Jaimés Estévez, J., Castro, L., Escalante, H., Carrillo, D., Portillo, S., Sotres, A., & Morán, A. (2020). Cheese whey co-digestion treatment in a tubular system: microbiological behaviour along the axial axis. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13399-020-00988-4>

- Jaimés-Estévez, J., Castro, L., Sanabria, K., Rondón, Z., & Escalante, H. (2020). *Metodología para la producción de biogás sin riesgos de inhibición en laboratorio: codigestión de lactosuero y estiércol bovino*. 101–108.
- Jaimés-Estévez, J., Mercado, E. V., Jaramillo, J. G., Rodríguez, P., Martí-Herrero, J., Escalante, H., & Castro, L. (2022). From laboratory to farm-scale psychrophilic anaerobic co-digestion of cheese whey and cattle manure. *Bioresource Technology Reports*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101168>
- Jobling Purser, B. J., Thai, S. M., Fritz, T., Esteves, S. R., Dindale, R. M., & Guwy, A. J. (2014). An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste. *Water Research*, 61, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.020>
- Kampioti, A., & Komilis, D. (2022). Anaerobic co-digestion of coffee waste with other organic substrates: A mixture experimental design. *Chemosphere*, 297. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134124>
- Karki, R., Chuenchart, W., Surendra, K. C., Shrestha, S., Raskin, L., Sung, S., Hashimoto, A., & Kumar Khanal, S. (2021). Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*, 330, 125001. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125001>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.01.046>
- Ktori, R., Kamaterou, P., & Zabaniotou, A. (2018). Spent coffee grounds valorization through pyrolysis for energy and materials production in the concept of circular economy. In *Materials Today: Proceedings* (Vol. 5). [www.sciencedirect.com/www.materialstoday.com/proceedings2214-7853](http://www.sciencedirect.com/www.materialstoday.com/proceedings2214-7853)
- Kwon, E. E., Yi, H., & Jeon, Y. J. (2013). Sequential co-production of biodiesel and bioethanol with spent coffee grounds. *Bioresource Technology*, 136, 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.052>

- León Chilito, E. D., Casanova Olaya, J. F., Corrales, J. C., & Figueroa, C. (2025). Sustainability-driven fertilizer recommender system for coffee crops using case-based reasoning approach. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1445795>
- Li, B. Y., Xia, Z. Y., Gou, M., Sun, Z. Y., Huang, Y. L., Jiao, S. B., Dai, W. Y., & Tang, Y. Q. (2022). Production of volatile fatty acid from fruit waste by anaerobic digestion at high organic loading rates: Performance and microbial community characteristics. *Bioresource Technology*, 346. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126648>
- Li, D., Chen, L., Liu, X., Mei, Z., Ren, H., Cao, Q., & Yan, Z. (2017). Instability mechanisms and early warning indicators for mesophilic anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresource Technology*, 245, 90–97. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.07.098>
- Li, D., Lin, C., Xiaofeng, L., Zili, M., Haiwei, R., Qin, C., & Zhiying, Y. (2017). Instability mechanisms and early warning indicators for mesophilic anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresource Technology*.
- Li, Y., Park, S. Y., & Zhu, J. (2011). Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 821–826. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2010.07.042>
- Li, Y., Zhang, R., He, Y., Zhang, C., Liu, X., Chen, C., & Liu, G. (2014). Anaerobic co-digestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor (CSTR). *Bioresource Technology*, 156, 342–347. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.01.054>
- Lohani, S. P., & Havukainen, J. (2018). Anaerobic Digestion: Factors Affecting Anaerobic Digestion Process. *Energy, Environment, and Sustainability*, 343–359. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7413-4\\_18/FIGURES/2](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7413-4_18/FIGURES/2)
- Luo, X., Yuan, X., Wang, S., Sun, F., Hou, Z., Hu, Q., Zhai, L., Cui, Z., & Zou, Y. (2018). Methane production and characteristics of the microbial community in the co-digestion of spent mushroom substrate with dairy manure. *Bioresource Technology*, 250, 611–620. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.11.088>

- Luz, F. C., Cordiner, S., Manni, A., Mulone, V., & Rocco, V. (2017). Anaerobic digestion of coffee grounds soluble fraction at laboratory scale: Evaluation of the biomethane potential. *Applied Energy*, *207*, 166–175. <https://doi.org/10.1016/J.APENERGY.2017.06.042>
- Ma, G., Ndegwa, P., Harrison, J. H., & Chen, Y. (2020). Methane yields during anaerobic co-digestion of animal manure with other feedstocks: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, *728*, 138224. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.138224>
- Manasa, V., Padmanabhan, A., & Anu Appaiah, K. A. (2021). Utilization of coffee pulp waste for rapid recovery of pectin and polyphenols for sustainable material recycle. *Waste Management*, *120*, 762–771. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.10.045>
- Martí-Herrero, J., Alvarez, R., Cespedes, R., Rojas, M. R., Conde, V., Aliaga, L., Balboa, M., & Danov, S. (2015). Cow, sheep and llama manure at psychrophilic anaerobic co-digestion with low cost tubular digesters in cold climate and high altitude. *Bioresource Technology*, *181*, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.063>
- Martí-Herrero, J., & Cipriano, J. (2012). Design methodology for low cost tubular digesters. *Bioresource Technology*, *108*, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.117>
- Martínez, A., Speranza, M., Ruíz, F., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, J. M., Gutiérrez, A., & C.del Río, J. (2005). Biodegradation of lignocelluloses: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Microbiology*, *8*, 195–204.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M. S., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *36*, 412–427. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2014.04.039>
- Mata-Alvarez, J., Macé, S., & Llavrés, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 3–16. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00023-7)
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122364>
- Miramontes-Martínez, L. R., Rodríguez-Valderrama, S., Alvarado-Reina, P. M., Escamilla-Alvarado, C., Albalade-Ramírez, A., García-Balandrán, E. E., & Rivas-García, P. (2023). *Evaluación de la capacidad predictiva de indicadores de alerta para la detección de fallas en la producción de biogás*.
- Mohan, G., Behera, S. K., & Shanthakumar, S. (2025). Advanced oxidation processes for coffee processing wastewater treatment: Current developments and future directions. *Journal of Water Process Engineering*, 69, 106737. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2024.106737>
- Mosquera, J., Varela, L., Santis, A., Villamizar, S., Acevedo, P., & Cabeza, I. (2020). Improving anaerobic co-digestion of different residual biomass sources readily available in Colombia by process parameters optimization. *Biomass and Bioenergy*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105790>
- Nagao, N., Tajima, N., Kawai, M., Niwa, C., Kurosawa, N., Matsuyama, T., Yusoff, F. M., & Toda, T. (2012). Maximum organic loading rate for the single-stage wet anaerobic digestion of food waste. *Bioresource Technology*, 118, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.045>
- Navajas-Porras, B., Castillo-Correa, M., Navarro-Hortal, M. D., Montalbán-Hernández, C., Peña-Guzmán, D., Hinojosa-Nogueira, D., & Romero-Márquez, J. M. (2025). The Valorization of Coffee By-Products and Waste Through the Use of Green Extraction Techniques: A Bibliometric Analysis. *Applied Sciences (Switzerland)*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/app15031505>
- Neves, L., Oliveira, R., & Alves, M. M. (2006). Anaerobic co-digestion of coffee waste and sewage sludge. *Waste Management*, 26(2), 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2004.12.022>
- Nuchdang, S., & Phalakornkule, C. (2012). Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure. *Journal of Environmental Management*, 101, 164–172. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2012.01.031>

- Passos, F., Cordeiro, P. H. M., Baeta, B. E. L., de Aquino, S. F., & Perez-Elvira, S. I. (2018). Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. *Bioresource Technology*, *253*, 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.071>
- Peces, M., Astals, S., Jensen, P. D., & Clarke, W. P. (2018). Deterministic mechanisms define the long-term anaerobic digestion microbiome and its functionality regardless of the initial microbial community. *Water Research*, *141*, 366–376. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2018.05.028>
- Perimenis, A., Nicolay, T., Leclercq, M., & Gerin, P. A. (2018). Comparison of the acidogenic and methanogenic potential of agroindustrial residues. *Waste Management*, *72*, 178–185. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.11.033>
- Quintero, M., Castro, L., Ortiz, C., Guzmán, C., & Escalante, H. (2012). Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate: Figue's bagasse as an example. *Bioresource Technology*, *108*, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.052>
- Rajesh Banu, J., Kavitha, S., Yukesh Kannah, R., Dinesh Kumar, M., Preethi, Atabani, A. E., & Kumar, G. (2020). Biorefinery of spent coffee grounds waste: Viable pathway towards circular bioeconomy. In *Bioresource Technology* (Vol. 302). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122821>
- Raposo, F., Borja, R., Cacho, J. A., Mumme, J., Orupöld, K., Esteves, S., Nogueroles-Arias, J., Picard, S., Nielfa, A., Scherer, P., Wierinck, I., Aymerich, E., Cavinato, C., Rodriguez, D. C., García-Mancha, N., Lens, P. N. T., & Fernández-Cegrí, V. (2013). First international comparative study of volatile fatty acids in aqueous samples by chromatographic techniques: Evaluating sources of error. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 51, pp. 127–143). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.07.007>
- Rattan, S., Parande, A. K., Nagaraju, V. D., & Ghiwari, G. K. (2015). A comprehensive review on utilization of wastewater from coffee processing. In *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 22, Issue 9, pp. 6461–6472). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4079-5>

- Ruihong, Z., & Zhiqin, Z. (1999). Biogasification of rice straw with an anaerobic-phased solids digester system. *Bioresource Technology*, 68(3). [https://doi.org/doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00154-0](https://doi.org/doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00154-0)
- Sánchez, E., Borja, R., Travieso, L., Martín, A., & Colmenarejo, M. F. (2005). Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. *Bioresource Technology*, 96(3), 335–344. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2004.04.003>
- Selvankumar, T., Sudhakar, C., Govindaraju, M., Selvam, K., Aroulmoji, V., Sivakumar, N., & Govarthanan, M. (2017). Process optimization of biogas energy production from cow dung with alkali pre-treated coffee pulp. *3 Biotech*, 7(4). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0884-5>
- Shahriari, H., Warith, M., Hamoda, M., & Kennedy, K. (2013). Evaluation of single vs. staged mesophilic anaerobic digestion of kitchen waste with and without microwave pretreatment. *Journal of Environmental Management*, 125, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.03.042>
- Shen, L., Hu, H., Ji, H., Cai, J., He, N., Li, Q., & Wang, Y. (2014). Production of poly(hydroxybutyrate–hydroxyvalerate) from waste organics by the two-stage process: Focus on the intermediate volatile fatty acids. *Bioresource Technology*, 166, 194–200. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.05.038>
- Søndergaard, M. M., Fotidis, I. A., Kovalovszki, A., & Angelidaki, I. (2015). Anaerobic co-digestion of agricultural by-products with manure, for enhanced biogas production. *Energy & Fuels*, 29(12), 8088–8094. <https://doi.org/10.1021/ACS.ENERGYFUELS.5B02373>
- Sosa-Hernández, O., Parameswaran, P., Alemán-Nava, G. S., Torres, C. I., & Parra-Saldívar, R. (2016). Evaluating biochemical methane production from brewer's spent yeast. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43(9), 1195–1204. <https://doi.org/10.1007/S10295-016-1792-0>
- Sun, H., Kovalovszki, A., Tsapekos, P., Alvarado-Morales, M., Rudatis, A., Wu, S., Dong, R., Kougias, P. G., & Angelidaki, I. (2019). Co-digestion of *Laminaria digitata* with cattle manure: A unimodel simulation study of both batch and continuous experiments.

*Bioresource Technology*, 276, 361–368.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.12.110>

Tavera-Ruiz, C., Martí-Herrero, J., Mendieta, O., Jaimes-Estévez, J., Gauthier-Maradei, P., Azimov, U., Escalante, H., & Castro, L. (2023). Current understanding and perspectives on anaerobic digestion in developing countries: Colombia case study. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 173). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113097>

Traverso, P., Pavan, P., Bolzonella, D., Innocenti, L., Cecchi, F., & Mata-Alvarez, J. (2000). Acidogenic fermentation of source separated mixtures of vegetables and fruits wasted from supermarkets. *Biodegradation*, 11(6), 407–414.  
<https://doi.org/10.1023/A:1011687230823/METRICS>

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(91)78551-2)

Velasquez-Pinas, J. A., Ampese, L. C., Di Domenico Ziero, H., Radis Steinmetz, R. L., Belt, C., & Forster-Carneiro, T. (2023). Circular bioeconomy of coffee industries: Energy and techno-economic approach based on biogas and biomethane production. *Journal of Cleaner Production*, 418. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.138045>

Villa Montoya, A. C., Cristina da Silva Mazareli, R., Delforno, T. P., Centurion, V. B., Sakamoto, I. K., Maia de Oliveira, V., Silva, E. L., & Amâncio Varesche, M. B. (2019). Hydrogen, alcohols and volatile fatty acids from the co-digestion of coffee waste (coffee pulp, husk, and processing wastewater) by applying autochthonous microorganisms. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(39), 21434–21450.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.06.115>

Wang, Q., Kuninobu, M., Ogawa, H. I., & Kato, Y. (1999). Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. *Biomass & Bioenergy*, 16(6), 407–416.  
[www.elsevier.com/locate/biombioe](http://www.elsevier.com/locate/biombioe)

Wang, Z., Yun, S., Xu, H., Wang, C., Zhang, Y., Chen, J., & Jia, B. (2019). Mesophilic anaerobic co-digestion of acorn slag waste with dairy manure in a batch digester:

- Focusing on mixing ratios and bio-based carbon accelerants. *Bioresource Technology*, 286, 121394. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121394>
- Widjaja, T., Nurkhamidah, S., Altway, A., Iswanto, T., Gusdyarto, B., & Ilham, F. F. (2019). Performance of biogas production from coffee pulp waste using semi-continuous anaerobic reactor. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 673(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/673/1/012003>
- Wijekoon, K. C., Visvanathan, C., & Abeynayaka, A. (2011). Effect of organic loading rate on VFA production, organic matter removal and microbial activity of a two-stage thermophilic anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 102(9), 5353–5360. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2010.12.081>
- Xu, R., Yang, Z. H., Zheng, Y., Liu, J. B., Xiong, W. P., Zhang, Y. R., Lu, Y., Xue, W. J., & Fan, C. Z. (2018). Organic loading rate and hydraulic retention time shape distinct ecological networks of anaerobic digestion related microbiome. *Bioresource Technology*, 262, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.083>
- Xu, Z., Zhao, M., Miao, H., Huang, Z., Gao, S., & Ruan, W. (2014). In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 163, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.037>
- Yadvika, Santosh, Sreekrishnan, T. R., Kohli, S., & Rana, V. (2004). Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques - A review. In *Bioresource Technology* (Vol. 95, Issue 1, pp. 1–10). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.010>
- Zamri, M. F. M. A., Hasmady, S., Akhlar, A., Ideris, F., Shamsuddin, A. H., Mofijur, M., Fattah, I. M. R., & Mahlia, T. M. I. (2021). A comprehensive review on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 137). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110637>
- Zou, J., Nie, E., Lü, F., Peng, W., Zhang, H., & He, P. (2022). Screening of early warning indicators for full-scale dry anaerobic digestion of household kitchen waste. *Environmental Research*, 214, 114136. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.114136>



## ANEXOS

### Anexo 1. Indicadores de alerta temprana y tiempo de alarma

Indicador de alerta temprana	Unidad	Día de falla			Día de cambio significativo			Tiempo de alerta (d)		
		BD1	BD2	BD3	BD1	BD2	BD3	BD1	BD2	BD3
CH4	%	168	100	82	160	100	82	8	0	0
CH4/CO2	-	168	100	82	166	94	64	2	6	18
AGV	mg L <sup>-1</sup>	168	106	76	148	82	76	20	24	0
AGV/AT	-	168	94	70	168	82	70	0	12	0
AI/AP	-	148	88	70	124	82	64	24	6	6
HPr/HAc	-	158	118	82	144	118	70	14	0	12