

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea del CRAI-Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la CRAI-Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación, CRAI-Biblioteca
Universidad Santo Tomás, Bucaramanga

Estudio de la producción de biogás mediante la co-digestión anaerobia usando como sustrato el mucílago de café y como inóculos el estiércol porcino y estiércol bovino

Adriana Lucía Mendivelso Castillo

Trabajo de grado para optar al título de Químico Ambiental

Directora:

Angélica María Candela Soto

Qca., MSc., Ph.D.

Co-Directora:

Olga Lucía Bayona Ayala

Qca., MSc.

Universidad Santo Tomás

División de Ingenierías y Arquitectura

Facultad de Química Ambiental

Bucaramanga

2018

Dedicatoria

Quiero darle infinitas gracias a Dios por haberme permitido culminar esta gran e importante etapa de mi vida. Por darme la sabiduría, paciencia y responsabilidad que necesite para optar este logro. Especialmente a mi morenita y a Grati, por ser los promotores de mis logros y formación.

A mis padres y hermano por el apoyo y aliento que siempre me dieron para seguir adelante. Por tolerarme cada instante y querer para mí lo mejor.

A Eduarditto por ser mi compañero incondicional en cada momento que lo necesite, por brindarme tranquilidad y fortaleza en esta etapa de mi vida.

A mis amigas eternas Gonza y Juli, por ser ustedes mi más grande tesoro y por mostrarme el bonito valor de la amistad.

Adriana Lucía Mendivelso Castillo

*“Señor, me has mirado a los ojos, sonriendo has dicho mi nombre.
En la arena he dejado mi barca, junto a Ti buscaré otro mar.”*

Cesáreo Gabaráin

Agradecimientos

A Dios por ser mi fortaleza.

A mis padres y nonos por su esfuerzo y apoyo incondicional.

A Angélica María Candela Soto por su dirección y guía en este proyecto en todo momento.

A Olga Lucía Bayona por su codirección y el desarrollo de este proyecto.

A Liliana Palacios, Laura Herrera, Liz González y Sindy Lozano por su asesoría en este proyecto.

A los auxiliares de Laboratorio Edwin Arciniegas, Danny Mantilla y Rosa por su colaboración en la realización de este proyecto.

A los auxiliares de la Finca El Limonal de la Universidad Santo Tomás.

A los vivientes de la finca “INEM” por ser su colaboración en la toma de muestras.

Al Café Mesa de los Santos por su colaboración en la toma de muestras de mucílago de café, para este estudio.

Al Grupo de Investigación en Nuevos Materiales y Energías Alternativas (GINMEA), por su apoyo educativo y financiero para el desarrollo de esta investigación.

Al Laboratorio del Dr. Calderón y CROM-MASS por los servicios técnicos prestados en este trabajo.

A la Universidad Santo Tomás y al Laboratorio de Investigación de Ciencias Básicas, por los espacios generados para la realización de este trabajo de investigación.

Al soporte y financiación de Colciencias (Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Investigación de Colombia) - Proyecto número FP44842-38 – 2017.

Contenido

	pág.
Introducción	16
1. Estudio de la producción de biogás mediante la co-digestión anaerobia usando como sustrato el mucílago de café y como inóculos el estiércol porcino y estiércol bovino	18
1.1 Planteamiento del problema	18
2. Justificación	19
3. Objetivos	21
3.1 Objetivo general	21
3.2 Objetivos específicos	21
4. Marco de referencia	22
4.1 Marco conceptual	22
4.1.1 Mucílago de café.	22
4.1.2 Digestión anaerobia. 23	
4.1.2.1 <i>Etapas de la digestión anaerobia</i>	25
4.1.3 Bioreactor..	27
4.1.3.1 <i>Clases de bioreactores</i>	28
4.1.4 Biogás.).	28
4.1.4.1 <i>Factores que afectan la generación de biogás</i>	28
4.1.5 Evaluación del potencial de biometanización (PBM).).	32
4.2 Antecedentes..	32
5. Diseño metodológico	33
5.1 Materiales y métodos	34
5.1.1 <i>Equipos de análisis, medición y caracterización..</i>	34
5.1.2 <i>Reactivos..</i>	34
5.1.3 <i>Otros.</i>	35

PRODUCCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE LA CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA	6
5.2 Esquema metodológico	35
5.3 Análisis para los procesos de digestión anaerobia	36
5.3.1 Preparación de las mezclas para los procesos de fermentación anaerobia. I.	36
5.3.2 Aclimatación del inóculo..	36
5.3.3 Caracterización fisicoquímica de los procesos de digestión anaerobia (DA)..	37
5.4 Análisis para los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA)	39
5.4.1 Preparación de mezclas Inóculo:Sustrato (I:S)..	39
5.4.2 Caracterización de parámetros fisicoquímicos para los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA)..	40
5.5 Medición del volumen de metano por desplazamiento alcalino.	41
5.6 Caracterización de biogás generado en el bioreactor por cromatografía de gases.	42
6 Resultados y Análisis	43
6.1 Caracterización de parámetros fisicoquímicos para los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA)	43
6.1.1 Determinación estequiométrica de C, H, O, N, S, relación C/N y humedad.	43
6.1.2 Determinación de pH	44
6.1.3 Determinación de la relación de AGV/AT.).	47
6.1.4 Determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) en co-digestión anaerobia (CoDA)..	52
6.1.5 Determinación de azúcares individuales en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA).	53
6.1.6 Determinación de DQO en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA).	55
6.2 Medición del biogás acumulado en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA)	56
6.2.1 Volumen de biogás generado en los procesos de digestión anaerobia (DA).	57
6.2.2 Generación de biogás en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA) de las diferentes relaciones inóculo: sustrato..	58

6.3 Determinación del potencial de biometanización (PBM) en la co-digestión anaerobia (CoDA)	
59	
6.4 Caracterización de gases en un reactor con y sin aclimatación.	60
7 Conclusiones y Recomendaciones	62
Bibliografía	64
Apéndices	71

Lista de Figuras

	pág.
<i>Figura 1.</i> MC obtenido en la etapa de desmucilaginado de la “Hacienda El Roble” Mesa de Los Santos, Santander.	22
<i>Figura 2.</i> Etapas de la digestión anaerobia y grupos bacterianos presentes en el proceso. Adaptado de “Díaz, C., Espitia, S., & Molina, F. (2013). Digestión Anaerobia. (Universidad Nacional de Colombia, Ed.). Bogotá, D.C”	24
<i>Figura 3.</i> Hidrólisis de biopolímeros. Adaptado de “Lobato, Á. (2012). Estudio de la co-digestión anaerobia de residuos ganaderos con otros sustratos agroindustriales. Universidad de León” . .	25
<i>Figura 4.</i> Esquema de la metodología de este cumpliendo los objetivos establecidos.	35
<i>Figura 5.</i> Montaje para la medición de biometanización por desplazamiento alcalino.	42
<i>Figura 6.</i> Determinación de pH en estiércol porcino , estiércol bovino y la mezcla de estiércol porcino y bovino.	45
<i>Figura 7.</i> pH vs Tiempo de las mezclas inóculo:sustrato donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café, las mezclas fueron sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatado.	46
<i>Figura 8.</i> Relación AGV/AT vs Tiempo en procesos de digestión anaerobia (estiércol bovino, estiércol porcino y la mezcla estiércol bovino y porcino).	47
<i>Figura 9.</i> Relación de AGV/AT de las diferentes mezclas de I:S donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café, las mezclas fueron sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatada	48
<i>Figura 10.</i> Curva de calibración del ácido acético y ácido propionico	49
<i>Figura 11.</i> Curva de calibración del ácido isobutírico y ácido butírico	50
<i>Figura 12.</i> Relación SV/ST de las diferentes mezclas I:S donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café, las mezclas fueron sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatada	52
<i>Figura 13.</i> Curva de calibración para glucosa y xilosa.	53
<i>Figura 14.</i> Curva de calibración de arabinosa y celobiosa.	54
<i>Figura 15.</i> Producción de biogás en los procesos de DA como estiércol porcino, estiércol bovino y la mezcla de estiércol porcino y bovino.	57
<i>Figura 16.</i> Producción de biogás en los procesos de CoDA de las diferentes mezclas inóculo (Estiércol porcino-bovino):sustrato(MC); donde las proporciones I:S sin aclimatación fueron sin regular pHs 3:1; 6:1 y 92:8; regulando pHr 3:1; 6:1 y 92:8; e inóculo aclimatado pHr 92:8.	58
<i>Figura 17.</i> PBM de las diferentes mezclas inóculo (Estiércol porcino-bovino):sustrato(MC); donde las proporciones I:S sin aclimatación fueron sin regular pHs 3:1; 6:1 y 92:8; regulando pHr 3:1; 6:1 y 92:8; e inóculo aclimatado pHr 92:8.	59
<i>Figura 18.</i> Composición del gas acumulado en un reactor sin aclimatación en una relación 92:8 durante 30 días, donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café.	60
<i>Figura 19.</i> Composición del gas acumulado en un reactor aclimatado en una relación 92:8 durante 30 días, donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café.	61

Lista de Tablas

	pág.
Tabla 1. <i>Condiciones óptimas para el desarrollo de microorganismos generados por biogás.</i>	27
Tabla 2. <i>Cantidad de metano producido por distintas materias primas.</i>	29
Tabla 3. <i>Tiempo de retención (Tr) según la temperatura.</i>	30
Tabla 4. <i>Porcentaje de sólidos totales (ST) en diversos residuos animales.</i>	31
Tabla 5. <i>Porcentaje de sólidos volátiles (SV) en diversos residuos animales.</i>	31
Tabla 6. <i>Equipos de análisis, medición y caracterización.</i>	34
Tabla 7. <i>Lista de reactivos utilizados en la metodología.</i>	34
Tabla 8. <i>Mezclas para digestión anaerobia</i>	36
Tabla 9. <i>Condiciones de aclimatación para una mezclas I:S.</i>	37
Tabla 10. <i>Mezclas establecidas para este estudio de producción de biogás.</i>	39
Tabla 11. <i>Determinación estequiométrica del estiércol porcino, estiércol bovino y mucílago de café.</i>	43
Tabla 12. <i>Determinación de la relación de C/N y humedad en las mezclas inóculo:sustrato.</i>	44
Tabla 13. <i>Concentración de AGV individuales en los procesos de digestión anaerobia y co-digestión anaerobia.</i>	51
Tabla 14. <i>Concentraciones de azúcares individuales en procesos digestión y co-digestión anaerobia.</i>	55
Tabla 15. <i>Remoción de DQO en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA).</i>	56

Lista de Ecuaciones

	pág.
Ecuación 3. Determinación relación de C/N.....	38
Ecuación 1. Cálculo para concentración de AGV	38
Ecuación 2. Cálculo para concentración AT.....	38
Ecuación 4. Determinación del porcentaje de ST	40
Ecuación 5. Determinación del porcentaje de SV	40

Lista de siglas, símbolos, acrónimos y abreviaturas

AT	Alcalinidad
ATP	Adenosín trifosfato
AGV	Ácidos Grasos Volátiles
°C	Grados Celsius
CoDA	Co-digestión Anaerobia
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DA	Digestión Anaerobia
DAD	Detector de matriz de diodos
EB	Estiércol bovino
EP	Estiércol porcino
FID	Detector de ionización en llama
F	Final del proceso
GEI	Gases de efecto invernadero
HCl	Ácido Clorhídrico
I	Inicio del proceso
mL	Mililitros
MC	Mucílago de café
N	Normalidad
NAHCO₃	Carbonato de sodio
NaOH	Hidróxido de Sodio
PBM	Potencial de Biometanización
RID	Detector de índice de refracción
pHr	Regulando pH
pHs	Sin regular pH
ST	Sólidos Totales
SV	Sólidos Volátiles
TCD	Detector de conductividad térmica
TRH	Tiempo de retención hidráulico

Glosario

ATP: es una de las unidades principales de los ácidos nucleicos, cumple funciones necesarias para el intercambio energético y del metabolismo celular en los seres vivos (Madrigal & Peimbert, 2010, p.39-45).

Ácidos grasos volátiles: son el resultado de la fase de acidogénesis y son principalmente ácido acético, propiónico y butírico (Quintero & Rondón, 2012, p. 2).

Alcalinidad: es la capacidad del sistema para soportar y amortiguar la presencia de ácidos sin disminuir su pH (Quintero & Rondón, 2012, p. 2)

Biocombustible: es cualquier combustible líquido, gaseoso o sólido producido a partir de biomasa (Álvarez, 2009, p.63-89)

Bioenergía: es la energía derivada de cualquier forma de biomasa (Aguilar, Armijo, & Taboada, 2009, p.59-62).

Biogás: es un gas que consiste principalmente en el gas metano, producido por la digestión anaerobia de materia orgánica (Soler, 2009, p.4).

Biomasa: es la fracción biodegradable de los productos y residuos de la agricultura, la forestación y sus industrias asociadas (Aguilar et al., 2009, p.59-62).

Biodigestor: son sistemas naturales que aprovechan los residuos orgánicos de actividades agropecuarias, como el estiércol para producir biogás mediante el proceso de digestión anaerobia (Martí, 2015, p.18-23).

Co-digestión: es la combinación de varias mezclas de sustratos orgánicos que son biodegradables (Campos, Flotats, & Flotats, 2012, p.3).

Demanda Química de Oxígeno: es una medida de la cantidad de oxígeno consumido por la porción de materia orgánica existente en la muestra y oxidable por un agente químico oxidante fuerte (Leon, 2009, p.3).

Digestión anaerobia: es un proceso biológico en el que la materia orgánica, en ausencia de oxígeno, y mediante la acción de un grupo de bacterias específicas, se descompone en productos gaseosos (IDAE, 2007).

Energía renovable: es cualquier forma de energía de origen solar, geofísico o biológico que se renueva mediante procesos naturales a un ritmo igual o superior a su tasa de utilización (Aguilar et al., 2009, p.59-62).

Inóculo: es un grupo de diversas especies microbianas (Mora, Chávez, Fonseca, Cabra, & Carmona, 2005, p.49-63).

Mucílago: es un polisacárido heterogéneo que está compuesto por azúcares y principalmente de ácidos urónicos, se caracteriza por ser viscoso (May, 2009, p.4).

Potencial de biometanización: es aquel que determina el máximo rendimiento de metano y la capacidad de biodegradabilidad de un sustrato (Quintero & Rondón, 2012, p.3)

Sustrato: es una materia prima que sirve de alimento para un grupo de bacterias, las cuales producen metano (Steffen, Szolar, & Braun, 1998, p.4).

Sólidos totales: son la suma de los sólidos suspendidos totales, sales disueltas y materia orgánica (EPA, 1971).

Sólidos volátiles: son aquellos que se volatilizan a una temperatura de 550°C (EPA, 1971).

Tiempo de retención hidráulica: es una relación entre volumen del bioreactor y el caudal de consumo de entrada y salida del bioreactor (Díaz, 2002, p.3).

Estudio de la producción de biogás mediante la co-digestión anaerobia usando como sustrato el mucílago de café y como inóculos el estiércol porcino y estiércol bovino

Por:

Adriana Lucía Mendivelso Castillo

Resumen

Palabras claves: *biogás, mucílago de café, estiércol porcino, estiércol bovino, co-digestión anaerobia.*

Este proyecto de investigación analiza el potencial de producción de biogás a partir del estiércol porcino y estiércol bovino como inóculo utilizando como sustrato el mucílago de café subproducto del beneficio del café, con el objetivo de proporcionar una nueva opción al manejo de estos residuos y la producción natural de una energía alternativa para el acceso de los servicios básicos en zonas rurales. La metodología se llevó a cabo en tres etapas: caracterización de parámetros fisicoquímicos del inóculo y sustrato, medición del potencial de biometanización (PBM) a través de varias mezclas Inóculo/Sustrato y caracterización del biogás generado por las mezclas propuestas en la co-digestión anaerobia (CoDA).

En los resultados obtenidos se pudo ver que el estiércol porcino tiene en sus características condiciones adecuadas para ser utilizado como inóculo en un proceso de digestión anaerobia, mientras que el estiércol bovino tiene una gran capacidad para controlar el pH, sin embargo, tiene bajo rendimiento al generar biogás que puede ser mejorado al complementarse por una mezcla entre los dos. Por otro lado, se observó que al utilizar el mucílago de café en ciertas cantidades se afectaron algunos parámetros fisicoquímicos como la relación SV/ST los cuales están muy relacionados con la generación de biogás. Finalmente se utilizó la estrategia de aclimatación con el fin de obtener mejores resultados en la producción de biogás, se concluyó que al realizar este procedimiento en la CoDA hay un aumento en la acumulación del biogás obtenido

Abstract

Keywords: biogas, coffee mucilage, porcine manure, bovine manure, anaerobic co-digestion.

This research project analyzes the potential of the production of biogas from porcine manure and bovine manure as inoculum using as a substrate the mucilage of coffee byproduct of the coffee benefit, with the aim of providing new option to the management of this waste and production of alternative bioenergy for the access of basic services in rural areas. The methodology was carried out in three stages: measuring the biomethanization potential (PBM) through several mixtures of Inoculum / Substrate and characterization of the biogas generated by the mixtures proposed in the anaerobic co-digestion (CoDA).

The results obtained show that the pig manure has in its characteristics and conditions suitable to be used as an inoculum in an anaerobic digestion process, while the bovine manure has a great capacity to control the pH, nevertheless it has low performance that can be complemented each other by a mixture . On the other hand, the coffee mucilage was used as substrate and it was observed that its use in certain quantities some physicochemical parameters as the SV / ST ratio were affected and these are related with the generation of biogas. Finally, the acclimation strategy was used in order to obtain better results in the production of biogas, it was concluded that when carrying out this procedure in the CoDA there is an increase in the accumulation of the biogas obtained.

Introducción

En las últimas décadas el uso de la tecnología de la digestión anaeróbica se ha difundido ampliamente en los países europeos debido a las herramientas legislativas desarrolladas para incrementar la producción de biogás en los sectores agropecuarios de países como Alemania, China e India. Esta tecnología ha sido implementada para el tratamiento de residuos y el establecimiento de una fuente adicional de ingresos económicos para los agricultores que habitan las zonas rurales en estos países. Contradictoriamente en los países en vía de desarrollo como en Colombia particularmente, no existen instalaciones para la generación masiva de energía a partir de biogás y los escasos sistemas de tratamiento se desarrollan a escala de pequeñas granjas por iniciativa de los propietarios minoristas y fundaciones de cooperación internacional (Cendales, 2011, p.2).

Por lo anterior se puede afirmar que, el deterioro en los ecosistemas rurales es causado en su mayor parte por los residuos ganaderos ligados a los componentes volátiles que emanan en los procesos de transformación de los componentes orgánicos; el origen de estos gases reside en la acción de determinados microorganismos anaerobios sobre las proteínas, los hidratos de carbono y las grasas, dando lugar a compuestos volátiles y a gases como NH_3 , H_2S , CH_4 y CO_2 . Como se puede esperar la incidencia más intensa se producirá en la calidad del aire de los recintos donde se producen y acumulan tales residuos (Mahecha, Gallego, & Peláez, 2002, p. 213-225).

La actividad agropecuaria y el buen manejo de residuos rurales, pueden aportar significativamente a la producción y conversión de residuos animales y vegetales (biomasa) en diferentes formas de energía. Durante la digestión anaerobia de la biomasa mediante reacciones bioquímicas se genera el biogás, el cual está constituido principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). Este biogás puede ser capturado y usado como combustible y/o electricidad (MINENERGIA, PNUD, FAO, & GEF, 2011, p.3).

A partir de la perspectiva de los países desarrollados y en vía de desarrollo, la biotecnología anaeróbica cumple con tres necesidades básicas: a) Mejorar las condiciones sanitarias mediante el control de la contaminación; b) generar energías renovables para actividades domésticas; y c) suministrar materiales estabilizados (bioabono) como un biofertilizante para los cultivos. Por lo tanto, la biotecnología anaeróbica juega un papel importante en el control de la contaminación y la obtención de productos con valor agregados (MINENERGIA et al., 2011, p.3).

Por otra parte, la co-digestión anaerobia (CoDA) puede mejorar el proceso de digestión anaerobia (DA) puesto que hay un mejor balance de carbono y nutrientes. Según Mata-Álvarez, la CoDA de los sustratos en un mismo digestor genera un sinergismo positivo y la producción de otros nutrientes que pueden contribuir al crecimiento microbiano (Corro, Paniagua, Pal, Bañuelos, & Rosas, 2013, p.471-481).

1. Estudio de la producción de biogás mediante la co-digestión anaerobia usando como sustrato el mucílago de café y como inóculos el estiércol porcino y estiércol bovino

1.1 Planteamiento del problema

La actividad agropecuaria genera una cantidad representativa de los gases efecto invernadero (GEI), convirtiéndose en la fuente principal con una contribución alrededor del 35% de las emisiones en todo el mundo. El estiércol de animales contribuye en un 10% de las emisiones de metano y óxido nitroso causado por el mal manejo de los residuos sólidos (Pratt, Redding, Hill, & Jensen, 2015, p.568-576).

En un país agropecuario como Colombia, se destaca el café como un cultivo importante y representativo, en diciembre del 2016 hubo un incremento del 18% en la producción de café (Federación Nacional de Cafeteros, 2014) con una producción de 14'232.000 sacos de café a nivel nacional (Gutiérrez, Campo, & Herrera, 2012, p.881-894). Se estima que de un millón de sacos de café de 60 kg cada uno, generan aproximadamente 55.500 t de mucílago de café, los cuales pueden convertirse en una fuente significativa de contaminación para el suelo y cuerpos de agua (Rodríguez Valencia & Zambrano Franco, 2010, p.4). Este residuo contiene concentraciones significativas de carga orgánica, acidez y sólidos sedimentables que pueden afectar de manera negativa las propiedades fisicoquímicas del agua y el suelo (Quintero & Rondón, 2012, p.3).

Por otra parte los residuos de estiércol producidos por los sistemas ganaderos provocan impactos ambientales negativos como, la acumulación de micro y macro nutrientes en suelo y la contaminación de fuentes hídricas superficiales y subterráneas. La regulación y vigilancia en Colombia sobre el manejo de los residuos animales es escasa, ya que en las normas establecidas no se especifica bien el adecuado tratamiento de estas excretas, restando así la importancia de las emisiones de estos gases en la atmósfera, suelos y agua (Pinos et al., 2012, p.359-370).

Sumado a lo anterior, se generan enfermedades como: asma, pulmonía y enfermedades oculares (específicamente debido al déficit de ventilación que se presenta en las granjas de producción intensiva). Otro impacto está asociado a la presencia de bacterias patógenas como la *Escherichia Coli* que causa diarrea y gases abdominales (LeJeune & Wetzel, 2007, p.4).

Dado los impactos negativos ambientales anteriormente mencionados, se ha generado un gran interés en la mitigación de estos efectos en las zonas rurales. Una solución muy viable y amigable con el medio ambiente es el proceso de co-digestión anaerobia como una alternativa para el tratamiento de residuos sólidos de estiércol animal y de mucílago de café. Esto hará posible la generación de un combustible como fuente de energía alternativa y fertilizante ecológico.

2. Justificación

El agotamiento de las reservas de combustibles fósiles genera la necesidad de tecnologías limpias adaptadas a las posibilidades de los productores agrícolas para el aprovechamiento de los residuos entre otras problemáticas (Rivas et al., 2012, p.872-885). La implementación de estas tecnologías limpias como la digestión anaerobia (DA) trae muchas ventajas, en primer lugar porque es una energía renovable no convencional, la cual se caracteriza por su proceso de transformación y aprovechamiento en energía útil. En segundo lugar, porque aprovecha y reutiliza residuos sólidos como el estiércol, mucílago de café y el biogás, los cuales contribuyen a la reducción de la huella de carbono y el cambio climático de forma directa, e indirectamente por medio de la reducción de las emisiones equivalentes generadas por fuentes fósiles. Además, permite el aprovechamiento de productos secundarios como el abono orgánico (González, 2013, p.1-4).

En cuanto a los productos agrícolas se ha evidenciado que con el tiempo han aumentado su valor progresivamente. Esto genera que las tierras no tengan rendimientos rentables y por lo tanto los agricultores se ven obligados a renunciar a su producción. Sin embargo, la co-digestión anaerobia (CoDA) beneficia económicamente como el mejoramiento en el manejo de los residuos sólidos, la producción del biogás, energía calorífica y energía eléctrica. Paralelamente a nivel ambiental se permite la mitigación de GEI (MINENERGIA et al., 2011, p.3).

En el proceso de la CoDA, la degradación produce metabolitos que presentan un alto poder energético como alcoholes, ácidos orgánicos y metano. Estos productos son utilizados tanto en nutrientes para otros organismos como fuentes energéticas para la sociedad (biogás) (MINENERGIA et al., 2011, p.3). El biogás posee una amplia variedad de usos y constituye una fuente de energía renovable, ya que depende de la biomasa la cual posee características favorables

para el proceso de conversión de los residuos orgánicos como el estiércol a biocombustibles como el metano.

Por estas razones es que la implementación de la CoDA ha tenido en los últimos años un gran auge investigativo, porque trae consigo muchos beneficios ya mencionados para los productores agrícolas en todo el mundo, los cuales forman gran parte de nuestra sociedad. Sin embargo la implementación de estas tecnologías limpias en Colombia y en el departamento de Santander es escasa, ya que no existe una vigilancia reglamentaria con respecto a la gestión de estos residuos (Cendales, 2011, p.4). En contradicción a lo expresado en el plan de desarrollo departamental 2016-2019 en el cual se propone a Santander como un área de alto potencial energético gracias a su biomasa (residuos agrícolas, pecuarios y urbanos) e hidroelectricidad (ríos) (Santander, 2016).

Teniendo en cuenta este potencial los residuos ganaderos han sido implementados en la CoDA puesto que son materiales ricos en nitrógeno y en una amplia variedad de nutrientes que son fundamentales para un crecimiento bacteriano óptimo. La adición de residuos de cultivo como el mucílago de café a la CoDA proporciona un equilibrio en la relación de C/N logrando un rendimiento de biogás estable, además de la disminución en el riesgo de inhibición de amoníaco y acidificación (Zhang, Zhang, Li, & Li, 2016, p.9153-9158).

Por lo anterior se seleccionaron los siguientes inóculos: a) el estiércol porcino, el cual posee un alto contenido de proteínas, lípidos y nutrientes. Este mismo ha sido empleado como sustrato actuando como un eficiente soporte durante el tratamiento de otros residuos (Hernández, Rodríguez, & Andres, 2014, p.112-118). b) el estiércol bovino, el cual tiene altas concentraciones de nitrógeno total que equilibra la relación C/N y posee un efecto amortiguador de amoníaco que ayuda a mantener un pH estable en la CoDA (Zhang et al., 2016, p.9153-9158). Por otra parte los residuos de la extracción del café entre los cuales se encuentra el mucílago de café presentan un poder calorífico de 18000 kJ/kg ST , representando así una fuente importante en la producción de energías renovables, por este motivo fue escogido como sustrato (Battista, Fino, & Mancini, 2016, p.3).

Por todo lo mencionado anteriormente, este proyecto propone el estudio del potencial de producción de biogás generado a partir del estiércol de porcino y estiércol bovino de la Sede “El Limonal” de la Universidad Santo Tomás, utilizando como sustrato el mucílago de café subproducto del beneficio del café, con el objetivo de proporcionar nuevas opciones al manejo de estos residuos y la producción natural de energías alternativas.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar el uso del estiércol porcino y estiércol bovino como inóculos y el mucílago de café como sustrato en procesos de digestión y co-digestión anaerobia para establecer su potencial en la producción de biogás.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar el estiércol porcino, estiércol bovino y mucílago de café mediante la determinación de parámetros fisicoquímicos para controlar el proceso de digestión y codigestión anaerobia.
- Determinar el potencial de biometanización a partir de la caracterización de parámetros fisicoquímicos de los procesos de digestión y co-digestión anaerobia para establecer el mejor sistema de producción de biogás
- Caracterizar el biogás generado por la técnica de cromatografía de gases para determinar su composición.

4. Marco de referencia

4.1 Marco conceptual

4.1.1 Mucílago de café. El mucílago de café (MC) se obtiene a partir de la etapa de desmucilaginado, este contiene aproximadamente 14,85% de humedad del peso del fruto fresco. Se indica el MC posee una relación C/N de 20:1, esto lo hace idóneo como fuente de carbono para la producción de biogás (Quintero & Rondón, 2012, p.3). La densidad del MC es de 1,35 kg/L y el poder calorífico del metano es de 35,78 KJ/L, lo cual nos puede estimar que por cada 1 kg de MC descompuesto se generara una energía en el biogás del orden de 2,00 MJ (Rodríguez & Zambrano, 2010, p.4). En la Figura 1 se observa el mucílago de café (MC) que se utilizó como objeto de estudio.

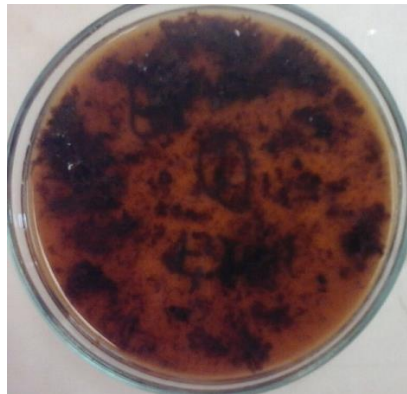


Figura 1. MC obtenido en la etapa de desmucilaginado de la “Hacienda El Roble” Mesa de Los Santos, Santander.

4.1.2 Digestión anaerobia. La digestión anaerobia es la oxidación biológica de la materia orgánica a través de microorganismos específicos en ausencia de oxígeno molecular. En este proceso, la materia orgánica se transforma en productos estables e inertes; y en biogás, el cual está compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono (García, 2009, p.35-49).

Este proceso se considera como uno de los más útiles para la reducción de emisiones de efecto invernadero y el aprovechamiento energético de los residuos orgánicos (Flotats, Campos, Bonmatí, & Palatsi, 2001, p.51-65). En la digestión anaerobia más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se convierte en metano, consumiendo solo un 10% de la energía en el crecimiento bacteriano, mientras que en un proceso aerobio se consume un 50% (Catarina, 2005, p.35-48).

En el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica están involucrados diferentes grupos de bacterias anaerobias facultativas y anaerobias estrictas, las cuales emplean de forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo, como se ve en la Figura 2. El flujo de carbonos y electrones que son producidos durante la degradación anaerobia de los compuestos orgánicos involucran tres grupos tróficos principales (Díaz, Espitia, & Molina, 2013, p. 35):

Grupo I: Bacterias hidrolíticas y fermentativas.

Grupo II: Bacterias acetogénicas.

Grupo III: Bacterias metanogénicas.

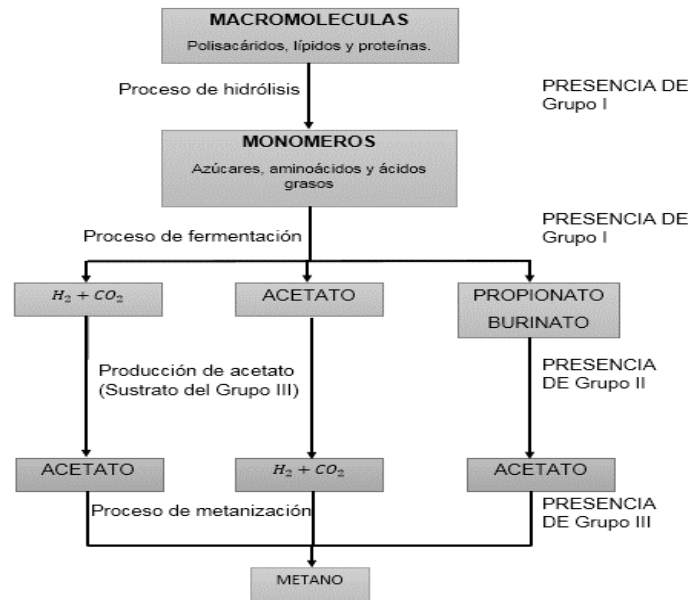


Figura 2. Etapas de la digestión anaerobia y grupos bacterianos presentes en el proceso. Adaptado de “Díaz, C., Espitia, S., & Molina, F. (2013). Digestión Anaerobia. (Universidad Nacional de Colombia, Ed.). Bogotá, D.C”.

La primera etapa de este proceso se inicia con la hidrólisis de moléculas complejas (polisacáridos, proteínas y lípidos) mediante la acción de enzimas extracelulares generadas por los microorganismos acidogénicos o fermentativos (Grupo I), como productos se obtienen compuestos solubles más sencillos (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga), los cuales tienen bajo peso molecular, estos son fermentados por bacterias acidogénicas, dando como resultado ácidos grasos de cadena corta como ácidos acéticos, fórmico, propiónico, butírico y otros productos que son intermedios como el etanol, además de H_2 y CO_2 (Ortega, 2006, p.5). Los ácidos grasos de cadena corta son transformados en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono por la acción de bacterias acetogénicas (Grupo II). Finalmente, las bacterias metanogénicas (Grupo III) convierten el acetato a metano y el dióxido de carbono a metano (Díaz et al., 2013, p. 35).

4.1.2.1 Etapas de la digestión anaerobia

4.1.2.1.1 *Etapa hidrolítica o fermentativa.* Las bacterias hidrolíticas o fermentativas excretan exoenzimas, las cuales provocan la ruptura de los polímeros orgánicos hasta subunidades más pequeñas (azúcares, aminoácidos y grasas) que son transportadas al interior de la célula (Lobato, 2012, p.6), este proceso se ve reflejado en la Figura 3. Los géneros más frecuentes de enzimas que llevan a cabo este proceso son bacteroides y clostridium; y bacterias facultativas como estreptococos (Quintero & Rondón, 2012, p.4). Después de hidrolizar los intermediarios las bacterias fermentativas (bacterias acidogénicas) las convierten en ácidos grasos volátiles, H_2 y CO_2 . Esta etapa es indispensable, ya que los microorganismos de etapas posteriores no son capaces de actuar sobre la materia orgánica no disuelta, así la velocidad de producción de biogás depende de la velocidad de solubilización de la materia orgánica, siendo esta etapa el paso limitante de todos los procesos de digestión anaerobia (Lobato, 2012, p.6).

La hidrólisis depende de la solubilidad, temperatura del proceso, tiempo de retención hidráulico, composición de sustrato (porcentaje de carbohidratos, proteínas y grasas), tamaño de partículas, pH, etc (Ortega, 2006, p.5).

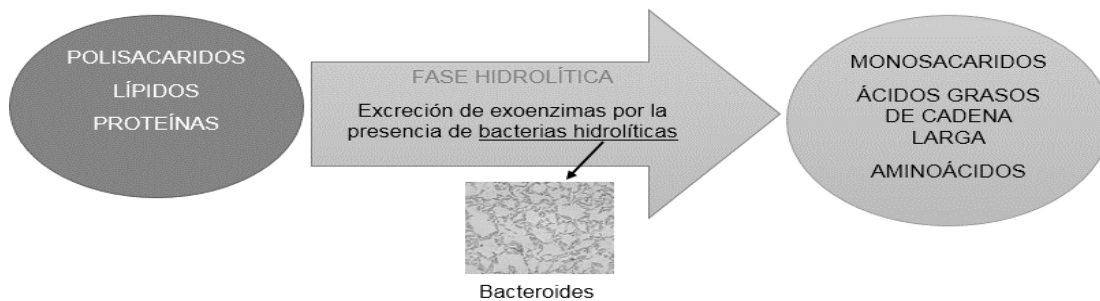


Figura 3. Hidrólisis de biopolímeros. Adaptado de “Lobato, Á. (2012). Estudio de la co-digestión anaerobia de residuos ganaderos con otros sustratos agroindustriales. Universidad de León”.

4.1.2.1.2 *Etapa de bacterias acetogénicas.* Durante el proceso de acetogénesis, los ácidos grasos volátiles junto con el etanol se convierten en acetato, H_2 y CO_2 . Algunos representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*. Estas bacterias tienen un tipo especial de microorganismo llamados homoacetogénicos, los cuales son capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados, dando como resultado el acetato como único producto. En cambio las bacterias acetogénicas no generan hidrógeno como resultado de su metabolismo, sino que lo consumen como sustrato. En esta etapa del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento de la biomasa, eliminando también productos de desecho de sus células. Finalmente, estos productos (ácidos volátiles sencillos) son utilizados como sustrato para las bacterias metanogénicas (MINENERGIA et al., 2011, p.4).

4.1.2.1.3 *Etapa de metanogénesis.* La cuarta etapa es la formación de metano, producido por microorganismos metanogénicos llamados hidrogenotróficos y acetoclásticos. Los hidrogenotróficos son aquellos que producen metano y agua a partir de H_2 y CO_2 , mientras que los acetoclásticos transforman el acetato en metano y CO_2 (Parada, 2011, p.5). Estos son microorganismos estrictamente anaerobios que en concentraciones de oxígeno disuelto del orden de 0,01 mg/L inhiben su crecimiento. Entre los géneros más representativos están las *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, etc (Díaz et al., 2013, p.35).

La metanogénesis es un mecanismo metabólico en donde hay un efecto microbiano, del cual se obtiene metano, agua y ATP. Los microorganismos que realizan este proceso pertenecen al grupo de las Arqueas, específicamente a las *Euryarqueotas*. La mayoría del metano producido biológicamente se origina a partir de aproximadamente 10 sustratos. Dos terceras partes de estos sustratos proviene de la fermentación de acetato y una tercera parte se genera por la reducción de dióxido de carbono (Ferry, 2001, p.6). Las bacterias transformadoras de metano se pueden clasificar según los sustratos en Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas y acetoclásticas, estas actuarán como donadores de electrones (Díaz et al., 2013, p.35).

Las hidrogenofílicas utilizan el hidrógeno para reducir el dióxido de carbono y con ello producir metano. Dentro de los digestores más frecuentes se encuentran bacterias de este tipo como *Methanospirillum* y *Methanobrevibacter*. Las acetoclásticas hidrolizan el acetato, oxidando el grupo carbonilo a dióxido de carbono, reduciendo así el grupo metilo a metano. Aproximadamente

el 70% del metano generado procede de la “descarboxilación del ácido acético” de las bacterias metanogénicas acetoclásticas (Gutierrez et al., 2012, p.881-894). En la Tabla 1 se representan las diferentes condiciones de las bacterias del proceso de digestión anaerobia mencionadas anteriormente.

Tabla 1. *Condiciones óptimas para el desarrollo de microorganismos generados por biogás.*

Parámetros	Bacterias hidrolíticas y acidogénicas	Bacterias metanogénicas
Tiempo de reproducción	De 3 horas a 3 días	De 6 a 14 días
Temperatura óptima	30 – 65°C	37°C o 55°C
Valor pH	<i>Mínimo hasta 3,5 y máximo 7,8</i>	<i>Cerca de 7 – 8</i>
Vitalidad	Robusta, resisten perturbaciones en la temperatura y el pH.	Muy sensibles frente a cualquier perturbación en el pH y la temperatura
Sensibilidad aerobia	Trabajan también ante la introducción de oxígeno cuando se produce en la carga del depósito de hidrólisis	Mueren al contacto con el oxígeno
Producción de biogás	Poca, cantidad de metano 0 – 30%	Alta, cantidad de metano >50%

*Nota** Parámetros a tener en cuenta el crecimiento óptimo de las bacterias metanogénicas, hidrolíticas y acidogénicas las cuales son importantes para la generación de biogás. Adaptado de “Gutiérrez, G. de J., Moncada, I., Meza, M. M., Félix, A., Balderas, J. de J., & Gortáres, P. (2012). Biogás: una alternativa ecológica para la producción de energía. *Concyteg*, 7(85), 881–894”.

4.1.3 Bioreactor. Los bioreactores son contenedores cerrados, herméticos e impermeables, que permiten que la materia orgánica se degrade bajo condiciones técnicamente controladas. Estos fueron diseñados con el objetivo de optimizar la producción de biogás a partir de desechos agrícolas, estiércol o efluentes industriales. Los sustratos ideales para los bioreactores son los desechos orgánicos húmedos como las excretas de origen humano y animal (Luna, 2015, p.25).

4.1.3.1 Clases de bioreactores

4.1.3.1.1 Discontinuas o Batch. En los bioreactores discontinuos la materia prima es sellada durante un tiempo en donde empieza la reacción y la generación de biogás. Al finalizar la producción, el bioreactor es vaciado y se vuelve a llenar (Narvaez & Saltos, 2017, p. 24).

4.1.3.1.2 Continuos. En este tipo de bioreactores es fundamental una alimentación continua de materia prima, es decir que son cargados y descargados periódicamente en cantidades pequeñas (Unidad de Planeación Minero Energética, 2003, p. 35).

4.1.4 Biogás. El biogás es una mezcla constituida fundamentalmente por metano (CH_4) en un 54-70%, dióxido de carbono (CO_2) en un 27- 45%, pequeñas cantidades de hidrógeno (H) en un 1-10%, sulfuro de hidrógeno (H_2S) en un 0,1% y nitrógeno (N) en un 0,3-3%. Las bacterias metanogénicas en efecto forman el último eslabón de la cadena de microorganismos encargados de digerir la materia orgánica y devolver al medio los elementos básicos para reiniciar el ciclo (Migliavacca, 2006, p.15).

4.1.4.1 Factores que afectan la generación de biogás

4.1.4.1.1 Materia Prima. Las materias primas fermentables pueden ser excrementos humanos y animales, aguas residuales orgánicas y desechos orgánicos como restos de cosechas. El proceso microbiológico de esta materia orgánica necesita fuentes de carbono, nitrógeno y un equilibrio de sales minerales como magnesio, hierro, azufre entre otros. Las sustancias orgánicas presentes en el estiércol tienen estos elementos mencionados anteriormente en proporciones óptimas para la producción de biogás (Hilbert, 2010, p.8). En la Tabla 2 se encuentran las diferentes concentraciones de metano en distintas materias primas.

Tabla 2. Cantidad de metano producido por distintas materias primas.

Materia prima	CH ₄ (mL/g SV)
Estiércol porcino	83,9
Estiércol bovino	57,8
Paja de arroz - estiércol porcino	152,3
Paja de arroz - estiércol bovino	121,1

*Nota** Producción de metano a partir de la CoDA de diferentes biomásas, resaltando las seleccionadas para este estudio. Adaptado de “Wei, S., Zhang, H., Cai, X., Xu, J., Fang, J., & Liu, H. (2014). Psychrophilic anaerobic co-digestion of highland barley straw with two animal manures at high altitude for enhancing biogas production. *Energy Conversion and Management*, 88, 40–48.

4.1.4.1.2 Sustrato. Los sustratos utilizados en la digestión anaerobia deben tener algunas características específicas para cumplir su función de alimento en el proceso. Estos deben tener un contenido de materia orgánica seca mayor del 60%, quienes no cumplen este parámetro no se consideran como sustratos representativos para la CoDA. También la proporción de nutrientes en los residuos sólidos a manejar son de gran importancia para el proceso de biodegradación microbiana, ya que es en esta etapa donde se da la formación de los ácidos grasos volátiles los cuales son los sustratos para las bacterias metanogénicas (Steffen et al., 1998, p. 6).

La relación C/N que se mantenga en el proceso de CoDA es muy importante, ya que cuando se obtienen relaciones <20:1 el crecimiento bacteriano no es llevado a cabo, así mismo el sustrato no puede tener una alta relación de C/N, puesto que hay deficiencia de nitrógeno y esto afecta directamente la generación de bacterias. Sin embargo esta relación C/N no puede ser muy baja, debido a que la acumulación de amoníaco es tóxica para las bacterias (Endar, 2009, p.7).

4.1.4.1.3 Inóculo. El tipo de inóculo utilizado en la CoDA es un parámetro básico para este proceso, ya que proporciona al sistema una población microbiana inicial, la cual participará de las reacciones que conforman la biodegradación de la materia orgánica, además de contener macronutrientes que influyen positivamente en la producción de biogás y en la actividad enzimática (Pellera & Gidarakos, 2016). Así mismo la implementación del inóculo adecuado puede aumentar la velocidad de biodegradación, disminuyendo el tiempo de retención y obteniendo la estabilidad del proceso de CoDA (Gu, Chen, Liu, Zhou, & Zhang, 2014, p.149-155).

4.1.4.1.4 *Tiempo de retención*. Es un intervalo de tiempo en el que permanece la materia orgánica dentro del sistema para alcanzar la degradación (Olaya & Gonzalez, 2009, p.6).

Tabla 3. *Tiempo de retención (Tr) según la temperatura.*

Temperatura (°C)	Tr (días)
>45	>8
15 – 35	>20
<15	>100

*Nota** Tr según las diferentes bacterias implicadas que se generan a ciertas temperaturas. Adaptado de “González, L. E. (2015). Evaluación de un sistema de codigestión anaerobia de residuos agropecuarios. Universidad Veracruzana”.

4.1.4.1.5 *pH*. Los microorganismos metanogénicos son muy susceptibles a la variación de acidez/alcalinidad (pH) en la mezcla del bioreactor. Esta variable debe mantenerse en el rango de 6,5 a 7,5 para un funcionamiento óptimo del proceso. Durante el proceso de digestión se producen ácidos orgánicos, los cuales si no se controlan la mezcla del bioreactor puede tornarse ácida, lo que conlleva a la inhibición de los procesos bacterianos y enzimáticos en el bioreactor (Silva, 1989, p.7).

4.1.4.1.6 *Sólidos totales y sólidos volátiles*. El porcentaje de sólidos totales presentes en la mezcla del bioreactor cumplen un papel importante para un potencial de biometanización satisfactorio. El crecimiento de las bacterias metanogénicas se ve limitada a la cantidad de sólidos totales (ST), mientras que los sólidos volátiles (SV) dependerán de los sólidos totales, ya que los SV son la cantidad de ST que se liberan de una muestra a una temperatura de 600°C (MINENERGIA et al., 2011, p.8). En la Tabla 4 y 5 podemos observar los porcentajes de ST y SV en diferentes materias primas.

Tabla 4. *Porcentaje de sólidos totales (ST) en diversos residuos animales.*

MATERIAS PRIMAS	% ST
Estiércol bovino	13,4 – 56,2
Estiércol porcino	15 – 49
Estiércol avícola	26 – 92
Estiércol caprino	83 – 92
Estiércol ovino	32– 46

*Nota** Rango de sólidos totales en diferentes residuos ganaderos incluyendo los seleccionados para este estudio. Adaptado de “MINENERGIA, PNUD, FAO, & GEF. (2011). Manual De Biogás. (Proyecto CHI/00/G32, Ed.)”.

Tabla 5. *Porcentaje de sólidos volátiles (SV) en diversos residuos animales.*

Materias primas	% SV
Estiércol bovino	86,8
Estiércol porcino	83,4
Estiércol de pollo	57,8
Desperdicios de cocina	94,3

*Nota** Rango de sólidos volátiles en diferentes residuos ganaderos incluyendo los seleccionados para este estudio. Adaptado de “Poulsen, T. G., & Adelard, L. (2016). Improving biogas quality and methane yield via co-digestion of agricultural and urban biomass wastes. *Waste Management*, 54, 118–125”.

4.1.4.1.7 Ácidos grasos volátiles (AGV). Los AGV son parámetros de gran importancia en los procesos de digestión anaerobia, ya que estos controlan el adecuado funcionamiento de los bioreactores. Están presentes en la parte final, esta etapa hidrolítica es la más importante puesto que es la fase limitante de los mecanismos posteriores. Además, los AGV controlan las situaciones de acidificación del bioreactor, estas son causadas por desequilibrio y consumo de los mismos, es decir, de los AGV. La acumulación de ellos genera una disminución en el pH que influye en la alcalinidad (AT) del medio (Ortega, 2006, p.7).

4.1.5 Evaluación del potencial de biometanización (PBM). La evaluación del PBM se determina a partir del volumen de metano acumulado por la cantidad de sustrato administrado en SV (mL/g SV), esta expresión establece el máximo rendimiento de metano además de la capacidad de biodegradabilidad de un sustrato (Quintero & Rondón, 2012, p.5). Sin embargo este protocolo no se ha estandarizado, por tal motivo los parámetros no solo dependerán del sustrato sino también del inóculo, teniendo en cuenta las condiciones en que la experimentación se lleve a cabo (Pellera & Gidaracos, 2016, p.3217-3229).

4.2 Antecedentes.

La co-digestión anaerobia ha tenido un gran auge investigativo, actualmente hay una gran base de datos que evidencian varios estudios con respecto a esta tecnología en diferentes zonas rurales en diferentes países, dando uso a distintas biomásas específicamente en heces animales y residuos vegetales.

En Guangzhou, China en 2013 se realizó un estudio sobre la producción de biogás y metano a partir de varias mezclas de desperdicios de cocina, estiércol porcino y paja de arroz manteniendo una temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ y un tiempo de retención de 45 días. Se concluyó que la mejor mezcla fue de 0,4:1,6:1 de desperdicios de cocina, estiércol porcino y paja de arroz respectivamente dando una producción de $674,4 \text{ L de biogas/Kg SV}$ y $383,9 \text{ L de CH}_4/\text{Kg SV}$ (Ye et al., 2013, p.2653-2658).

Otro caso se presentó en Puebla, México en 2013 donde se realizó una CoDA de pulpa de café con estiércol bovino determinando el incremento del biogás y el metano, la mezcla fue de 40% de estiércol bovino y 40% de pulpa de café, controlando una temperatura de 35°C durante 60 días en un digester de 15 L. Se obtuvo aproximadamente 70 L de metano durante el tiempo estimado anteriormente (Corro et al., 2013, p.471-481).

Por otra parte en Colorado, USA en 2013 se investigó las tasas de hidrólisis bajo concentraciones inhibitorias de amoníaco y salinidad para el estiércol y residuos de alimentos. Este estudio se llevó a cabo con inóculos microbianos aclimatados y no aclimatados además de la variante de concentración de amoníaco y salinidad. Se concluyó que la comunidad microbiana cambia en función de la aclimatación y la materia prima, ya que los resultados demostraron que los inóculos no aclimatados inhibieron severamente el proceso de hidrólisis, mientras que en los

inóculos aclimatados la inhibición no era detectable. Por tanto, se comprobó que la composición de la comunidad microbiana cambió durante la aclimatación, siendo también la fuente de alimentación una gran influencia. Finalmente este estudio demuestra como las comunidades microbianas aclimatadas pueden lograr velocidades óptimas en el proceso de hidrólisis y un alto rendimiento en la DA (Wilson, H.Loetscher, E.Sharvelle, & De Long, 2013, p.15-22).

Mientras que en Linzhi, China en 2014 se hizo una CoDA de menos de 80 días a 15°C de estiércol bovino, estiércol porcino y paja de cebada realizando varias mezclas estudiando el incremento de biogás y metano. Se concluyó que la mezcla de paja de cebada y estiércol porcino obtuvo $233,4 \text{ mL de biogas/g SV}$ y $152,3 \text{ mL de CH}_4/\text{g SV}$ la cual fue la que evidencio un mejor rendimiento en el estudio (Wei et al., 2014, p.40-48).

Así mismo en Santander, Colombia en 2014 se realizó un estudio preliminar de la producción de biogás a partir del mucílago de café como sustrato y lodo estiércol porcino como inóculo, en donde se obtuvo $0,73 \text{ m}^3 \text{ de CH}_4/\text{Kg SV}$ utilizando una mezcla de I:S de 2:1 a un pH 7 y una temperatura de 39°C. Por otro lado se ha estudiado la producción de hidrógeno utilizando las mismas materias primas anteriormente mencionadas, comparando tal producción con las diferentes mezclas de I:S, sin embargo la mejor mezcla en la que se obtuvo hidrógeno y metano fue 5:5, en donde se mantuvo un pH estable de 5,5 a 55°C (Hernández et al., 2014, p.112-118).

Más recientemente en Aalborg, Dinamarca en 2016 se colectaron residuos vegetales de cocina, estiércol porcino, estiércol bovino y estiércol de pollo, la investigación tuvo como objetivo la comparación de la mono-digestión y de la CoDA en la producción de metano, teniendo una temperatura de 55°C durante 65 días. La mayoría de la mezclas que se hicieron fueron de 100 g de inóculo y 10 g de biomasa. Se concluyó que en la CoDA la producción de metano oscilo entre 93 y 715 L/Kg SV , mientras que en la mono-digestión la producción de metano oscilo entre 68 y 393 L/Kg SV (Poulsen & Adelard, 2016, p.118-125).

5. Diseño metodológico

Esta investigación se llevó a cabo en tres etapas: caracterización de parámetros fisicoquímicos del inóculo y sustrato, medición del PBM a través de varias mezclas inóculo:sustrato y caracterización del biogás generado por las mezclas propuestas en la CoDA.

5.1 Materiales y métodos

Para el desarrollo del estudio fue necesario el uso de materiales, equipos de análisis, medición y caracterización, además de reactivos. El estiércol bovino fue obtenido de la sede “Limonal” de la Universidad Santo Tomás (USTA), el estiércol porcino fue adquirido de la finca “INEM” vía Piedecuesta y el mucílago de café fue traído de “Hacienda El Roble” vía Mesa de los Santos, Bucaramanga.

5.1.1 Equipos de análisis, medición y caracterización. En este estudio se llevaron a cabo varios procedimientos de análisis, medición y caracterización los cuales se realizaron en los equipos que se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. *Equipos de análisis, medición y caracterización.*

Equipos		Observaciones
Balanza analítica		OHAUS, pesa de 0,0001g-210g
pHmetro digital	electrónico	HACH multiparámetros
Centrifuga		Thermo Scientific, 4000 rpm
Mufla		E&Q MUFLA, X °C
Desecador		DURAN
Cromatógrafo de gases		AT 6890A con TCD y FID
HPLC		Agilent Technologies

*Nota** Diferentes equipos que fueron utilizados para llevar a cabo la investigación propuesta.

5.1.2 Reactivos. En la Tabla 7 se muestran los reactivos utilizados para cumplir con los distintos análisis propuestos en esta investigación.

Tabla 7. *Lista de reactivos utilizados en la metodología.*

Compuesto	Casa comercial	Pureza
Ácido clorhídrico (HCl)	Merck	37%
Hidróxido de sodio (NaOH)	Merck	36,5%
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	Merck	99%
Carbonato de sodio (NAHCO ₃)	Comercial	99%

*Nota** Diferentes reactivos implementados en la investigación propuesta.

5.1.3 Otros. Agua destilada, espátula, micro espátula, pipetas, pipeteadores, pinzas, nueces, mangueras, vidrio reloj, manta de calentamiento, buretas, nevera, cápsulas de porcelana, varillas de vidrios, vasos precipitados, condensador tipo rosario, balones aforados, probetas, embudos de plástico, botellas de plástico, frascos ambar, grafadora.

5.2 Esquema metodológico

En esta sección se propone la metodología correspondiente para cumplir con los objetivos de este estudio. A continuación se mostrará un esquema en la Figura 4 que especifica los diferentes análisis que se realizaron.

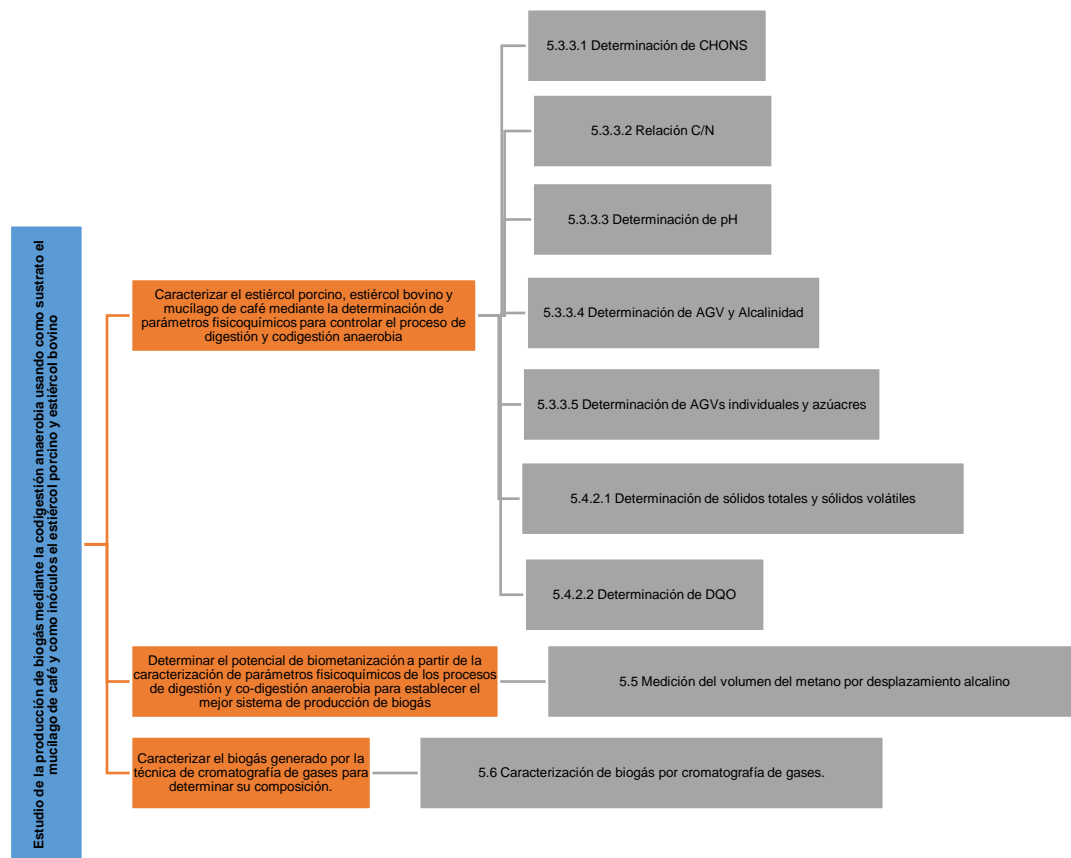


Figura 4. Esquema de la metodología de este cumpliendo los objetivos establecidos.

5.3 Análisis para los procesos de digestión anaerobia

En esta sección se describirá la preparación de las mezclas para digestión anaerobia y los diferentes análisis que se realizaron en ellas.

5.3.1 Preparación de las mezclas para los procesos de fermentación anaerobia.

Inicialmente se tomó un frasco de ambar donde se introdujeron las mezclas representadas en la Tabla 8 en un volumen de 60 mL, en esta tabla se especifica las características de cada una.

Tabla 8. *Mezclas para digestión anaerobia*

Tipo de mezcla	Relación	Observación
Estiércol bovino	3:1	15 g estiércol bovino
Estiércol porcino	3:1	15 g estiércol porcino
Estiércol porcino y bovino	1:1	7,5 g estiércol bovino y 7,5 g estiércol porcino

*Nota** Diferentes mezclas de residuos agroindustriales como estiércol bovino y estiércol porcino.

5.3.2 Aclimatación del inóculo. Inicialmente se empleó una garrafa de 4 L (Reactor 1) que fue ubicada en los laboratorios de la USTA, en donde se realizó una mezcla de estiércol porcino y bovino (EB-EP) 1:1 en un volumen de 2 L, dejando en fermentación durante 15 días, siendo esta mezcla sin aclimatación (SA). Posteriormente pasados los 15 días se tomó del Reactor 1 cinco alícuotas de 55 mL para preparar nuevos reactores con un volumen 100 mL, a los cuales se adicionó 5 mL de mucílago de café (MC) en cada uno.

Luego se tomó un volumen de 917 mL del inóculo (Reactor 1) y se agregó en otra garrafa de 4 L (Reactor 2), posteriormente se adicionó 83 mL de MC en una relación 92:8. Finalmente, el periodo de aclimatación del Reactor 2 fue de 15 días y al cumplir este tiempo se tomaron de este cinco alícuotas de 55 mL para preparar nuevos reactores con un volumen 100 mL, a los cuales se adicionó 5 mL de mucílago de café (MC) en cada uno. Cabe mencionar que el MC utilizado en las mezclas fue previamente regulado a un pH 7 como se indica en el apartado 5.4.1. A continuación, en la Tabla 9 se presentan las condiciones en que se realizó la aclimatación.

Tabla 9. *Condiciones de aclimatación para una mezclas I:S.*

Parámetros	Condiciones de aclimatación	
	EB-EP (Sin Aclimatación)	(EB-EP)+MC (Aclimatada)
Tiempo de aclimatación (días)	15	15
I:S	92:8 % v/v	
Inóculo	917 mL	
Sustrato	83 mL	
Volumen del reactor	4 L	
Volumen de operación	1 L	
Temperatura	Ambiente	
Agitación	Ninguna	

*Nota** Características del reactor para la generación de biogás.

5.3.3 Caracterización fisicoquímica de los procesos de digestión anaerobia (DA). En esta sección se observa las condiciones en que se realizaron todos los parámetros analizados en los procesos de fermentación anaerobia.

5.3.3.1 Determinación estequiométrica de C, H, O, N de las muestras de estiércol porcino, estiércol bovino y mucílago de café. El análisis elemental se realizó en laboratorios especializados, debido a que no se cuenta con los reactivos y equipos necesarios para su determinación.

Para la determinación de análisis elemental de las muestras de estiércol porcino, estiércol bovino y mucílago de café se tuvo en cuenta la concentración de C, H, O, N y S. La muestra se trabajó en base seca y la humedad se hizo a 70°C NTC 35 (Técnica Gravimétrica).

El Carbón orgánico oxidable total se determinó a través del método NTC 5167 WALKLEY BLACK y el Nitrógeno por LBC 7 KLELDAHL (Volumetría). Mientras que para la determinación de Hidrógeno y oxígeno se hizo un análisis bromatológico, en donde vamos a obtener Celulosa, Hemicelulosa, Lignina, Proteína, entre otros. Finalmente se determinó azufre por el método turbidimétrico (NTC 1174).

5.3.3.2 Determinación de la relación C/N. Para determinar la relación C/N del estiércol porcino (EP), estiércol bovino (EB) y el mucílago de café se empleó la Ecuación 1, la cual está relacionada con los resultados estequiométricos CHONS obtenidos en el apartado 6.1.1. A continuación, se muestra la ecuación utilizada según Varnero Ma. Teresa.

Ecuación 1. Determinación relación de C/N

$$\frac{(\text{peso } A * \%C \text{ de } A)(100 - \% \text{ humedad de } A) + (\text{peso } B * \%C \text{ de } B)(100 - \% \text{ humedad de } B) \dots}{(\text{peso } A * \%N \text{ de } A)(100 - \% \text{ humedad de } A) + (\text{peso } B * \%N \text{ de } B)(100 - \% \text{ humedad de } B) \dots}$$

5.3.3.3 *Determinación de pH*. Se tomaron 2 g de muestra, luego se agregó 10 mL de agua destilada (Ye et al., 2013, p.2653-2658) (Wei et al., 2014, p.40-48). Después se llevó a la centrifuga a 4000 rpm por 45 minutos. Posteriormente se extrajo el sobrenadante y se realizó la lectura por triplicado con tiras de pH durante un mes (Céspedes & Meza, 2014, p.6).

5.3.3.4 *Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad (AT)*. Se tomaron 2 g de la muestra por separado en un vaso de precipitado y se le agregó 10 mL de agua destilada, luego se tituló con un solución de HCl a 0,1 N hasta alcanzar un pH de 6,5 de allí a 4,5 y finalmente a 3. Se registró el volumen desplazado entre cada intervalo de pH (Banks & Zhang, 2010, p.9153-9158).

Esta mezcla se vertió en un balón fondo redondo adaptado a un condensador tipo rosario y se llevó a ebullición durante 2 minutos, se repitió el montaje y se llevó a un recipiente con hielo hasta temperatura ambiente, luego se transfirió a un vaso de precipitado y se tituló con una solución de NaOH a 0,1 N hasta alcanzar pH de 6,5 y finalmente se registró el volumen utilizado de NaOH. Se calculó la concentración de AGV y AT a través de las ecuaciones 1 y 2 representadas a continuación (Céspedes & Meza, 2014, p.25).

Ecuación 2. Cálculo para concentración de AGV

$$\frac{\text{Volumen de HCl} * \text{Normalidad} * 60000}{\text{Volumen de muestra}}$$

Ecuación 3. Cálculo para concentración AT

$$\frac{\text{Volumen de NaOH} * \text{Normalidad} * 50000}{\text{Volumen de muestra}}$$

5.3.3.5 *Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) y azúcares individuales.* Para determinar los AGV individuales y azúcares de la muestra por separado; y mucílago de café se empleó el equipo de HPLC de la USTA, Floridablanca; en donde se utilizó una columna Aminex (HPX-87H), en una fase móvil de H₂SO₄ (0,005 M), flujo de inyección de 0,6 mL/min, una temperatura de 50°C, con un detector RID para determinar azúcares y un detector DAD para AGV individuales. Finalmente, se calculó la concentración de los compuestos anteriormente mencionados (Azúcares: glucosa, xilosa, arabinosa y celobiosa. AGV individuales: ácido acético, propiónico, butírico e isobutírico) teniendo en cuenta un factor de dilución 5.

5.4 Análisis para los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA)

En esta sección se describirá la preparación de las mezclas inóculo:sustrato y los diferentes análisis que se realizaron en ellas.

5.4.1 Preparación de mezclas Inóculo:Sustrato (I:S). Inicialmente se tomó un frasco de ambar donde se realizó la mezcla de estiércol porcino, estiércol bovino y el mucílago de café a un volumen de 60 mL. Las condiciones de estas mezclas son representadas en la Tabla 10 que se muestra a continuación. Cabe resaltar que para algunas mezclas el mucílago de café fue regulado a un pH 7 con NaHCO₃ (1,2 N) debido a la facilidad que tiene el sustrato para acidificar el sistema (Martín-Batista, Castro, & Escalante, 2015, p.18-23).

Tabla 10. *Mezclas establecidas para este estudio de producción de biogás.*

Tipo de mezcla	Relación	Observación
Inóculo:Sustrato regulando pHr	3:1	15 g del inóculo y 5 mL de MC
I:S regulando pHr	6:1	15 g del inóculo y 2,5 mL de MC
I:S sin regular pHs	3:1	15 g del inóculo y 5 mL de MC
I:S sin regular pHs	6:1	15 g del inóculo y 2,5 mL de MC

*Nota** Se establecieron diferentes mezclas para CoDA, esta tabla contiene sus respectivas características.

5.4.2 Caracterización de parámetros fisicoquímicos para los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA). Para los procesos de co-digestión anaerobia (Tabla 10) se determinó el pH (apartado 5.3.3.2), ácidos grasos volátiles y alcalinidad (apartado 5.3.3.3), ácidos grasos volátiles y azúcares individuales (apartado 5.3.3.4), relación C/N y humedad (apartado 5.3.3.5). Los análisis mencionados anteriormente se realizaron bajo las mismas condiciones indicadas en los apartados correspondientes. A continuación se mostraran otros análisis que se realizaron únicamente para los procesos de CoDA.

5.4.2.1 Determinación de sólidos totales y sólidos volátiles. Se tomaron las mezclas inóculo:sustrato (Tabla 10) por separado en una cápsula de porcelana fondo redondo y se mezcló con 10 mL de agua, luego se pasó a una estufa a 105°C por 24 horas hasta que la muestra estuvo totalmente seca. Posteriormente se llevó al secador por una hora y finalmente se calcularon los ST en la muestra evaluada teniendo en cuenta la Ecuación 4 (Sluiter et al., 2008, p.15).

Ecuación 4. Determinación del porcentaje de ST

$$\% \text{ Sólidos totales: } \frac{(\text{Peso de la muestra seca con el crisol} - \text{peso del crisol})}{\text{Peso de la muestra inicial}} * 100$$

El residuo obtenido de la determinación de ST se pesó cuando se encontraba a temperatura ambiente y se llevó a una mufla a 550°C por una hora, posteriormente se transfirió al desecador hasta temperatura ambiente y se pesó. Finalmente se calcularon los SV en la muestra analizada. Este procedimiento fue llevado a cabo en las mezclas establecidas en la Tabla 8.(EPA, 1971). El porcentaje de los SV fue calculado a partir de la Ecuación 5.

Ecuación 5. Determinación del porcentaje de SV

$$\% \text{ Sólidos volátiles: } \frac{(\text{Peso muestra de ST} - \text{peso final de la muestra})}{\text{Peso de la muestra inicial}} * 100$$

5.4.2.2 *Determinación de DQO.* Este análisis fue realizado externamente en los laboratorios de la Universidad Industrial de Santander (UIS) en el laboratorio de Digestión Anaerobia. Inicialmente se tomó un volumen de 50 μL del estiércol porcino (EP), estiércol bovino (EB), una mezcla de estiércol porcino y bovino (EB-EP) en una relación 1:1 y mucílago de café; luego se adicionó 2450 μL de agua desionizada y 1500 μL de solución digestora (dicromato de potasio, ácido sulfúrico y sulfato de mercurio), finalmente se introdujo 3500 μL de la solución catalítica (sulfato de plata y ácido sulfúrico concentrado), tal como está establecido en el protocolo del laboratorio (UIS, 2015, p.65).

A continuación, las muestras se agitaron vigorosamente hasta que se obtuvo una mezcla homogénea, previamente se encendió el reactor (Digestor DRB200) y se precalentó a 150°C , los tubos se cerraron herméticamente y se metieron en el digestor en un periodo de 2 horas, posteriormente se sacaron los tubos y se agitaron nuevamente, dejándolos enfriar a temperatura ambiente y en oscuridad durante 12 horas. Finalmente se midió su absorbancia a 690 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Analytik Jena).

5.5 Medición del volumen de metano por desplazamiento alcalino.

Se tomó una botella de vidrio vacía previamente lavada y se agregó NaOH (0,1 N) y fenolftaleína como indicador, a continuación se introdujeron dos mangueras al montaje tal como se observa en la Figura 5. La primera manguera se conectó del frasco de ámbar a la botella de vidrio y la segunda se conectó de la botella de vidrio a una probeta de 50 mL.

Finalmente se registró el volumen desplazado del metano observado en la probeta (Céspedes & Meza, 2014, p.15). Cabe resaltar que estas mezclas I:S fueron evaluadas durante un mes con respecto al volumen de metano obtenido, además de tener un control adicional de ciertos parámetros fisicoquímicos como el pH, ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad (AT).



Figura 5. Montaje para la medición de biometanización por desplazamiento alcalino.

5.6 Caracterización de biogás generado en el bioreactor por cromatografía de gases.

La caracterización del biogás se realizó como servicios técnicos por parte del Laboratorio CROMMASS de la Universidad Industrial de Santander. La determinación de metano, dióxido de carbono, nitrógeno, entre otros se llevó a cabo empleando la técnica de *headspace* estático (*Hewlett-Packard 7694E*), utilizando un cromatógrafo de gases (*Agilent Technologies 6890A*) con detector de conductividad térmica y un detector de ionización en llama (*S-HS/GC/TCD/FID*). Las columnas empleadas fueron: Gs-carbonplot (carbón monolítico, 30 m x 0,53 mm x 3 μm) y HP-PLOT *Molesieve* (zeolita (tamiz molecular 5 Å), 30 m x 0,53 mm x 50 μm). La inyección de la muestra fue en modo *splitless*.

6 Resultados y Análisis

6.1 Caracterización de parámetros fisicoquímicos para los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA)

En esta sección se muestran los diferentes resultados obtenidos al realizar los parámetros fisicoquímicos de los procesos de DA y CoDA.

6.1.1 Determinación estequiométrica de C, H, O, N, S, relación C/N y humedad. Este apartado muestra la caracterización elemental y la humedad del estiércol bovino, estiércol porcino y mucílago de café. A continuación, en la Tabla 11 se puede observar la determinación estequiométrica del C, H, O, N, S en las materias primas utilizadas en este trabajo y con base en esta información se determinó la relación de C/N de los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA), que se observa en la Tabla 12.

Tabla 11. *Determinación estequiométrica del estiércol porcino, estiércol bovino y mucílago de café.*

	Estiércol bovino	Estiércol porcino	Mucílago de café
C (%P/P)	33,41	26,11	29,99
H (%P/P)	4,77	5,3	5,77
O (%P/P)	38,18	42,43	46,14
N (%P/P)	1,24	2,34	3,15
S (%P/P)	0,13	0	0,29
Humedad (%P/P)	83,56	68,12	96,3
C/N	26,94	11,95	9,52

*Nota** Caracterización elemental y determinación de la humedad del EB, EP y MC.

Tabla 12. *Determinación de la relación de C/N y humedad en las mezclas inóculo:sustrato.*

MEZCLA	C/N	Humedad (%P/P)
3:1	14:1	81
6:1	14:1	78,8
Sin aclimatación	14,5	75,8
Aclimatada	13,8	84,0

*Nota** Relación de C/N y humedad de las mezclas establecidas para evaluar la CoDA.

Considerando los resultados en la Tabla 11 y 12 podemos concluir que el estiércol porcino (EP), el mucílago de café (MC) y las mezclas inóculo:sustrato no corresponden con la relación C/N que indica la literatura. Estas mezclas contienen una cierta concentración de nitrógeno el cual no permite que esta relación pueda estabilizarse. Esto se puede concluir a partir de la literatura, la cual señala que la relación C/N debe estar entre 30:1 y 20:1 (MINENERGIA et al., 2011, p.15).

Los resultados anteriores pueden ser influenciados principalmente por la composición del alimento que reciben los cerdos, mientras que el mucílago de café pudo haber presentado un proceso de fermentación, el cual genero la acidificación del mismo alterando negativamente la relación C/N de las mezclas inóculo:sustrato.

6.1.2 Determinación de pH. En esta sección se determinó el pH en las diferentes muestras realizadas en este estudio, siendo este parámetro un importante indicador a controlar en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA).

6.1.2.1 Determinación de pH en procesos de digestión anaerobia (DA). Se determinó el pH de las muestras que van a ser utilizadas como inóculo, con el fin de observar el comportamiento durante un mes en los procesos de DA. A continuación, en la Figura 6 se muestra el pH vs Tiempo de los reactores de DA de estiércol porcino, estiércol bovino y estiércol porcino y bovino.

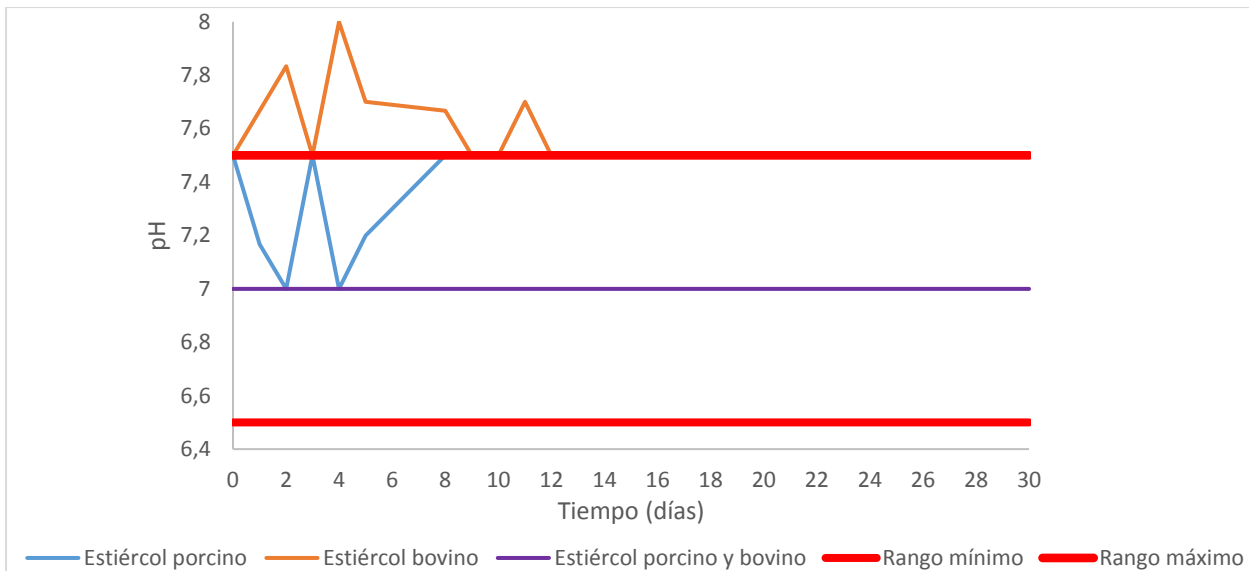


Figura 6. Determinación de pH en estiércol porcino , estiércol bovino y la mezcla de estiércol porcino y bovino.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la Figura 6 se puede establecer que el crecimiento bacteriano se llevó a cabo en condiciones normales, ya que se obtuvo un rango entre 7,0-7,5 aproximadamente en las muestras analizadas; el rango óptimo que determina la literatura está entre 6,5-7,5 (Ye et al., 2013, p.2653-2658)(Cajigas, Pérez, & Torres, 2005, p.243-248; MINENERGIA et al., 2011, p.15).

Por otra parte, se observa que las muestras de estiércol bovino y estiércol porcino, tuvieron alrededor de 10 días para mostrar una conducta estable, mientras que la mezcla de estiércol bovino y porcino (EB-EP) mantuvo un pH de 7 constante durante los 30 días evaluados. Este resultado permite establecer que la mezcla estiércol porcino y bovino es una mezcla idónea para el proceso de DA ya que la generación de microorganismos metanogénicos se puede llevar a cabo correctamente bajo el pH obtenido por esta mezcla.

6.1.2.2 *Determinación de pH en co-digestión anaerobia (CoDA) de las diferentes relaciones I:S.* En el caso de los procesos de CoDA realizados, se puede observar el pH en un periodo de 30 días en la Figura 7 pH vs Tiempo de todas las mezclas inóculo:sustrato, en la gráfica se especifica su relación. I:S.

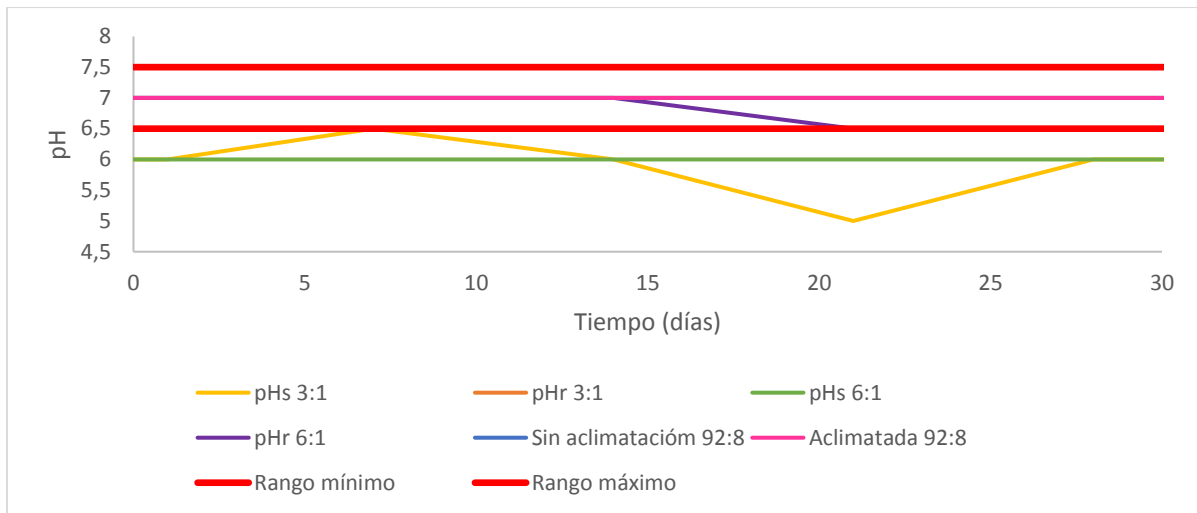


Figura 7. pH vs Tiempo de las mezclas inóculo:sustrato donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café, las mezclas fueron sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatado.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la Figura 7 se observa el cambio del pH al suministrar el mucílago de café puesto que se ve un efecto ácido, especialmente en aquellas mezclas I:S donde no se reguló el pH ya que se encuentran en un rango entre 5.0 - 6.5, probablemente haya inhibición de bacterias metanogénicas y así mismo se veá afectado negativamente la producción de biogás debido a la acidificación del sistema.

En el caso de los reactores de co-digestión anaerobia en los cuales se reguló el pH, se evidencia que durante el periodo evaluado se mantienen dentro del rango (6,5-7,0), el cual se considera óptimo para este proceso, de acuerdo al reportado en la literatura en un rango entre 6,5-7,5 (Silva, 1989, p.160) (Ye et al., 2013, p.2653-2658)(Cajigas et al., 2005, p.243-248; MINENERGIA et al., 2011, p.15).

Finalmente las mezclas I:S que fueron aclimatadas y sin aclimatación cumplieron con el rango óptimo de pH como lo indica la literatura, puesto que su pH se sostuvo en 7, además de tener un comportamiento estable durante el tiempo evaluado.

6.1.3 Determinación de la relación de AGV/AT. En esta sección se calculó la relación AGV/AT tanto en los procesos de digestión anaerobia (DA) como co-digestión anaerobia (CoDA), con el fin de observar y analizar el comportamiento de las diferentes muestras y mezclas durante el periodo de 30 días. Se tuvieron en cuenta los resultados de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad (AT) de las materias primas y todas las mezclas inóculo:sustrato propuestas en este estudio (ANEXOS DEL 3 AL 10).

6.1.3.1 Relación AGV/AT en procesos de digestión anaerobia (DA). A continuación, se observa la Figura 8, donde se muestra AGV/AT vs Tiempo presentando el comportamiento de los procesos de DA establecidos para este estudio.

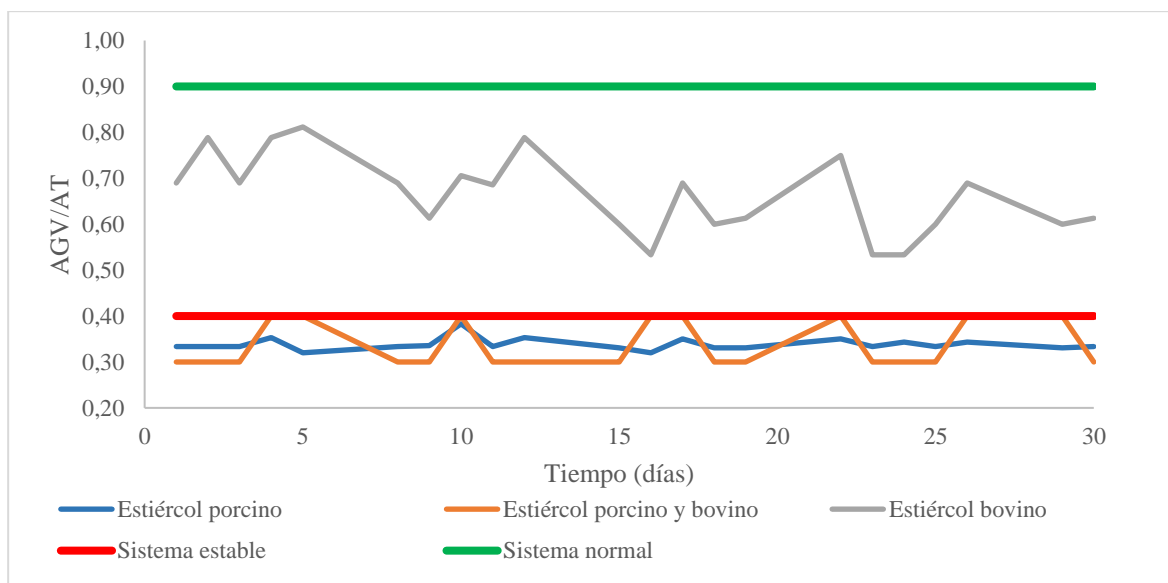


Figura 8. Relación AGV/AT vs Tiempo en procesos de digestión anaerobia (estiércol bovino, estiércol porcino y la mezcla estiércol bovino y porcino).

La Figura 8 muestra la estabilidad de los inóculos y estima el comportamiento que tendrán al interactuar con el sustrato. Se considera un sistema estable cuando la relación AGV/AT se encuentra por debajo de 0,40 (Li et al., 2015, p.6), por tal motivo el estiércol porcino y la mezcla de estiércol porcino y bovino cumplen con la condición, esto se debe a altas concentraciones de alcalinidad (AT) que lograron controlar el pH y la presencia de ácidos en la muestra haciendo un efecto tampón sobre el proceso de DA.

Mientras que el estiércol bovino está en un rango de 0,5-0,8 , en este caso se indica que es un sistema normal, sin embargo puede haber un riesgo de acidificación por acumulación de AGVs afectando el proceso de metanogénesis (Gu et al., 2014, p.149-155).

6.1.3.2 *Relación AGV/AT en los procesos de co-digestión anaerobia.* En esta sección se presenta la Figura 9, donde se evidencia relación de AGV/AT de las diferentes mezclas de inóculo:sustrato evaluadas durante 30 días, cabe resaltar que en la gráfica se especifica la relación I:S de cada mezcla evaluada.

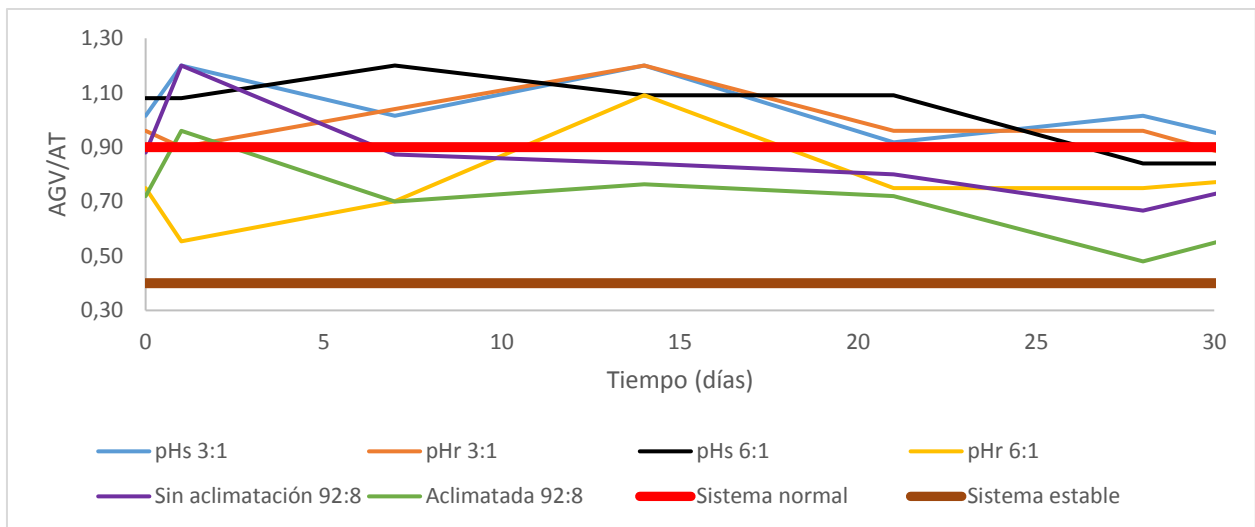


Figura 9. Relación de AGV/AT de las diferentes mezclas de I:S donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café, las mezclas fueron sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatada .

De los resultados que se encuentran plasmados en la Figura 9 se puede observar que el sustrato al ser suministrado en algunas mezclas I:S como Sin regular pH (pHs) 3:1, regulando pH (pHr) 3:1 y (pHs) 6:1 tienen una relación AGV/AT mayor de 0,9, la cual se encuentra por fuera del rango establecido de acuerdo a la literatura, pues debe estar entre 0-0,4 (Li et al., 2015, p.15)(Gu et al., 2014, p.149-155).

Esta tendencia observada podría indicar que estos procesos de co-digestión anaerobia (CoDA) tienen una inhibición del crecimiento en la comunidad bacteriana y la disminución en la

producción de acetato, el cual está relacionado con la generación de metano y el rendimiento de las bacterias metanogénicas (Carmona, Bolívar, & Giraldo, 2009, p.49-63).

Por otro lado, las mezclas (pHr) 6:1, sin aclimatación y aclimatada, se encuentran en condiciones normales con rangos de AGV/AT entre 0,4-0,9 lo que significaría que son sistemas estables para los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA).

6.1.3.3 Determinación y cuantificación de AGVs individuales en DA y CoDA. La determinación de ácidos grasos individuales por la técnica de HPLC permitió hacer el seguimiento de las reacciones metabólicas que se presentaron en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA). A continuación las Figuras 10 y 11 muestran las curvas de calibración del ácido acético, propiónico, butírico e isobutírico que fueron monitoreados dentro del método de caracterización, ya que el primero es común en la etapa de acetogénesis y los últimos son característicos de la etapa acidogénica.(MINENERGIA et al., 2011, p.18)(Parra, 2015, p.142-159). Los tiempos de retención para estos ácidos son: 14.8, 17.5 y 21.5 para el ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico respectivamente.

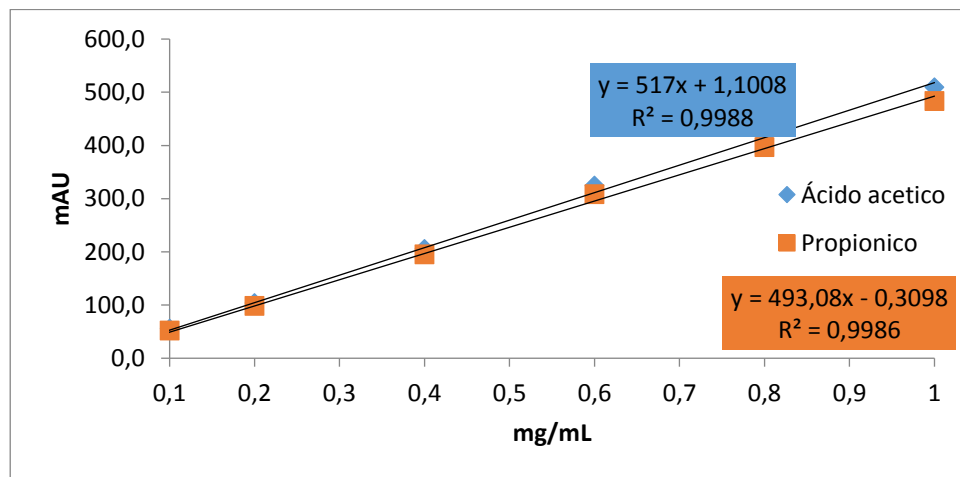


Figura 10. Curva de calibración del ácido acético y ácido propionico

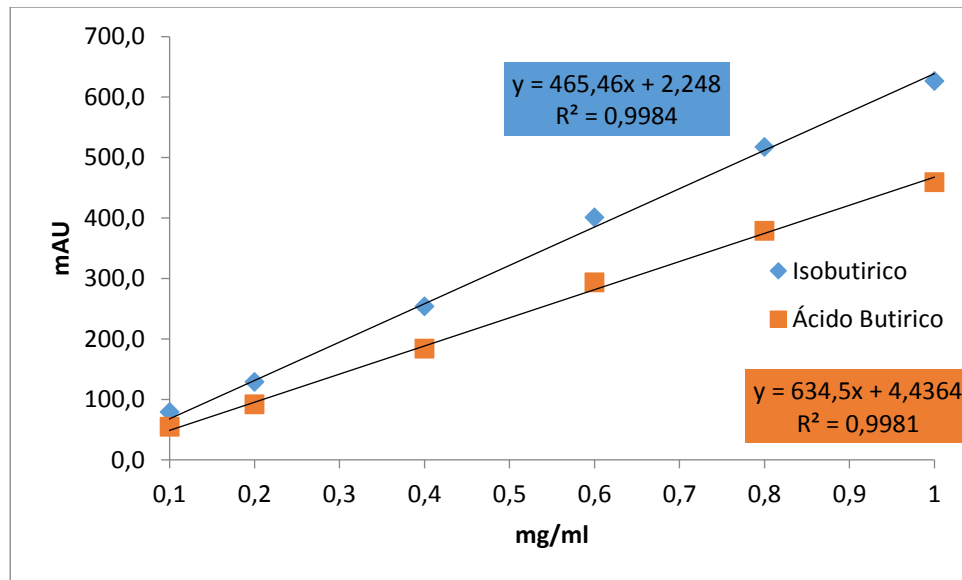


Figura 11. Curva de calibración del ácido isobutírico y ácido butírico

En la figura 10 y 11 se puede observar la ecuación de la recta correspondiente a cada uno de los metabolitos de interés y a su vez se puede evidenciar que el factor de correlación R^2 obtenidos son adecuados para ser una curva representativa con valores de 0,998 (Morales, 2011, p.16). A continuación, se presentan las diferentes concentraciones obtenidas de los AGVs individuales monitoreados, tanto para las muestras de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA). Cabe resaltar que de cada muestra se analizó al inicio y al final del proceso de DA o CoDA. En la Tabla 13 se observa las mezclas que reportaron los AGv individuales identificados anteriormente, cabe resaltar que ninguna de las muestras analizadas reportó la presencia del ácido butírico.

Tabla 13. *Concentración de AGV individuales en los procesos de digestión anaerobia y co-digestión anaerobia.*

Muestra	Ácido acético (mg/mL)	
	Inicio	Final
Mucílago de café	4,55	4,45
	Ácido propiónico (mg/mL)	
Estiércol porcino y bovino	1,18	NR
Sin aclimatación I:S 92:8	1,44	NR
Aclimatada I:S 92:8	1,60	NR
pHs I:S 3:1	0,79	NR
pHs I:S 6:1	NR	1,53

*Nota** Mezclas que reportaron AGV individuales en los procesos de DA y CoDA con su respectiva concentración.

De acuerdo a los resultados reportados anteriormente en la Tabla 13 se observa la concentración los AGVs individuales que se cuantificaron en este método de caracterización en todas las muestras y mezclas establecidas para este estudio. Las muestras que fueron reportadas como mezcla estiércol bovino y porcino, sin aclimatación, aclimatada, pHs 3:1 y pHs 6:1 evidencian que la etapa de acidogénica fue llevada a cabo generando la presencia del ácido propiónico, este ácido puede afectar negativamente al proceso de metanogénesis en las mezclas reportadas anteriormente, ya que está relacionado posiblemente con la producción de hidrógeno y así mismo con la disminución en la obtención de metano (Lee et al., 2015, p.5).

Por otro lado, la presencia del ácido acético está relacionada con la disminución en la producción del metano y el dióxido de carbono. En el caso de las mezclas como mezcla estiércol bovino y porcino, sin aclimatación, aclimatada, pHr3:1 y de algunas materias primas como el estiércol bovino y estiércol porcino, no evidencian la presencia del ácido acético. No obstante, la muestra del sustrato mucílago de café reporta la presencia del ácido acético, esto puede ser un indicio de que el sustrato probablemente ya había comenzado un proceso de fermentación y eso a su vez influyó en la co-digestión anaerobia (CoDA) afectando la producción y calidad del biogás generado.

El ácido butírico no se observa en ninguna de las muestras analizadas anteriormente, aunque este ácido es común en la etapa acidogénica en la digestión anaerobia (DA), probablemente pudo estar por debajo del límite de detección (0,0089 mg/mL) ó probablemente por la completa

consumición del mismo por parte de los microorganismos metanogénicos presentes en los diferentes reactores.(MINENERGIA et al., 2011, p.18; Parra, 2015, p.142-159)

En el caso de las muestras que no mostraron picos característicos para los AGVs monitoreados en esta metodología, probablemente presentan la presencia de otros AGVs individuales que no fueron considerados en el método de caracterización planteado para este estudio, otra hipótesis es que los AGVs identificados para este método estén por debajo del límite de detección (Franke-Whittle, Walter, Ebner, & Insam, 2014, p.2080-2089), como también se puede dar un indicio de la consumición total de los ácidos grasos volátiles no identificados para la producción del biogás, ya que estos ácidos son utilizados frecuentemente como sustrato por las bacterias metanogénicas (Rosenkranz, Rolando, & Maggi, 2013, p.5).

6.1.4 Determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) en co-digestión anaerobia (CoDA). En esta sección se determina la relación SV/ST de los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA), con el fin de evaluar la capacidad del sistema para oxidar la materia orgánica presente en las diferentes mezclas inóculo:sustrato. A continuación, se observa la Figura 12 en la cual se muestra la relación entre SV/ST vs Tiempo.

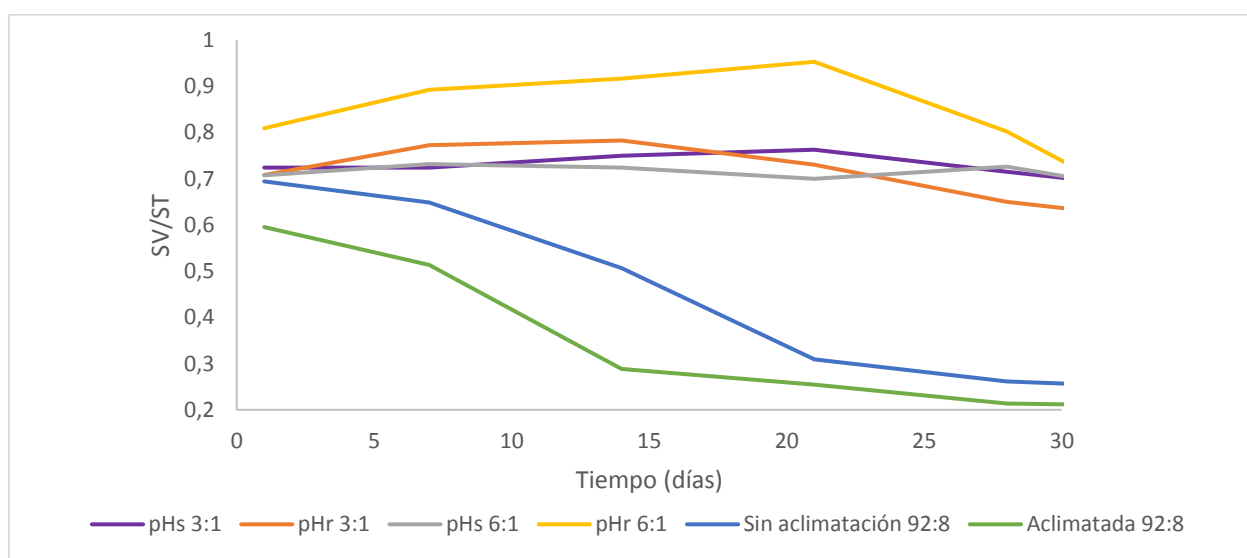


Figura 12. Relación SV/ST de las diferentes mezclas I:S donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café, las mezclas fueron sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatada .

Considerando los resultados obtenidos en la Figura 12 se puede observar que algunas mezclas inóculo:sustrato pHs 3:1, pHr3:1, pHs 6:1 y pHr 6:1 están en un rango entre 0,69 – 0,95, lo cual nos indica que los microorganismos expuestos no tuvieron la suficiente capacidad para degradar la materia orgánica presente inicialmente, incidiendo en la producción de biogás. Mientras que las mezclas sin aclimatación y aclimatada que están en un rango entre 0,20-0,64, evidencian que los microorganismos se adaptaron mejor que las demás mezclas inóculo:sustrato evaluadas al sustrato, degradando la materia orgánica presente en el medio durante el tiempo evaluado. La literatura reporta que esta relación determina que cantidad de materia orgánica está disponible en el sistema (Chen, Romano, & Zhang, 2010, p.61-72).

6.1.5 Determinación de azúcares individuales en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA). En la siguiente sección se determinó la concentraciones de azúcares como glucosa, xilosa, arabinosa y celobiosa en las diferentes muestras y mezclas inóculo:sustrato. Posteriormente se muestra en las Figuras 13 y 14 las distintas curvas de calibración respectivas a los azúcares identificados por el método HPLC. Los tiempos de retención para estos azúcares son: 10.4, 9.5 y 7.3 para la arabinosa, xilosa y celobiosa respectivamente.

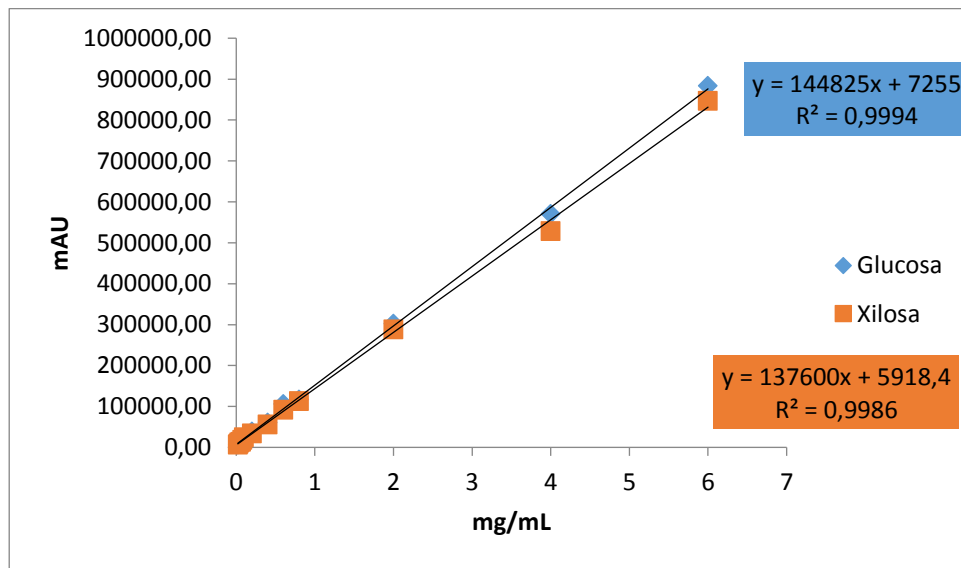


Figura 13. Curva de calibración para glucosa y xilosa.

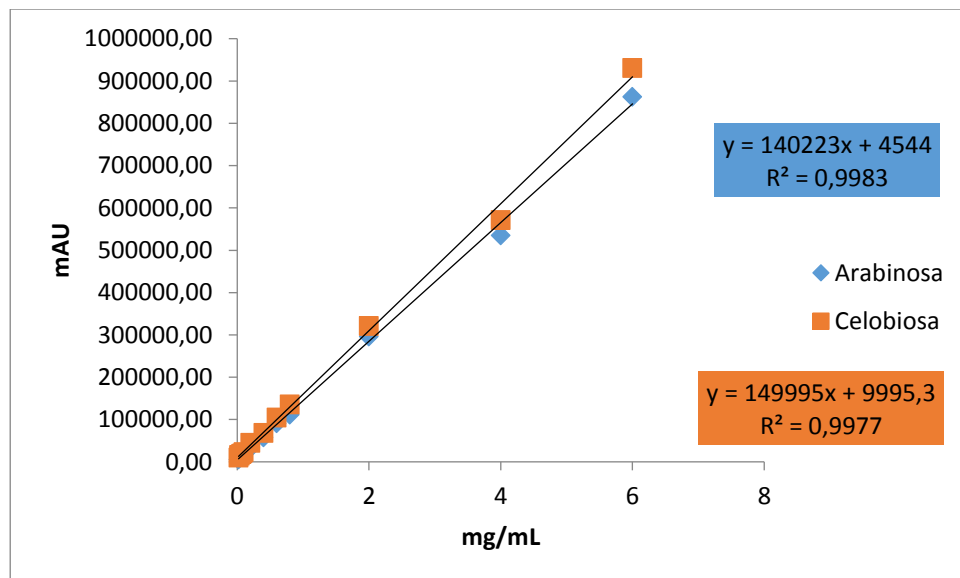


Figura 14. Curva de calibración de arabinosa y celobios.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las Figura 13 y 14 podemos determinar que el factor de correlación es adecuado (0,999 - 0,997), para poder comparar los datos adquiridos y poder cuantificarlos (Morales, 2011, p.15). Las concentraciones de cada analito cuantificado en el método de caracterización de azúcares individuales se observa en la Tabla 14. Cabe resaltar que ninguna de las muestras analizadas reportó la presencia de Glucosa.

Tabla 14. *Concentraciones de azúcares individuales en procesos digestión y co-digestión anaerobia.*

Muestra	Arabinosa (mg/mL)	
	Inicio	Final
Sin aclimatación I:S 92:8	0,05	4,45
Estiércol bovino	0,11	NR
pHr I:S 3:1	NR	0,16
Xilosa (mg/mL)		
Estiércol bovino	0,20	NR
Estiércol porcino	0,21	NR
Sin aclimatación I:S 92:8	0,21	NR
Aclimatada I:S 92:8	1,60	NR
pHr I:S 3:1	NR	0,21
pHs I:S 3:1	NR	0,21
pHs I:S 6:1	NR	0,21
Celobiosa (mg/mL)		
Estiércol bovino	0,33	NR
Estiércol porcino	0,33	NR
Sin aclimatación I:S 92:8	NR	0,18
pHr I:S 3:1	NR	0,33
pHs I:S 3:1	NR	0,33
pHs I:S 6:1	NR	0,33

*Nota** Mezclas que reportaron azúcares individuales en los procesos de DA y CoDA con su respectiva concentración.

Teniendo en cuenta lo reportado anteriormente podemos observar que la etapa de hidrólisis fue llevada a cabo en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA), puesto que se observa la presencia de azúcares reductores comúnmente encontrados en esta etapa del proceso metabólico. Cabe resaltar que la presencia de estos compuestos generan que las otras etapas de la DA finalicen su proceso ágilmente, ya que son azúcares fácilmente solubles por los microorganismos (Quintero & Rondón, 2012, p.25). Por otra parte el mucílago de café (MC) no reporta presencia de azúcares individuales, ya que el límite de detección de la técnica utilizada (0,009 mg/L) no permitió la determinación de los mismos.

6.1.6 Determinación de DQO en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA). En esta sección se muestran los resultados obtenidos de la remoción de DQO (Tabla 15) obtenidos en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA).

Tabla 15. Remoción de DQO en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA).

Muestra	Remoción DQO (%)
I:S 3:1 pHs	13,45
I:S 3:1 pHr	16,69
I:S 6:1 pHs	26,95
I:S 6:1 pHr	7,53
Aclimatada I:S 92:8	36,90
Sin aclimatación I:S 92:8	34,28

*Nota** Diferentes porcentajes de remoción de DQO en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA). Sin regular pH (pHs), regulando pH (pHr), sin aclimatación y aclimatada. Cabe resaltar que el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café.

Considerando los datos obtenidos en la Tabla 15 podemos observar que concentración de remoción de DQO hay en las muestras analizadas. Esta concentración de DQO representa la eficiencia de oxígeno para remover u oxidar la materia orgánica presente en el sistema, teniendo esto en cuenta podemos decir que en las muestras pHs 3:1, pHr 3:1 y pHr 6:1 la comunidad microbiana probablemente no pudo adaptarse adecuadamente al sustrato generando dificultades para degradar esta materia orgánica posiblemente por la presencia de AGVs individuales (0,79-1,53 mg/mL) en el sistema (apartado 6.1.3.3)

Mientras que en la mezclas aclimatada, sin aclimatación y pHs 6:1 se ve un mayor porcentaje en la remoción de DQO, lo cual nos evidencia que hubo una mejor eficiencia de los microorganismos para degradar la materia orgánica influyendo positivamente en la producción de biogás (García-Galindo, Pedroza-Sandoval, Chávez-Rivero, Trejo-Calzada, & Sánchez-Cohen, 2015, p.35-49).

6.2 Medición del biogás acumulado en los procesos de digestión anaerobia (DA) y co-digestión anaerobia (CoDA)

En esta sección se muestra la producción de biogás generado a partir de los procesos de DA como los de CoDA.

6.2.1 Volumen de biogás generado en los procesos de digestión anaerobia (DA). En este apartado se muestran los resultados obtenidos para los procesos de digestión anaerobia (DA). A continuación, la Figura 16 muestra el Volumen de biogás (mL) vs Tiempo (días).

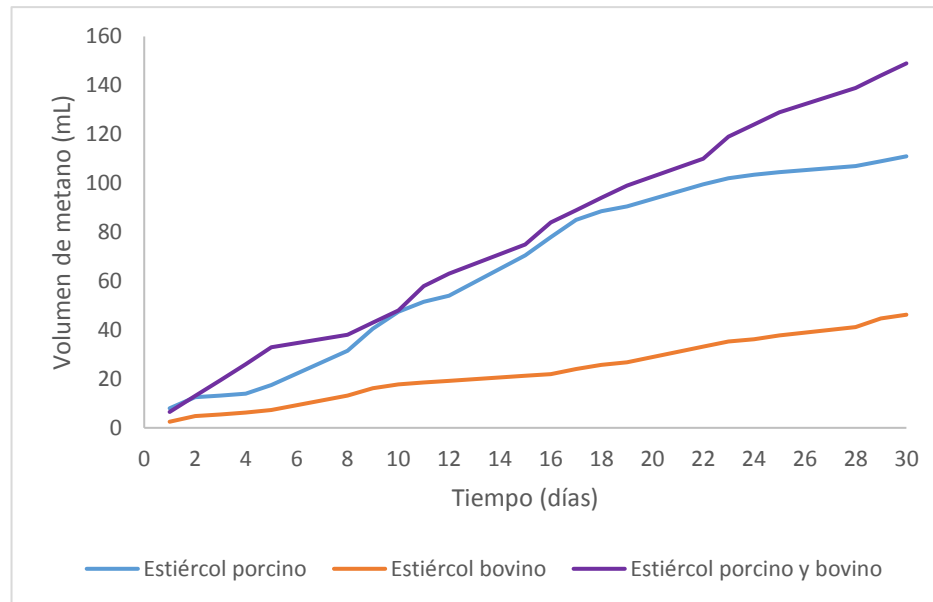


Figura 15. Producción de biogás en los procesos de DA como estiércol porcino, estiércol bovino y la mezcla de estiércol porcino y bovino.

Teniendo en cuenta la Figura 16 se puede observar que el estiércol bovino es el que menos biogás produce durante el tiempo evaluado, esto se debe a los resultados obtenidos en la Figura 8, puesto que la relación AGV/AT estaba en un rango de 0,5-0,8 lo que indica que estiércol bovino generó menos cantidad de ácidos grasos volátiles (AGV) que alcalinidad (AT). Se destaca el volumen de biogás generado por la digestión anaerobia (DA) del estiércol porcino y la mezcla estiércol bovino y porcino con una producción de biogás de 111 mL y 149 mL respectivamente. No obstante podemos concluir que la mezcla de EB-EP tiene el mejor rendimiento en la producción de biogás, esto se debe posiblemente a un sinergismo positivo en la DA que contribuyo positivamente a un mejor crecimiento bacteriano (Corro et al., 2013, p.471-481) y así mismo inhibiendo el exceso de AGV y de amoníaco (Zhang et al., 2016, p.9153-9158).

Cabe resaltar que estos resultados también dependen del tipo de animal y el alimento que se suministra a los mismos, por tal motivo podemos hacer una estimación en la producción de biogás

y la relación idónea al tratar las distintas biomásas (Risberg, Cederlund, Pell, Arthurson, & Schnürer, 2017, p.529-538).

6.2.2 Generación de biogás en los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA) de las diferentes relaciones inóculo: sustrato. En este apartado se observan los resultados obtenidos para los procesos de co-digestión anaerobia (CoDA) del volumen de biogás generado durante un mes (Figura 17).

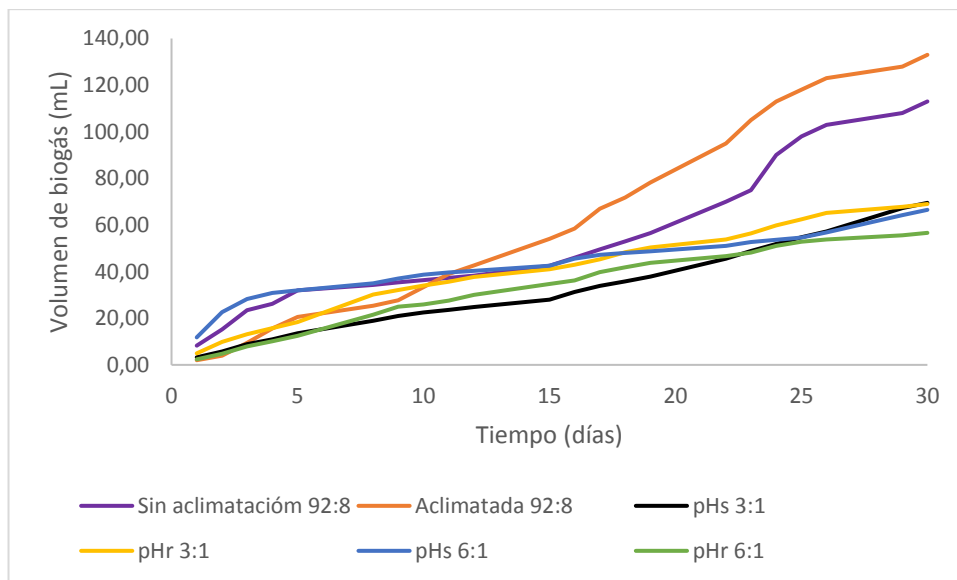


Figura 16. Producción de biogás en los procesos de CoDA de las diferentes mezclas inóculo (Estiércol porcino-bovino):sustrato(MC); donde las proporciones I:S sin aclimatación fueron sin regular pHs 3:1; 6:1 y 92:8; regulando pHr 3:1; 6:1 y 92:8; e inóculo aclimatado pHr 92:8.

Considerando los resultados obtenidos en la Figura 17 se puede observar que al suministrar mucílago de café (MC) la producción del volumen del biogás disminuye especialmente en las mezclas pHs 3:1, pHr 3:1, pHs 6:1 y pHr 6:1 en comparación con las mezclas sin aclimatación y aclimatada, esto se debe a que los microorganismos no se pudieron adaptar adecuadamente al sustrato, posiblemente a la inestabilidad de pH o los tiempos de aclimatación.

La mezcla aclimatada fue la mejor en comparación con las demás mezclas regulando pHr (3:1), pHs 3:1, pHr 6:1, pHs 6:1 y sin aclimatación indicando que la estrategia de aclimatación tiene efectos positivos en la CoDA, ya que obtiene 133 mL de biogás, mientras que las otras mezclas

inóculo:sustrato ya mencionadas oscilan entre 56 y 113 mL de biogás y a su vez estos resultados coinciden con los obtenidos en el potencial de biometanización (PBM), apartado 6.2.

6.3 Determinación del potencial de biometanización (PBM) en la co-digestión anaerobia (CoDA)

Este apartado muestra el potencial de biometanización (PBM) de las mezclas inóculo:sustrato (Estiércol porcino-bovino 1:1 respectivamente) establecidas para llevar a cabo la CoDA en este estudio, donde se tuvo en cuenta el acumulado de biogás generado y los SV de cada mezcla inóculo:sustrato. A continuación, se puede observar la Figura 15 la cual representa PBM (mL CH₄/g SV) vs Tiempo (días).

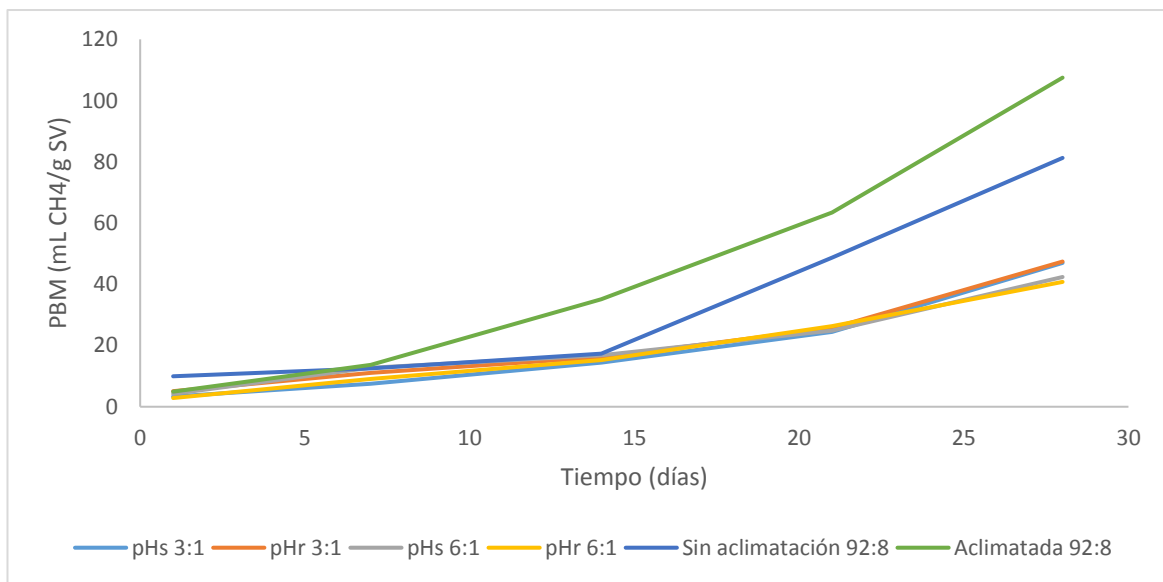


Figura 17. PBM de las diferentes mezclas inóculo (Estiércol porcino-bovino):sustrato(MC); donde las proporciones I:S sin aclimatación fueron sin regular pHs 3:1; 6:1 y 92:8; regulando pHr 3:1; 6:1 y 92:8; e inóculo aclimatado pHr 92:8.

Teniendo en cuenta los resultados en la Figura 15 se observa que las mejores mezclas inóculo:sustrato fue la aclimatada y sin aclimatación con un PBM de 107,5 mL CH₄/g SV y 81,3 mL CH₄/g SV respectivamente, mientras que las otras mezclas I:S alcanzan a tener una diferencia por debajo de hasta de 50 mL CH₄/g SV aproximadamente, con las mezclas aclimatada y sin

aclimatación. De esta manera podemos concluir que la estrategia de aclimatación fue efectiva a la hora de mejorar el potencial de biometanización (PBM) de las mezclas inóculo:sustrato.

6.4 Caracterización de gases en un reactor con y sin aclimatación.

En este apartado se muestran los resultados de la caracterización por la técnica de cromatografía de gases del biogás generado de las mezclas sin aclimatación y aclimatada. A continuación, se observa la Figura 18 con las concentraciones de los gases caracterizados.

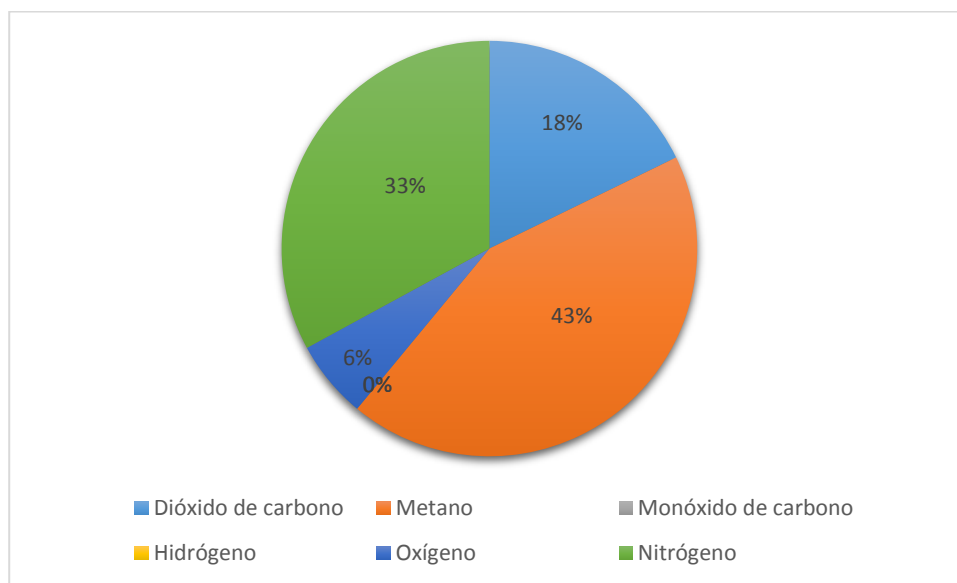


Figura 18. Composición del gas acumulado en un reactor sin aclimatación en una relación 92:8 durante 30 días, donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café.

Considerando los datos obtenidos en la Figura 18 se puede resaltar que la cantidad de dióxido de carbono es mínima, lo cual nos indica que no se generan grandes impactos negativos al medio ambiente con la producción de este gas, ya que este es el principal motivo para el calentamiento global. Por otra parte, se evidencia que 43% del gas es metano, por tal razón se puede concluir que el proceso de metanogénesis se produjo en los sistemas estudiados. A continuación en la Tabla 19 se observa la caracterización de gases en la mezcla aclimatada.

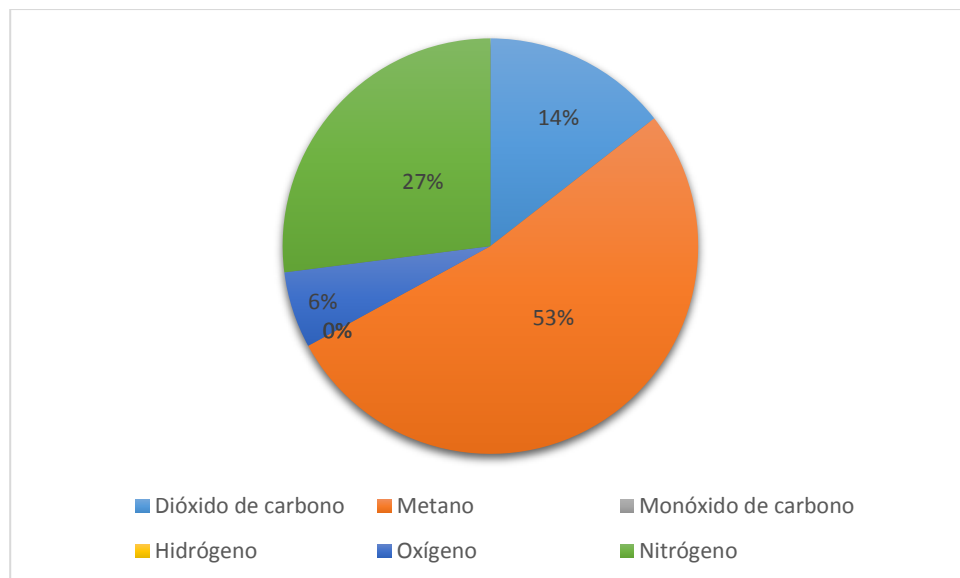


Figura 19. Composición del gas acumulado en un reactor aclimatado en una relación 92:8 durante 30 días, donde el inóculo es una mezcla 1:1 de estiércol bovino y estiércol porcino; y el sustrato es mucílago de café.

En comparación con los datos obtenidos en la figura 19, podemos observar que se obtiene un mayor porcentaje de metano, lo cual nos indica que la aclimatación afectó positivamente la formación de metano con un 53% en la composición del biogás teniendo una diferencia de 10% con la composición del biogás de la mezcla sin aclimatación.

7 Conclusiones y Recomendaciones

- El potencial de biometanización para la mezcla $I_{(\text{porcino-bovino})}:S_{(\text{mucílago de café})}$ aclimatada durante 30 días en una relación 92:8 respectivamente, fue de 107,5 mL $\text{CH}_4/\text{g SV}$; por tal motivo se concluye que la estrategia de aclimatación si es efectiva en el proceso de co-digestión anaerobia ya que este sistema aclimatado aumentó en un 32% su potencial de biometanización con respecto al sistema sin aclimatación con la misma relación inóculo:sustrato.

- En todos los procesos de co-digestión anaerobia, el uso del mucílago de café como sustrato evidencia una disminución en la producción de biogás en comparación con la digestión anaerobia de la mezcla estiércol bovino y porcino hasta un 10%, posiblemente generada por una menor eficacia en la remoción de la materia orgánica y a la facilidad que presenta el sustrato mucílago de café para fermentarse y probablemente por una proporción inóculo:sustrato (92:8) no adecuada, por tal motivo se recomienda un estudio más amplio donde se utilicen varias proporciones inóculo:sustrato, con el fin de observar si hay una mejora en los mismos.

- Comparando los inóculos utilizados en este estudio, se puede concluir que en los procesos de digestión anaerobia a temperatura ambiente y en un periodo de 30 días, el estiércol bovino produce 46,25 mL de biogás, el estiércol porcino mejora la producción de biogás con 111 mL y el uso de la mezcla porcino-bovino (1:1) es considerada como la mejor opción con una producción de 149 mL de biogás.

- El porcentaje de CH_4 del biogás generado en la muestra aclimatada proporción 92:8 inóculo (porcino-bovino): sustrato respectivamente, es del 53% y del 43% en la no aclimatada. Por lo cual se evidencia la efectividad de la aclimatación del inóculo con el sustrato en el aumento la concentración de metano en el biogás y a su vez la disminución en un 4% de la producción de dióxido de carbono.

- Se recomienda tener un control más preciso al mucílago de café una vez obtenido en la industria, debido a su facilidad de acidificación y fermentación, lo cual puede influir en la producción del biogás generado al momento de utilizarlo como sustrato en la co-digestión anaerobia.

- Se recomienda realizar un análisis más detallado en los ácidos grasos volátiles y los azúcares individuales para observar los procesos metabólicos en la digestión y co-digestión anaerobia a partir de estos parámetros, así mismo se recomienda mejorar la el método utilizado en la técnica

HPLC para la caracterización de estos compuestos, utilizando posiblemente otras columnas más específicas para los analitos de interés mejorando su sensibilidad y selectividad en este tipo de muestras, así como también el pretratamiento muestra realizar en la muestra.

- Se recomienda evaluar los resultados estequiométricos C,H,O,N,S para realizar relaciones adecuadas de C/N en los procesos de digestión y co-digestión anaerobia , ya que estos son de vital importancia para garantizar condiciones apropiadas para la producción de biogás.

Bibliografía

- Aguilar, Q., Armijo, C., & Taboada, P. (2009). El Potencial Energético de los Residuos Sólidos Municipales. *Ingeniería*, 13(1), 59–62.
- Álvarez, C. (2009). Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Economía Informa*, (359), 63–89.
- Banks, C. J., & Zhang, Y. (2010). *Optimising inputs and outputs from anaerobic digestion processes*. Southampton.
- 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>
- Cajigas, A., Pérez, A., & Torres, P. (2005). Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. *Scientia et Technica*, (27), 243–248. <https://doi.org/0122-1701>
- Campos, E., Flotats, X. E., & Flotats, X. (2012). *Procesos biológicos: la digestión anaerobia y el compostaje*. (Díaz de Santos, Ed.). Madrid, España: Díaz de Santos.
- Carmona, J., Bolívar, D., & Giraldo, L. (2009). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian Journal of Animal Science and Veterinary Medicine)*, 18(1), 49–63. https://doi.org/http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-23142014000300009
- Catarina, S. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *Revista Científicas de América Latina, El Caribe, España Y Portugal*, 14(1), 35–48.
- Cendales, E. (2011). *Producción de biogás mediante la co-digestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable*. Universidad Nacional de Colombia.
- Céspedes, E., & Meza, E. (2014). *Estudio del uso de la co-digestión anaerobia como alternativa de reducción de la carga orgánica del lactosuero y estabilización microbiana de la biomasa residual*. Universidad Santo Tomás.
- Chen, X., Romano, R. T., & Zhang, R. (2010). Anaerobic digestion of food wastes for biogas

- production. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 3(4), 61–72.
<https://doi.org/10.3965/j.issn.1934-6344.2010.04.061-072>
- Corro, G., Paniagua, L., 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>
- Díaz, B. (2002). *DECAIMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA POR VARIACIONES DEL CLORORESIDUAL ENTRE LA RED DE DISTRIBUCIÓN DISTRITAL Y LA RED DEDISTRIBUCIÓN INTERNA DE LOS USUARIOS*. PhD Proposal. Universidad de los Andes. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Díaz, C., Espitia, S., & Molina, F. (2013). *Digestión Anaerobia*. (Universidad Nacional de Colombia, Ed.). Bogotá, D.C.
- Endar, S. (2009). *Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production*. (Scientific Publishing, Ed.).
- EPA. (1971). *Method 160.4 Volatile solid*.
- Federación Nacional de Cafeteros. (2014). *Area cultivada por departamentos*.
- Ferry, J. (2001). Methanogenesis Biochemistry. In *Life Sciencies*.
- Flotats, X., Campos, E., Bonmatí, A., & Palatsi, J. (2001). Digestión anaerobia de purines de cerdo y co-digestión con residuos de la industria alimentaria. *Porci*, 65, 51–65.
- 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>
- García, K. (2009). *Codigestión anaeróbica de estiércol y lodos de depuradora para producción de biogás*. Universidad de Cádiz.
- García-Galindo, O., Pedroza-Sandoval, A., Chávez-Rivero, J. A., Trejo-Calzada, R., & Sánchez-Cohen, I. (2015). Evaluación de fuentes de materia orgánica fecal como inóculo en la producción de metano. *Tecnología Y Ciencias Del Agua*, 6(2), 35–49.
- González, J. (2013). Alternativas para la reducción de emisiones de metano. *CEGESTI*, (246), 1–4.
- Gu, Y., Chen, X., Liu, Z., Zhou, X., & Zhang, Y. (2014). Effect of inoculum sources on the

- anaerobic digestion of rice straw. *Bioresource Technology*, 158, 149–155.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.011>
- Gutierrez, G. de J., Moncada, I., Meza, M. M., Félix, A., Balderas, J. de J., & Gortáres, P. (2012). Biogás: una alternativa ecológica para la producción de energía. *Concyteg*, 7(85), 881–894.
- Gutiérrez, J., Campo, J., & Herrera, J. P. (2012). Estudios sobre el sector del café en Colombia. *Estudios de Mercado*, (5).
- Hernández, M., Rodríguez, 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>
- Hilbert, J. Manual para la producción de biogas, I.N.T.A. - Castelar 57 (2010).
- IDAE. (2007). *Biomasa: digestores anaerobios*. (S. . BESEL, Ed.), *Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE)*. Madrid, España. <https://doi.org/ISBN-13:978-84-96680-21-0>
- Lee, D. J., Lee, S. Y., Bae, J. S., Kang, J. G., Kim, K. H., Rhee, S. S., ... Seo, D. C. (2015). Effect of Volatile Fatty Acid Concentration on Anaerobic Degradation Rate from Field Anaerobic Digestion Facilities Treating Food Waste Leachate in South Korea. *Journal of Chemistry*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/640717>
- LeJeune, J. T., & Wetzel, A. N. (2007). Preharvest control of Escherichia coli O157 in cattle. *J. Anim. Sci*, 85(13 Suppl), E73–E80. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-612>
- Leon, C. (2009). *Estandarizacion y validacion de una tecnica para medicion de la demanda bioquimica de oxigeno por el metodo respirometrico y la demanda quimica de oxigeno por el metodo colorimetrico*. Universidad Tecnológica de Pereira. Retrieved from repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1780/1/57253L563.pdf
- Li, D., Liu, S., Mi, L., Li, Z., Yuan, Y., Yan, Z., & Liu, X. (2015). Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure. *Bioresource Technology*, 189, 319–326.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.033>
- Lobato, Á. (2012). *Estudio de la co-digestión anaerobia de residuos ganaderos con otros substratos agroindustriales*. Universidad de León.
- Luna, A. T. (2015). *INVESTIGACIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL DESARROLLO, MANEJO Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ALTERNA A PARTIR DE RESIDUOS ORGÁNICOS*. PhD

- Proposal.* Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Madrigal, S. R., Edgar, V., & Peimbert, M. (2010). De la bioenergetica a la bioquimica del ATP. *ContactoS*, 77, 39–45.
- Mahecha, L., Gallego, L., & Peláez, F. J. (2002). Situación actual de la ganadería de carne en Colombia y alternativas para impulsar su competitividad y sostenibilidad. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(2), 213–225. <https://doi.org/ir-ART0000358602>
- Martí, J. (2015). *Desarrollo, difusión e implementación de tecnologías en el área rural: Biodigestores en Bolivia. PhD Proposal* (Vol. 1).
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Martín-Batista, J., Castro, L., & Escalante, H. (2015). Efecto de la carga orgánica de la gallinaza de jaula en el potencial de biometanización. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XVII(1), 18–23. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.39971>
- May, M. (2009). *Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal (Opuntía spp.)*. Universidad autónoma de Querétaro.
- Migliavacca, J. (2006). *Tratamiento anaeróbico de efluentes cítricos con captación de biogás para la reducción de gases de efecto invernadero*. Universidad Tecnológica Nacional.
- MINENERGIA, PNUD, FAO, & GEF. (2011). *Manual De Biogás*. (Proyecto CHI/00/G32, Ed.).
<https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Mora, A., Chávez, C., Fonseca, G., Cabra, J., & Carmona, Y. (2005). Desarrollo de un inóculo microbiano empleando lodos activados para la remoción de ácido sulfhídrico (H₂S). *Revista Colombiana de Biotecnología*, VII(2), 26–34.
- Morales, P. (2011). *El coeficiente de correlacion* (Vol. 48).
- Narvaez, Y., & Saltos, A. (2017). *DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y PUESTA EN MARCHA DE UN BIODIGESTOR TIPO Y BIOABONO A PARTIR DE LA MEZCLA DE ESTIÉRCOL VACUNO Y SUERO DE QUESO*. Universidad de Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1611/1/997.pdf>
- Olaya, Y., & Gonzalez, L. (2009). *Fundamentos para el diseño de biodigestores*.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ortega, N. M. (2006). *Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process*. (Dissertation.com, Ed.), *Digestion*.

- Parada, D. (2011). *Propuesta para la generación de energía alternativa a partir de los residuos sólidos generados en una vivienda rural en Santander*. Universidad Industrial de Santander.
- Parra, R. (2015). Digestión anaeróbica : mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria *. *Producción + Limpia*, 10(2), 142–159.
- Pellera, F., & Gidarakos, E. (2016). Effect of substrate to inoculum ratio and inoculum type on the biochemical methane potential of solid agroindustrial waste. *Biochemical Pharmacology*, 4(3), 3217–3229. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.05.026>
- Pinos, J., García, J., Peña, L., Rendón, J., González, C., & Tristán, F. (2012). Impactos y regulaciones ambientales del estiércol generado por los sistemas ganaderos de algunos países de américa. *AGROCIENCIA*, 46, 359–370.
- Poulsen, T. G., & Adelard, L. (2016). Improving biogas quality and methane yield via co-digestion of agricultural and urban biomass wastes. *Waste Management*, 54, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.05.020>
- Pratt, C., Redding, M., Hill, J., & Jensen, P. (2015). Does manure management affect the latent greenhouse gas emitting potential of livestock manures? *Waste Management*, 46, 568–576. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.08.019>
- Quintero, M. C., & Rondón, Y. (2012). *Estudio preliminar para la producción de biogas a partir de la digestión anaerobia de mucilago de café*. Universidad Industrial de Santander.
- Risberg, K., Cederlund, H., Pell, M., Arthurson, V., & Schnürer, A. (2017). Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. *Waste Management*, 61, 529–538.
- Rivas, B., Zúñiga, G., Sáenz, J., Guerrero, S., Segovia, A., & Morales, H. (2012). Perspectivas de obtención de energía renovable de la biomasa del estiércol del ganado lechero en la región centro-sur de Chihuahua. *REVISTA MEXICANA DE AGRONEGOCIOS*, 30, 872–885.
- Rodríguez, N., & Zambrano, D. (2010). Los subproductos del café: fuente de energía renovable. *Cenicafé*, (3).
- Rodríguez Valencia, N., & Zambrano Franco, D. (2010). Los subproductos del café: fuente de energía renovable. *Avances Técnicos Cenicafé*, (3), 8. <https://doi.org/ISSN-0120-0178>
- Rosenkranz, F., Rolando, P., & Maggi, C. (2013). *Estudio del comportamiento de reactores*

anaerobios de tipo ASBR frente a compuestos de difícil degradación y / o efectores negativos. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

- Santander, G. de. Plan de Desarrollo Departamental Santander Nos Une; 2016 - 2019 (2016). Retrieved from http://www.santander.gov.co/images/cooperacion/plan_de_desarrollo.pdf
- Secretaría de Economía, E. U. M. Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (Cancela a las NMX-AA-020-1980 Y NMX-AA-034-1981), Diario Oficial de la Federación § (2001). México.
- Silva, J. (1989). Tecnología del Biogas. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 160. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Sluiter, A., Hames, B., Hyman, D., Payne, C., Ruiz, R., Scarlata, C., ... Nrel, J. W. (2008). *Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples.*
- Soler, E. Á. (2009). *Biogás: opción real de seguridad energética para México. Agenda.* Instituto Politécnico Nacional.
- Steffen, R., Szolar, O., & Braun, R. (1998). *Feedstocks for Anaerobic Digestion.* (University of Agricultural Sciences, Ed.). Vienna, Austria.
- UIS. (2015). Manual de procedimientos de laboratorio digestión anaerobia.
- Unidad de Planeación Minero Energética. GUÍA PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS, Documento ANC-0603-19-01 § (2003). Colombia. <https://doi.org/ANC-603-19-01>
- Wei, S., Zhang, H., Cai, X., Xu, J., Fang, J., & Liu, H. (2014). Psychrophilic anaerobic co-digestion of highland barley straw with two animal manures at high altitude for enhancing biogas production. *Energy Conversion and Management*, 88, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.08.018>
- Wilson, L. P., H.Loetscher, L., E.Sharvelle, S., & De Long, S. K. (2013). Microbial community acclimation enhances waste hydrolysis rates under elevated ammonia and salinity conditions. *Bioresource Technology*, 146, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.081>
- Ye, J., Li, D., Sun, Y., Wang, G., Yuan, Z., Zhen, F., & Wang, Y. (2013). Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. *Waste Management*, 33(12), 2653–2658. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.05.014>

Zhang, Z., Zhang, G., Li, W., & Li, C. (2016). Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *International Journal of Hydrogen Energy*, *41*(21), 9153–9158. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.02.042>

Apéndices

Apéndice A. Concentraciones de AGV y AT en la DA.

Día	AGV (mg/L)			Alcalinidad (mg/L)		
	PORCINO	INOCULO	BOVINO	INOCULO	PORCINO	BOVINO
1	2400	600	1380	2000	7200	2000
2	2400	600	1380	2000	7200	1750
3	2400	600	1380	2000	7200	2000
4	2490	900	1380	2250	7050	1750
5	2400	900	1380	2250	7500	1700
8	2400	600	1380	2000	7200	2000
9	2520	600	1380	2000	7500	2250
10	2700	900	1200	2250	7050	1700
11	2400	600	1200	2000	7200	1750
12	2490	600	1380	2000	7050	1750
15	2400	600	1200	2000	7250	2000
16	2400	900	1200	2250	7500	2250
17	2520	900	1380	2250	7200	2000
18	2400	600	1200	2000	7250	2000
19	2400	600	1380	2000	7250	2250
22	2520	900	1500	2250	7200	2000
23	2400	600	1200	2000	7200	2250
24	2490	600	1200	2000	7250	2250
25	2400	600	1200	2000	7200	2000
26	2490	900	1380	2250	7250	2000
29	2400	900	1200	2250	7250	2000
30	2400	600	1380	2000	7200	2250

Anexo B. Concentraciones de AGV y AT en la CoDA.

D= 5 mL de MC y 15 g de inóculo a 60 mL

Semana	Alcalinidad (mg/L)		AGV (mg/L)	
	pHs	pHr	pHs	pHr
0	3250	3750	3300	3600
1	3250	4000	3900	3600
2	3250	3750	3300	3900
3	3250	3250	3900	3900
4	4250	3750	3900	3600
5	3250	3750	3300	3600
6	3750	4250	3000	3000

S= 2,5 mL de MC y 15 g de inóculo a 60 mL

Semana	Alcalinidad (mg/L)		AGV (mg/L)	
	pHs	pHr	pHs	pHr
0	2500	4000	2700	3000
1	2500	3250	2700	1800
2	2250	3250	2700	2280
3	2750	2750	3000	3000
4	2750	4000	3000	3000
5	2500	4000	2100	3000
6	2500	4000	2100	3300
PROMEDIO	2542	3542	2600	2730

SIN ACLIMATACIÓN ACLIMATADO

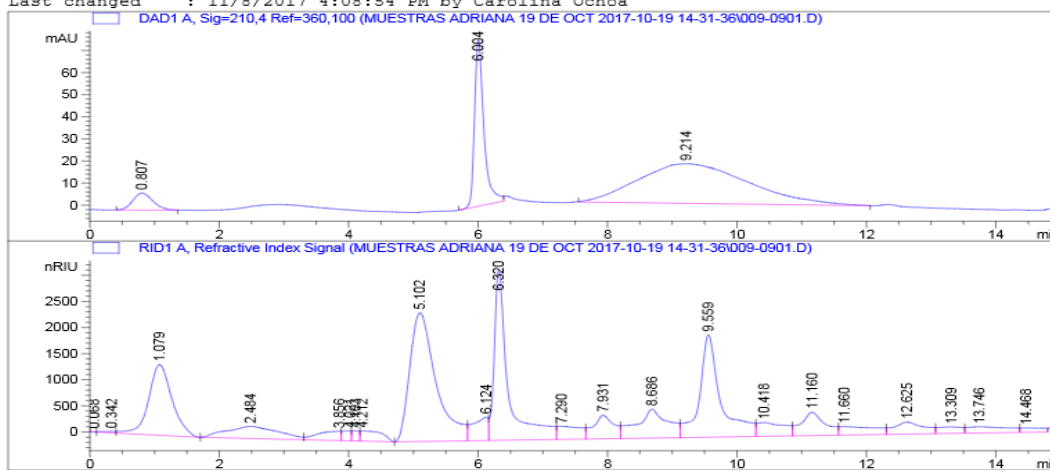
Semana	Alcalinidad (mg/L)		AGV (mg/L)	
	SA	A	SA	A
0	2250	2500	2700	2400
1	2750	3000	2400	2100
2	2500	2750	2100	2100
3	2250	2500	1800	1800
4	2250	2500	1500	1200

Anexo C. Cromatografía en HPLC del EB.

Sample Name: B1

```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line :    9
Acq. Instrument : HPLC                    Location  : Vial 9
Injection Date  : 10/19/2017 4:46:01 PM   Inj       :    1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 10/19/2017 2:31:34 PM by Carolina Ochoa
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
    
```

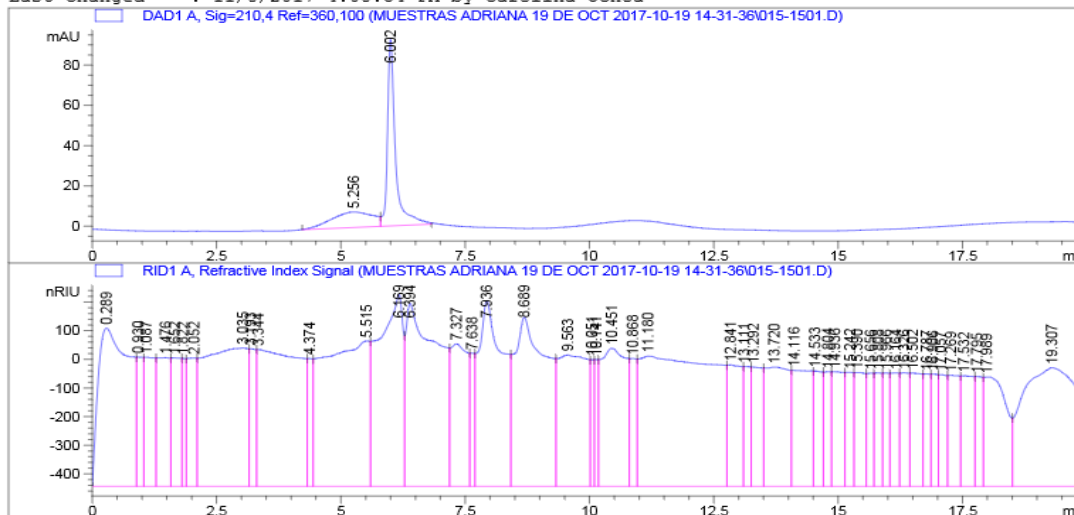


Anexo D. Cromatografía en HPLC del EP.

Sample Name: P1

```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line : 15
Acq. Instrument : HPLC                   Location  : Vial 15
Injection Date  : 10/19/2017 6:43:12 PM   Inj       : 1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 10/19/2017 5:42:44 PM by Carolina Ochoa
(modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
    
```

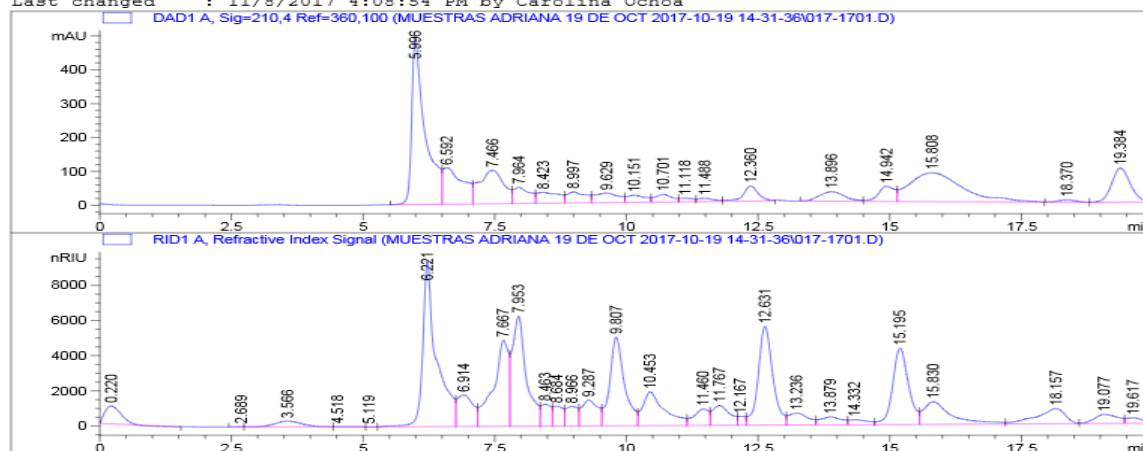


Anexo E. Cromatografía en HPLC del MC.

Sample Name: MC1

```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line : 17
Acq. Instrument : HPLC                   Location  : Vial 17
Injection Date  : 10/19/2017 7:26:46 PM   Inj       : 1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 10/19/2017 5:42:44 PM by Carolina Ochoa
(modified after loading)
Analysis Method: C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
    
```

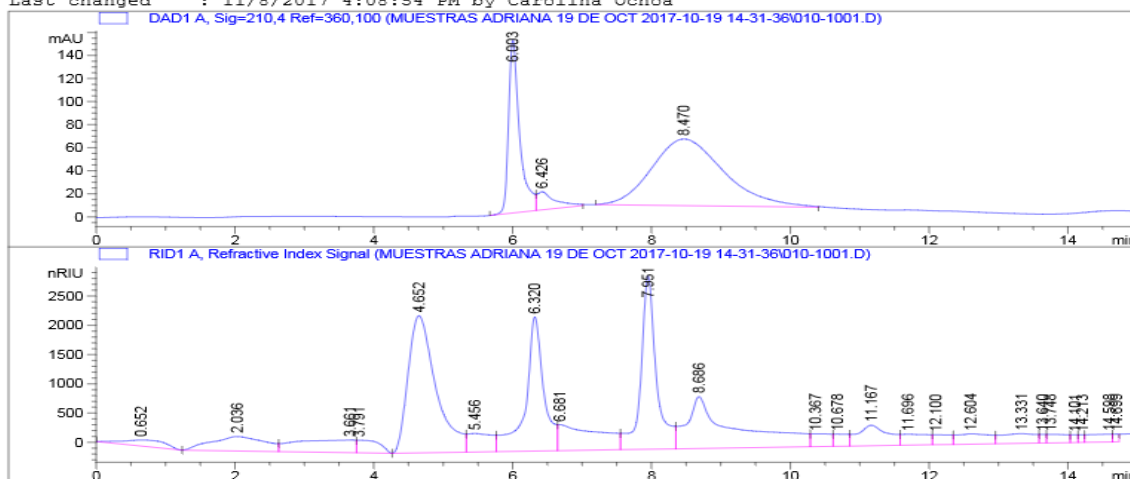


Anexo F. Cromatografía en HPLC del EB-EP.

Sample Name: I1

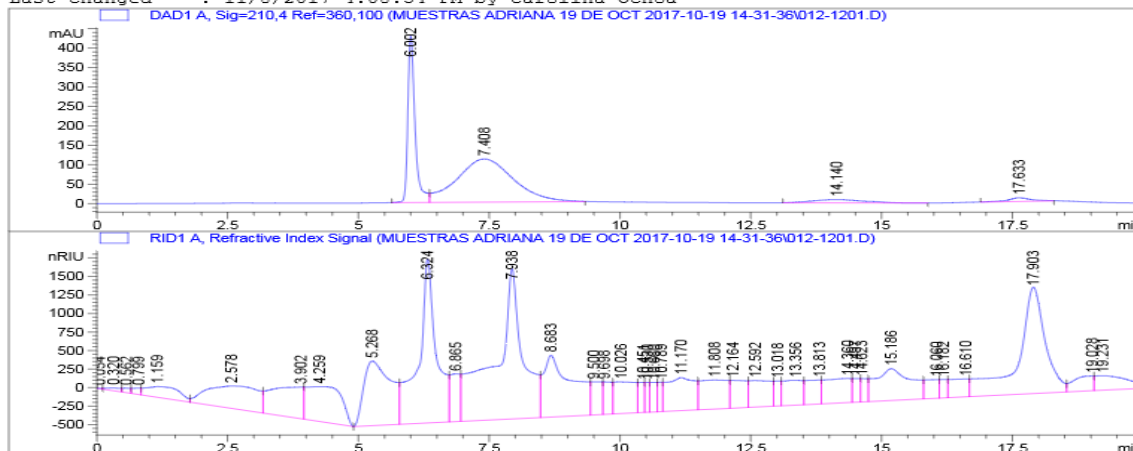
```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line : 10
Acq. Instrument : HPLC                   Location  : Vial 10
Injection Date  : 10/19/2017 5:03:14 PM   Inj       : 1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 10/19/2017 2:31:34 PM by Carolina Ochoa
Analysis Method: C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
    
```



Sample Name: D1

```
=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line : 12
Acq. Instrument : HPLC                    Location  : Vial 12
Injection Date  : 10/19/2017 5:37:56 PM   Inj       : 1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 10/19/2017 5:42:44 PM by Carolina Ochoa
                 (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
=====
```

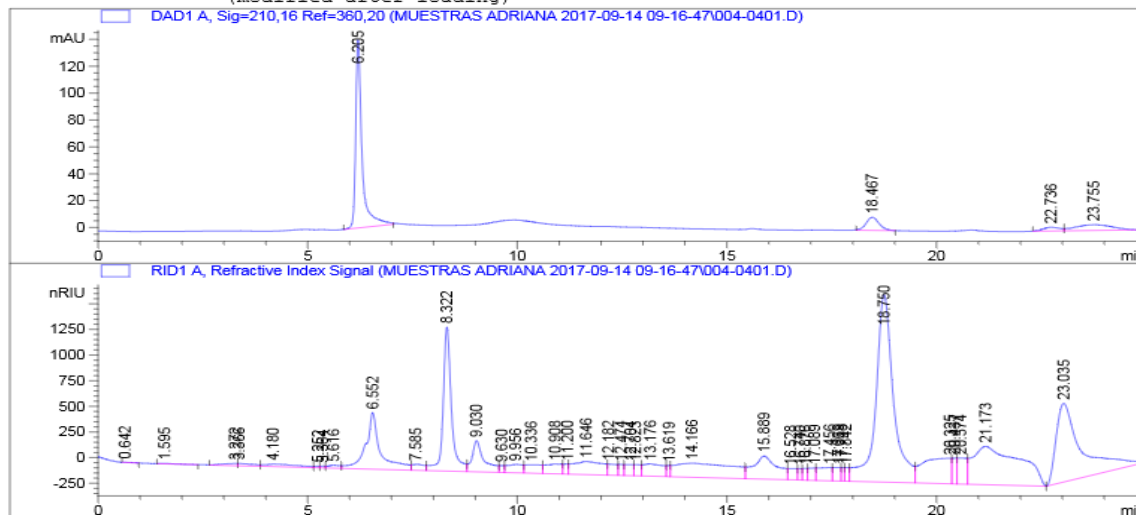


Anexo H. Cromatografía en HPLC del pHr3:1.

Sample Name: DC1-10

```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line :    4
Acq. Instrument : HPLC                   Location  : Vial 4
Injection Date  : 9/14/2017 10:37:01 AM   Inj       :    1
                                           Inj Volume: 10.0 µl
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 2017-09-14 09-16-47\ANGIE.M
Last changed   : 9/14/2017 9:16:08 AM by Carolina Ochoa
Analysis Method: C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 2017-09-14 09-16-47\ANGIE.M
Last changed   : 9/14/2017 9:50:53 AM by Carolina Ochoa
                (modified after loading)
    
```

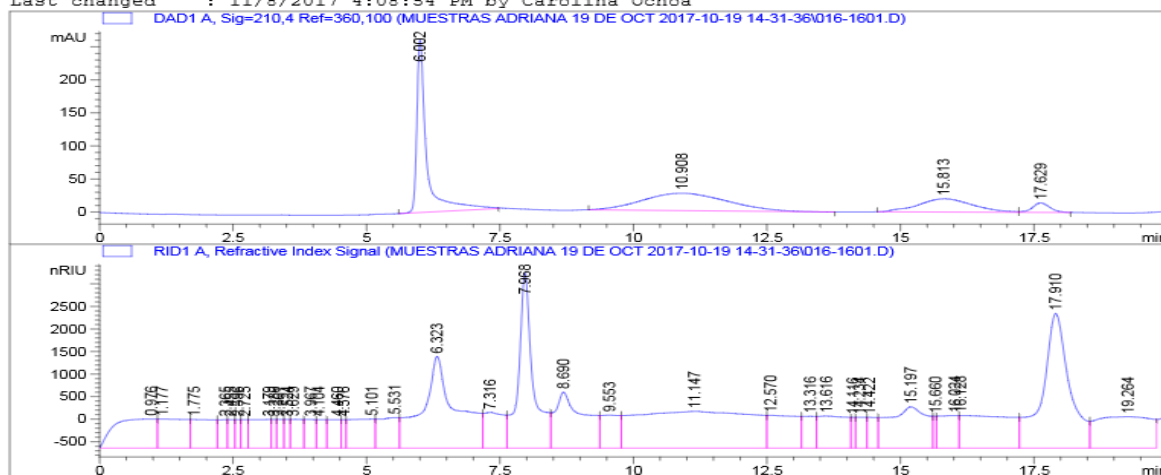


Anexo I. Cromatografía en HPLC del pHs 6:1.

Sample Name: S6

```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line : 16
Acq. Instrument : HPLC                   Location  : Vial 16
Injection Date  : 10/19/2017 7:04:59 PM   Inj       : 1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 10/19/2017 5:42:44 PM by Carolina Ochoa
                                           (modified after loading)
Analysis Method: C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed   : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
=====
    
```

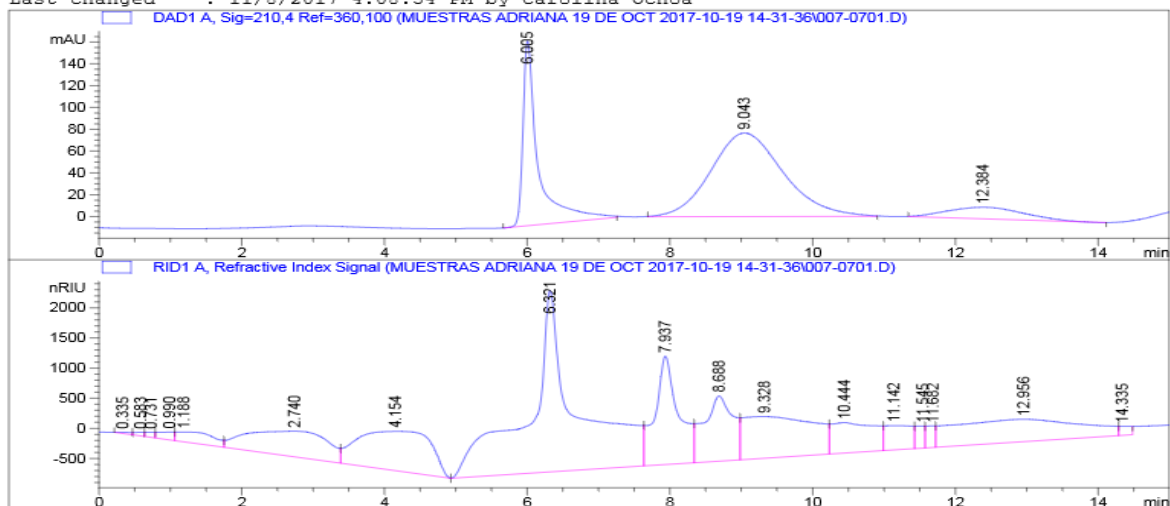


Anexo J. Cromatografía en HPLC del pHr6:1.

Sample Name: SC8

```

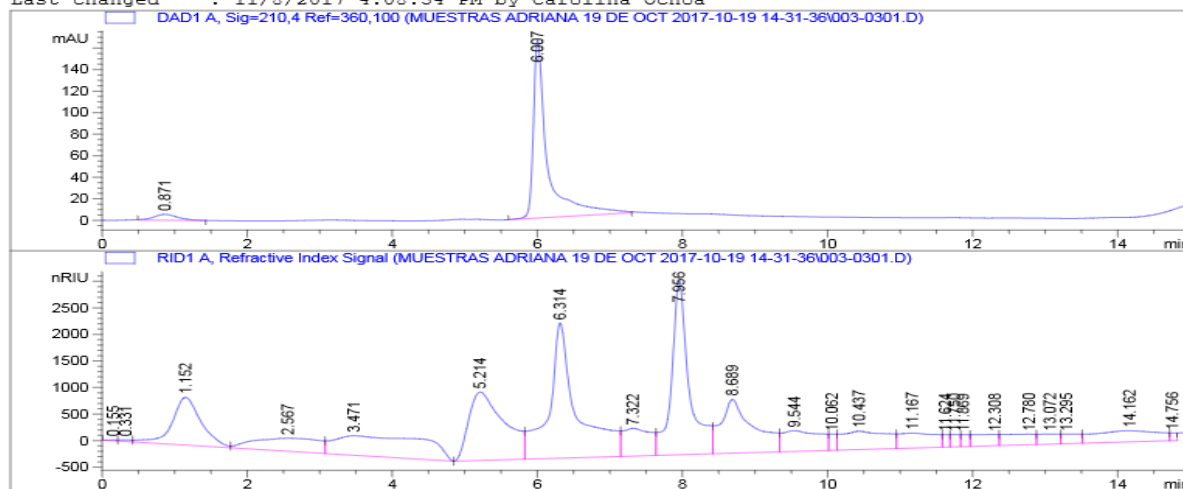
=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line :    7
Acq. Instrument : HPLC                    Location  : Vial 7
Injection Date  : 10/19/2017 4:12:24 PM   Inj       :    1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 10/19/2017 2:31:34 PM by Carolina Ochoa
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
    
```



Anexo K. Cromatografía en HPLC del SA.

Sample Name: M5

```
=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line :    3
Acq. Instrument : HPLC                    Location  : Vial 3
Injection Date  : 10/19/2017 3:05:21 PM    Inj       :    1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 10/19/2017 2:31:34 PM by Carolina Ochoa
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
=====
```



Anexo L. Cromatografía en HPLC del A.

Sample Name: A1

```

=====
Acq. Operator   : Carolina Ochoa           Seq. Line :    8
Acq. Instrument : HPLC                   Location  : Vial 8
Injection Date  : 10/19/2017 4:29:11 PM   Inj       :    1
                                           Inj Volume: 20.0 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\MUESTRAS ADRIANA 19 DE OCT 2017-10-19 14-31-36\AZÚCARES Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 10/19/2017 2:31:34 PM by Carolina Ochoa
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\081117 CURVA AZUCAR 2017-11-09 11-06-46\AGVS Y
METABOLITOS.M
Last changed    : 11/8/2017 4:08:54 PM by Carolina Ochoa
    
```

