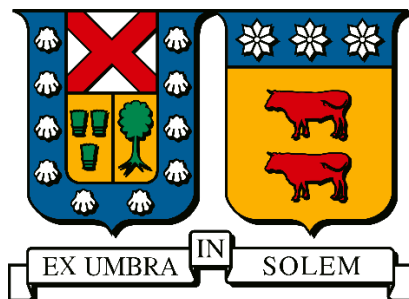


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAISO-CHILE



*“Comparación de estrategias de producción de
ácidos grasos volátiles a partir de residuos
orgánicos”*

Matías Gacitua Valenzuela

Tesis para optar al grado de Magíster en
Ciencias de la ingeniera Química

Profesora Guía: Dra. Andrea Carvajal Guevara

Marzo 2024

Agradecimientos

Quiero agradecer en primera instancia a la Universidad Técnica Federico Santa María, en especial al departamento de ingeniería química y ambiental, por brindar los conocimientos, las herramientas y el apoyo, que ha logrado formarme como un ingeniero químico.

Quiero manifestar mi gratitud hacia el Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad Técnica Federico Santa María y al Instituto de la Grasa, perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas de España, por facilitar las instalaciones, los equipos y los insumos para llevar a cabo esta investigación.

Agradecer al grupo de investigación de revalorización de residuos del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la UTFSM, en especial mención a la Dra. Andrea Carvajal, por entregar sus conocimientos, por guiar y apoyar este trabajo. También agradecer al grupo de digestión anaerobia del Instituto de la Grasa, por brindar su apoyo técnico en la fase de experimentación de este trabajo de tesis.

Quiero hacer mención honrosa al Fondecyt Regular nº1210032 de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile por financiar esta investigación. También a la UTFSM por brindar becas de arancel, mantención de postgrado y la beca Federico Santa maría que me apoyaron económicamente durante mis estudios.

Agradezco a mi familia, amigas y amigos, en especial a mi madre Teresa, mis amigas, Cecilia, Javiera, Mariana y Emily por otorgar su apoyo incondicional a lo largo de mis estudios y brindar momentos de felicidad durante mi época universitaria. También quiero agradecer a la iniciativa estudiantil “Diversidad y Disidencias de Genero USM”, por otorgar apoyo emocional y motivarme a ser un referente del colectivo LGBTIQ+ en carreras STEM.

Agradecer a mis mascotas, mis gatos, Roma y Anovergeso, a mis perros, Moro, Sam, Thor y Odín por ser el motor de querer hacer un mundo más sustentable y sostenible a través de

la investigación. También quiero agradecer a Blackpink y a Taylor Swift por entregar su arte a través de su música que me mantuvo alegre durante mis estudios.

Finalmente, quiero agradecerme, por creer en mí, por trabajar duro durante el pregrado y el postgrado, por nunca rendirme, por mantenerme siempre motivado, por dar lo mejor de mí, por luchar contra los estereotipos y la discriminación, por esforzarme en lo que creo que es correcto para este mundo y por siempre mantenerme como prioridad.

Resumen

La urbanización y la industrialización ha generado diversos problemas medioambientales, siendo la generación de residuos orgánicos uno de los principales focos de atención debido al impacto medio ambiental que genera su deposición. La fermentación anaerobia se presenta como una solución sostenible para el tratamiento de estos residuos, ofreciendo un control efectivo y generando productos de valor agregado como el biogás y los ácidos grasos volátiles (AGV).

La fermentación anaerobia posee una serie de variables, entre ellas la estrategia de mezclado, la cual puede ser en reactores de estanque agitado (STR) o bien en reactores del tipo de lecho de lixiviación (LBR), pero no existe claridad en cómo afecta la producción de AGV la estrategia del mezclado a diferentes pH. Por otro lado, tampoco existe claridad en cómo afecta el tipo inóculo en la en la síntesis de AGV a partir del alperujo, por lo cual se plantea como hipótesis que, si se cambia el pH, la estrategia del mezclado o el tipo de inóculo, afecta la síntesis de producción de AGV a partir de desechos orgánicos.

Este estudio compara el impacto del mezclado y el pH en la producción de AGV a partir de residuos alimentarios, utilizando un LBR y un STR con un 10% de contenido total de sólidos en operación Batch a dos niveles de pH (sin control y a pH 7). Los experimentos se llevaron a cabo a 30 °C con una relación inóculo/sustrato del 10% $\text{g}_{\text{sv inóculo}}/\text{g}_{\text{sv sustrato}}$ y se realizaron en duplicado.

Este trabajo también estudia el impacto del tipo de inóculo en la síntesis de AGV a partir de alperujo, para ello se utilizó un inóculo rico en microorganismos hidrolíticos, proveniente de una planta de tratamiento de caña de azúcar, y por otro lado se utilizó un inóculo proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas (PTAR). Estos experimentos se realizaron en una cámara climatizada a 37 °C, con una concentración inicial de inóculo de

10 g_{SV}/l, alimentándose cada semana con 2 g_{SV}/l de alperujo durante 59 días manteniendo un pH 5.

En la fermentación anaerobia de los residuos alimentarios, en los sistemas sin control de pH se observó una disminución progresiva del pH durante los primeros 5 días de operación, alcanzando valores cercanos a 4. Tanto el LBR como el STR mostraron una solubilización similar en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO), alrededor del 50%. Sin embargo, el contenido de AGV en la fase soluble fue mayor en el STR, con una fracción AGV/DQO soluble del 28±4%, en comparación con el 11±3% del LBR. En el LBR, el ácido acético fue el principal AGV cuantificado, representando el 55±5%, mientras que, en el STR, el ácido butírico fue el predominante, alcanzando el 73±4%.

En la fermentación anaerobia a pH 7 del residuo alimentario, se observaron diferencias en la solubilización de la materia orgánica, siendo más eficiente en el STR con un 70,0±5,1%, mientras que el LBR alcanzó un 30,1±2,6%. Sin embargo, la fracción de AGV fue similar en ambos casos, aproximadamente el 50% (AGV/DQO soluble). En cuanto a la composición de los AGV, el ácido butírico fue el ácido predominante en el LBR, representando el 52,9±2,3%, mientras que, en el STR, el ácido butírico alcanzó el 70,7±2,0%.

Los resultados indican que, en sistemas sin control de pH, el mezclado no tiene un efecto significativo en el valor final alcanzado de solubilización de la materia orgánica, probablemente debido al cambio significativo de pH en el sistema. No obstante, la etapa de acidificación se ve afectada por la transferencia de materia. En sistemas a pH 7, se observa un efecto significativo del mezclado en la solubilización de la materia orgánica, siendo más eficiente en el STR, pero no se aprecia un impacto significativo en la composición de los AGV producidos.

En los experimentos de la producción de AGV a partir de alperujo utilizando un inóculo de la planta tratamiento de caña de azúcar, se obtuvo un rendimiento de hidrólisis del $31,76 \pm 1,6\%$, por otro lado, al utilizar un inóculo de un digestor anaerobio de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas, se obtuvo un rendimiento de hidrólisis del $19,16 \pm 1,8\%$, lo que permitió concluir que existió un aumento de rendimiento de hidrólisis al utilizar microorganismos hidrolíticos.

Se observó que los rendimientos de acidificación fueron similares , ya que cuando se utilizó el inóculo hidrolítico, se obtuvo un $37,35 \pm 3,4\%$ $AGV_{DQO_{eq}}/DQO_{soluble}$ de acidificación y cuando se utilizó el inóculo metanogénico, se obtuvo un de $29,99 \pm 0,04\%$ $AGV_{DQO_{eq}}/DQO_{soluble}$, sin embargo se observó que la principal diferencia entre ambos casos fue la concentración de ácido acético, ya que al operar con el inóculo hidrolítico este valor se mantuvo relativamente constante a lo largo de la operación y cuando se usó el inóculo metanogénico, fue cambiando a lo largo de la operación.

Nomenclatura

AGV	Ácido Graso Volátil
PLA	Acido Poli-Láctico
GC	Cromatografía Gaseosa
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento
DQO _s	Demanda Química Soluble de Oxígeno
ONU	Organización de las Naciones Unidas
PTARU	Planta de Tratamiento de Aguas Urbanas Residuales
ISR	Razón Inóculo Sustrato
STR	Reactor de Estanque Agitado
LBR	Reactor de Lecho de lixiviación
$Y_{acidificación}$	Rendimiento de Acidificación
$Y_{hidrolisis}$	Rendimiento de Hidrólisis
RSM	Residuos Sólidos Municipales
SM	Sólidos Minerales
ST	Sólidos Totales
SV	Sólidos Volátiles
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico

Índice

1.	Introducción	14
1.1.	Generación de residuos orgánicos	14
1.2.	Valorización de residuos orgánicos	17
1.3.	Fermentación anaerobia.....	19
1.3.1.	Hidrólisis	19
1.3.2.	Acidogénesis	19
1.3.3.	Acetogénesis	20
1.3.4.	Metanogénesis	20
1.4.	Variables operacionales de la fermentación anaerobia.....	21
1.4.1.	Temperatura	21
1.4.2.	pH.....	21
1.4.3.	ISR	21
1.4.4.	Inóculo.....	22
1.4.5.	Estrategia de mezclado	22
1.5.	Motivación	24
2.	Hipótesis.....	26
3.	Objetivos.....	26
3.1.	General	26
3.2.	Específicos.....	26
4.	Materiales y métodos.....	27

4.1.	Efectos del mezclado y del pH.....	27
4.1.1.	Materiales	27
4.1.1.1.	Sustrato	27
4.1.1.2.	Inóculo	29
4.1.2.	Métodos.....	29
4.1.2.1.	Diseño experimental	29
4.1.2.2.	Operación en LBR	30
4.1.2.3.	Operación en STR	32
4.2.	Efecto del inóculo	33
4.2.1.	Materiales	33
4.2.1.1.	Sustrato	33
4.2.1.2.	Inóculo	34
4.2.2.	Métodos.....	35
4.2.2.1.	Diseño experimental	35
4.3.	Análisis químico	36
4.4.	Análisis de resultados.....	37
5.	Resultados y discusión	39
5.1.	Estudio del efecto del pH y mezclado	39
5.1.1.	pH.....	39
5.1.2.	Demanda Química de Oxígeno.....	40
5.1.3.	Ácidos grasos volátiles totales	42
5.1.4.	Ácidos grasos volátiles individuales	44

5.1.5.	Ácido láctico	46
5.1.6.	Etanol	47
5.1.7.	Identificación de compuestos de fermentación.....	48
5.2.	Estudio del efecto del inóculo	50
5.2.1.	Demanda Química de Oxígeno.....	50
5.2.2.	Ácidos grasos Volátiles.....	51
6.	Conclusiones	55
7.	Referencias	56

Índice de figuras

Figura 1. Objetivos del desarrollo sostenible de la ONU	15
Figura 2. Diagrama de digestión anaerobia (Pavlostathis, 1991)	20
Figura 3. Reactor de Tanque Agitado (STR)	23
Figura 4. Reactor de Lecho de Lixiviación	24
Figura 5. Esquema general de experimentos de fermentación anaerobia de desechos alimentarios.	27
Figura 6. Esquema de trabajo para experimentos de fermentación anaerobia de residuos alimentarios.	29
Figura 7. Montaje sistema LBR. (1) LBR, (2) Controlador pH, (3) Estanque lixiviado, (4) Bomba de recirculación.	31
Figura 8. Montaje sistema STR. (1) STR, (2) Controlador pH, (3) Agitador	32
Figura 9. Esquema general de experimentos de fermentación anaerobia de alperujo	33
Figura 10. Esquema experimental de producción de AGV a partir de alperujo.....	36
Figura 11. pH en sistemas no controlados. En gris STR y LBR con control de pH, en naranja sistema LBR sin control de pH y en azul sistema STR sin control de pH.	40
Figura 12. DQO soluble en los diferentes sistemas. (A) LBR a pH 7, (B) LBR pH libre, (C) STR a pH 7, (D) STR pH libre. En azul DQO soluble medida, en naranja AGV equivalente a DQO, en gris DQO total y en verde solubilización.....	42
Figura 13. Composición de ácidos grasos volátiles. (A) LBR a pH 7, (B) LBR pH libre, (C) STR a pH 7, (D) STR pH libre. Azul para ácido acético, naranja indica ácido propiónico, verde indica ácido butírico y rojo indica ácido isobutírico.	45
Figura 14. Acumulación de Ácido láctico en el sistema. Amarillo indica LBR a pH libre, Azul indica STR a pH libre, naranja indica STR a pH 7 y gris indica LBR a pH 7.	47

Figura 15. Acumulación de etanol en el sistema. Amarillo indica LBR a pH libre, Azul indica STR a pH libre, naranja indica STR a pH 7 y gris indica LBR a pH 7.	48
Figura 16. Composición porcentual de la DQO soluble. Azul indica AGV, naranja indica ácido láctico y verde indica etanol.....	49
Figura 17. DQO soluble en reactor semi continuo de fermentación anaerobia de alperujo. En verde los resultados obtenidos utilizando inóculo hidrolítico y en naranja los resultados obtenidos utilizando inóculo metanogénico. Circulo para representar DQO soluble y triangulo AGV en DQO equivalente.	51
Figura 18. Composición de ácidos grasos volátiles en reactor semi continuo de fermentación anaerobia de alperujo con inóculo de caña de azúcar. Azul para ácido acético, naranja indica ácido propiónico, gris indica ácido isobutírico, amarillo para ácido butírico, celeste indica ácido isovalérico y verde ácido valérico.	52
Figura 19. Composición de ácidos grasos volátiles en reactor semi continuo de fermentación anaerobia de alperujo con inóculo PTARU. Azul para ácido acético, naranja indica ácido propiónico, gris indica ácido isobutírico, amarillo para ácido butírico, celeste indica ácido isovalérico y verde ácido valérico.....	53

Índice de tablas

Tabla 1. Composición del residuo alimentario	28
Tabla 2. Caracterización del residuo alimentario	28
Tabla 3. Caracterización del lodo anaerobio	29
Tabla 4. Composición de macronutrientes	30
Tabla 5. Caracterización de Alperujo	34
Tabla 6. Caracterización Inóculo de Planta de Tratamiento de Caña de Azúcar.	34
Tabla 7. Caracterización Inóculo de planta de tratamiento de aguas residuales urbanas.	35
Tabla 8. Calendario de muestreo de experimentos de fermentación anaerobia de alperujo.	36

1. Introducción

1.1. Generación de residuos orgánicos

En los últimos tiempos, la humanidad ha logrado mejorar su calidad de vida, lo que se refleja en el aumento de la esperanza de vida. Este progreso se debe, en parte, a los avances tecnológicos recientes, pero también al cambio en el estilo de vida de las personas. Este cambio en el estilo de vida comenzó a finales del siglo XIX con el proceso de urbanización, que ha continuado en aumento en los últimos años. Se proyecta que hacia el año 2050, dos tercios de la población vivirán en áreas urbanas en lugar de rurales, según un informe de las Naciones Unidas en 2018 (ONU, 2018). Aunque este fenómeno ha traído numerosos beneficios para la humanidad, también ha tenido efectos negativos en aspectos sociales, económicos y, sobre todo, medioambientales.

El aumento significativo de la población ha agotado de manera acelerada los recursos naturales, especialmente aquellos provenientes de fuentes no renovables como los derivados del petróleo. Por esta razón, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) ha introducido 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), que se muestran en la figura 1. Estos objetivos buscan un cambio en la perspectiva, promoviendo la reintegración de los residuos en los procesos productivos, generando nuevas fuentes de recursos, mejorando la gestión de los desechos y disminuyendo el impacto en el medio ambiente. Este enfoque renovado, conocido como economía circular, considera la gestión de residuos como una oportunidad para dar valor a lo que antes se consideraba simplemente basura.



Figura 1. Objetivos del desarrollo sostenible de la ONU

Los residuos generados por las ciudades se componen principalmente de materia orgánica, la cual en su mayoría es “*food waste*”, es decir residuos alimentarios. Estos corresponden aquellos alimentos que fueron elaborados para el consumo humano, pero que, debido a diversos factores, estos alimentos acaban como basura. Estos residuos varían según diversos factores, como culturales, económicos, geográficos, estacionales y sociales, es por esto mismo es que resulta difícil crear una gestión adecuada de residuos.

Información proporcionada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), indica que se ha estimado que aproximadamente se desperdician 1,6 mil millones de toneladas métricas de alimentos cada año y se espera que para el año 2050 esta cifra aumente en un 15% (Lahiri et al., 2023). En Chile en 2017 se generaron un total de 23 millones de toneladas de residuos, de las cuales aproximadamente el 34.3%, equivalente a 7.9 millones de toneladas, se categorizó como Residuos Sólidos Municipales (RSM). Es importante destacar que el 96% de estos RSM se enviaron a disposición final, lo que significa que solo el 4% se revalorizó. Dentro de los RSM se encuentra que el 58%

corresponde a materia orgánica, es decir en Chile se producen 4,6 millones de toneladas de residuos orgánicos domiciliarios al año (Ministerio del Medio Ambiente, 2022).

Los tratamientos tradicionales que se le aplican a los residuos alimentarios corresponden al depósito en rellenos sanitarios o incineración, los que provocan una serie de problemas medioambientales, ya que los rellenos sanitarios aportan a la creación de gases de efecto invernadero por la descontrolada metanogénesis, además de contribuir a la contaminación de aguas y suelos por los percolados que se generan (Zhang et al., 2005). En cuanto a los problemas que presenta la incineración, se encuentra el alto requerimiento energético que se necesita debido a la alta humedad de los residuos alimentarios y además aporta a la contaminación del aire (Zhou et al., 2018).

Otro tipo de residuo orgánico que son un foco de atención corresponden a los residuos agroindustriales, un ejemplo de un residuo agroindustrial es el alperujo, este es un subproducto de la producción de aceite de oliva, el cual se obtiene a partir del olivo. En este proceso, es importante destacar que solo el 20% de la materia prima original se convierte en aceite de oliva, lo que significa que el 80% restante se convierte en alperujo. En otras palabras, este proceso genera una cantidad de residuos mayor que la de los productos principales (Serrano et al., 2021).

Se estima que anualmente se producen alrededor de 3 millones de toneladas de aceite de oliva a nivel mundial (Consejo Oleícola Internacional, 2022) lo que implicaría que se producen alrededor de 12 millones de toneladas de alperujo anualmente. Dentro de los principales productores de aceite de oliva destaca España, ya que produce alrededor del 42% de aceite de oliva a nivel mundial (Donner et al., 2022), lo que implica que España genera alrededor de 4,8 millones de toneladas de alperujo anuales.

En lo que respecta al tratamiento de residuos del aceite de oliva, actualmente aproximadamente el 90% se lleva a plantas de extracción de orujo para obtener aceite de orujo crudo. Esta extracción se realiza principalmente utilizando solventes orgánicos, siendo el más común el hexano técnico (una mezcla de alcanos) (García et al., 2020), adicionalmente, se debe disminuir el contenido de humedad de alperujo, proceso el cual requiere mucha energía. Cabe mencionar que, en este tipo de plantas, se lleva a cabo procesos de cogeneración de energía con el alperujo sin aceite, con el fin de suministrar energía para el propio proceso y para la red eléctrica (Fariñas et al., 2020). Sin embargo, debido al uso de solventes orgánicos, las altas emisiones de dióxido de carbono y requerimiento energético, se categoriza como un proceso poco sostenible y amigable con medio ambiente (Ribeiro et al., 2020), además el aceite de orujo tiene un bajo valor comercial (Fariñas et al., 2020), lo cual no genera un producto de alto valor agregado.

El compostaje es una alternativa que se ha implementado para la gestión de los residuos orgánicos, pero se considera un método de gestión de residuos en vez de un método de valorización, lo que implica un costo para el sector (Serrano et al., 2021). Desde este punto de vista, para mejorar la sostenibilidad en la gestión de residuos, es fundamental desarrollar procesos de tratamiento energéticamente eficientes y respetuosos con el medio ambiente que estén en línea con los objetivos del desarrollo sostenible de la ONU.

1.2. Valorización de residuos orgánicos

Puesto que se busca una alternativa de tratamiento de residuos que sea capaz de crear compuestos de valor agregado con el fin de fomentar una economía circular de forma sostenible, aparece el concepto de biorrefinería. Las biorrefinerías son instalaciones que integran diversos procesos unitarios para lograr sinergias entre ellos, lo que aumenta significativamente el valor del proceso completo en comparación con la suma de los procesos individuales. Estas instalaciones están diseñadas para convertir residuos

biodegradables en productos de alto valor agregado, como biocombustibles o productos químicos industriales, lo que facilita la reintegración de los residuos en el ciclo productivo.

Las biorrefinerías utilizan, entre otros, procesos de fermentación anaerobia, los cuales son procesos biológicos que se realizan con microorganismos anaerobios, es decir en ausencia de oxígeno, los cuales son capaces de transformar moléculas orgánicas complejas, como las presentes en los residuos alimentarios, a otros compuestos más simples.

Las biorrefinerías se presentan como una solución sostenible al tratamiento de estos residuos, ya que no solo permite un control adecuado de los residuos, sino que también genera productos de valor agregado, como el biogás, ácidos grasos volátiles, entre otros compuestos (Xu et al., 2011). Las biorrefinerías van en línea con los objetivos 11 y 13 del desarrollo sostenible, ya que se generan fuentes de energía que no proveniente de fuentes fósiles y se crean ciudades y comunidades y sostenibles

Los ácidos grasos volátiles son moléculas orgánicas de cadena corta, es decir que tienen entre 3 a 6 carbonos. Estos son compuestos químicos que presentan un gran interés comercial, ya que se utilizan principalmente como precursores para síntesis de otros compuestos de interés, como PHA (Valentino et al., 2017) el cual es un bioplástico que no proviene de una fuente fósil y que además es biodegradable, por lo cual es un compuesto que va en línea con los objetivos del desarrollo sostenible de la ONU. También es posible producir hidrogeno (K. Wang et al., 2014) el cual al igual que el biogás, es un biocombustible. Otro compuesto que se puede fabricar a partir de los ácidos grasos volátiles corresponde a los ácidos grasos de cadena media (Q. Wang et al., 2022) los cuales son biocombustibles que presentan la ventaja que, a diferencia de los ya mencionados, este se utiliza en formato líquido, por lo cual facilita su uso y transporte. Los otros biocombustibles se comercializan en formato gaseoso, por lo cual, debido a varios factores técnicos, resulta

difícil y peligroso su uso, por lo cual los ácidos grasos de cadena media presentan ventaja sobre el biogás y el hidrógeno.

1.3. Digestión anaerobia

Como se mencionó anteriormente, los ácidos grasos volátiles se sintetizan en el proceso de digestión anaerobia, el cual se compone principalmente de 4 etapas, las cuales corresponden a hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, tal como se puede ver en el esquema de la figura 2.

1.3.1. Hidrólisis

La materia orgánica compleja (proteínas, carbohidratos y lípidos) no puede ser digerida directamente por los microorganismos, a menos que se descomponga en compuestos solubles más simples que puedan atravesar la pared celular. Es por ello que la etapa de hidrólisis es la que proporciona sustratos orgánicos para el proceso de digestión anaerobia (Varnero, 2011). Esta etapa es llevada a cabo por enzimas extracelulares segregadas por los microorganismos responsables de las demás etapas. Cabe destacar que la etapa de hidrólisis podría ser el paso limitante de la velocidad en el proceso global de digestión anaerobia, especialmente en el caso de algunos residuos complejos, como, por ejemplo, los materiales lignocelulósicos (Aboudi et al., 2021).

1.3.2. Acidogénesis

En la etapa de acidogénesis, las moléculas orgánicas simples solubles generadas en la hidrólisis son introducidas al metabolismo de los microorganismos, lo que produce compuestos reducidos como el ácido propiónico, butírico y valérico, etanol, entre otros. También pueden resultar de esta etapa compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas, como el ácido acético, ácido fórmico e hidrógeno molecular (Varnero, 2011).

1.3.3. Acetogénesis

En esta etapa, los compuestos resultantes de la acidogénesis son sometidos a una oxidación adicional por parte de las bacterias acetogénicas. De esta oxidación se obtiene compuestos más simples como el ácido acético, hidrógeno molecular y dióxido de carbono (Varnero, 2011).

1.3.4. Metanogénesis

En esta última etapa de la ruta de la digestión anaerobia, los microorganismos metanogénicos, bajo condiciones anaerobias estrictas, producen metano a partir de Hidrógeno y dióxido de carbono y/o ácido acético y/o ácido fórmico y/o metanol (Varnero, 2011). Cabe mencionar que, si el sustrato es altamente biodegradable, por ejemplo, un sustrato no lignocelulósico, la metanogénesis corresponde a la etapa limitante de la velocidad de la digestión anaerobia.

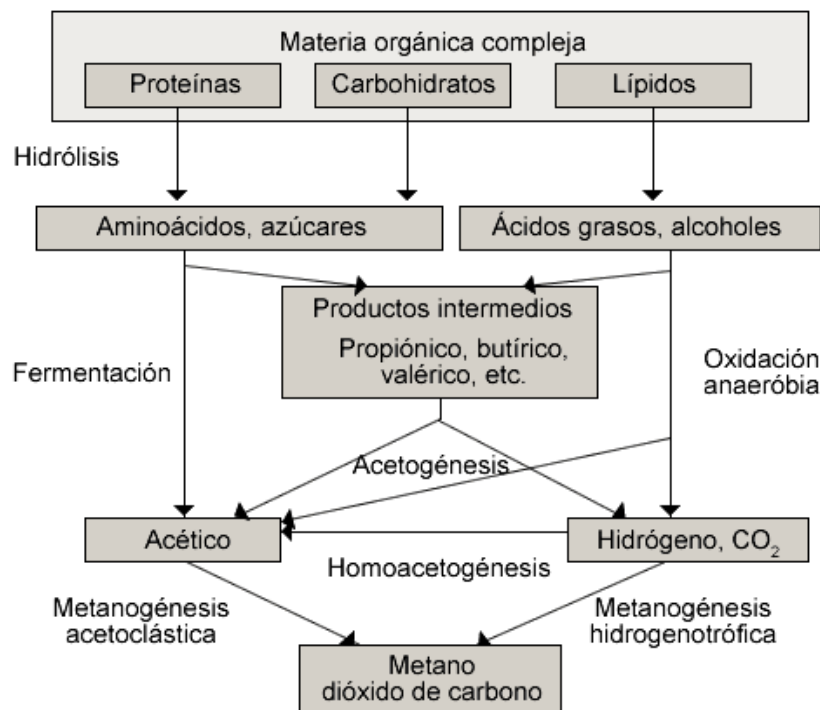


Figura 2. Diagrama de digestión anaerobia (Pavlostathis, 1991)

1.4. Variables operacionales de la fermentación anaerobia

El proceso anteriormente descrito es afectado por diversas variables, dentro de ellas destaca; temperatura, pH, razón inóculo sustrato (ISR), tiempo de retención hidráulico, tiempo de retención de sólidos, tasa de carga orgánica, etc. (Cabrera et al., 2019). A continuación, se detalla cada uno de estos efectos:

1.4.1. Temperatura

Se ha visto en estudios como diferentes rangos de temperatura influyen en las diferentes partes de la digestión anaerobia (Gong et al., 2021). Específicamente en la digestión anaerobia de residuos alimentarios, se ha observado mayores ratios de solubilización en condiciones mesófilas de 35 °C y 45 °C y también producción de biogás fue favorecida en condiciones mesófilas (Komemoto et al., 2009).

1.4.2. pH

Uno de los principales factores que afectan la digestión anaerobia es el pH, el efecto de este parámetro ha sido ampliamente estudiado y se ha demostrado que este proceso es favorecido a pH neutros ya que es necesaria la metanogénesis para que no se acumulen metabolitos intermediarios (Jiang et al., 2013; Zhang et al., 2005).

1.4.3. ISR

Se ha estudiado ampliamente como afecta la razón entre los sólidos volátiles del inóculo con respecto a los sólidos volátiles del sustrato en la digestión anaerobia, puesto que el ISR es directamente proporcional a la cinética de hidrólisis y acidificación, sin embargo, no se ha observado diferencias significativas a ISR% mayores al 20% (Xiong, Hussain, & Lee, 2019; Xu et al., 2012).

1.4.4. Inóculo

La digestión anaerobia implica la participación de diversos microorganismos, cada uno especializado en una etapa específica del proceso. Estos microorganismos desempeñan funciones distintas y requieren condiciones operativas óptimas particulares. Por lo tanto, al llevar a cabo este procedimiento, es crucial seleccionar adecuadamente los microorganismos y ajustar las condiciones del proceso según los objetivos deseados. Estudios recientes indican que se logra un rendimiento mayor al realizar la digestión anaerobia en diferentes etapas (De Gioannis et al., 2017). Esto puede atribuirse a la presencia de diferentes microorganismos en cada fase (Le et al., 2024), ya que las condiciones específicas de cada etapa favorecen la proliferación de ciertos organismos, optimizando así el metabolismo específico y mejorando los rendimientos generales del proceso.

1.4.5. Estrategia de mezclado

Se han llevado a cabo diversos estudios sobre cómo diferentes variables de operación afectan a diversos procesos de fermentación anaerobia. Estos estudios suelen realizarse en estanques de reactor agitado (STR), como los que se ilustran en la figura 3. En este tipo de configuración, tanto el sustrato como el inóculo se mantienen en suspensión en una solución que contiene el digerido, gracias a una agitación constante. Comúnmente estos estudios no consideran la agitación como un factor significativo en la operación, sin embargo, es importante señalar que, si el reactor presenta un alto contenido de sólidos, es decir superior al 10%, el efecto de la agitación podría tener una relevancia significativa. (Xu et al., 2014).

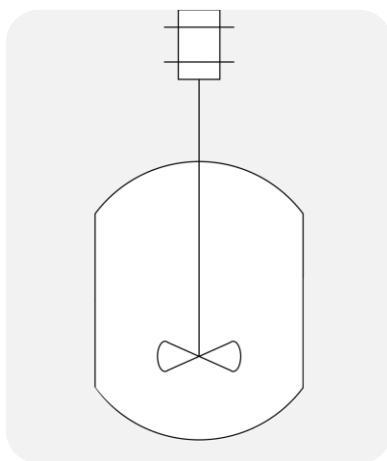


Figura 3. Reactor de Tanque Agitado (STR)

Para procesos con un alto contenido de sólidos, se sugiere la implementación de un reactor de lecho de lixiviación (Singh et al., 2023), como se muestra en la figura 4. Este sistema consta de un lecho de lixiviación, en el cual se encuentra mezclado el sustrato con el inóculo, y el digerido líquido se recopila en la parte inferior, en un estanque de recolección. Posteriormente, este digerido se recircula hacia la parte superior del lecho de lixiviación mediante una bomba. Al ser introducido el lixiviado en la parte superior de la torre, desciende por gravedad a lo largo de la mezcla de sustrato e inóculo, enriqueciéndose con productos de la fermentación anaerobia. Este tipo de configuración permite tratar mayores cantidades de sólidos, ya que no es necesario mantenerlos en constante agitación (Bayrakdar et al., 2018).

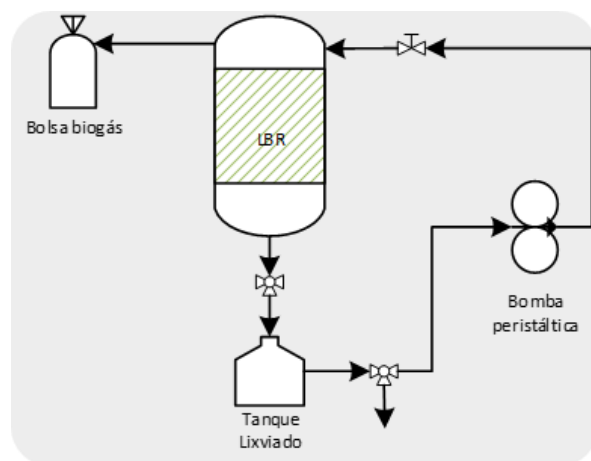


Figura 4. Reactor de Lecho de Lixiviación

1.5. Motivación

Los reactores de lecho de lixiviación ofrecen varias ventajas sobre los reactores de tanque agitado en la fermentación anaerobia de desechos orgánicos con alto contenido de sólidos. La principal de ellas radica en que, al no requerir una agitación constante del sustrato y el inóculo, se traduce en un ahorro energético, debido que para mantener una alta cantidad de sólidos en suspensión se necesita mucha energía (Khalid et al., 2011). Una ventaja adicional que presentan los LBR es que el digerido se encuentra separado de la fase sólida, esto elimina la necesidad de llevar a cabo un proceso de separación entre el sustrato y el producto de interés, como ocurre en el caso de los STR. Esta separación simplificada puede conducir a una mayor eficiencia y facilidad en la recuperación del producto final (Hussain et al., 2017).

A pesar de las ventajas operacionales que ofrecen los LBR en la fermentación anaerobia de desechos orgánicos con alto contenido de sólidos, no existe información necesaria para afirmar que los LBR son mas eficientes que los STR, ya que los beneficios reportados son solo energéticos y no se reportan las diferencias en cuanto a rendimiento o las diferencias que podrían existir a nivel de composición del digerido. Se cree que los rendimientos y concentración de compuestos de compuestos obtenidos se vean afectados por las

limitaciones de transferencia de materia de los LBR y por los desafíos operativos que presentan los LBR, como problemas de hermeticidad e inundación del lecho. No obstante, la literatura informa que, utilizando un material estructurante en el lecho, seleccionando adecuadamente el tiempo de retención hidráulica (TRH) y un ISR adecuado, se pueden evitar problemas como la inundación del lecho, demostrando que con ciertos ajustes operativos se pueden mitigar algunas de las limitaciones asociadas con los LBR (Demirer & Chen, 2008; Karthikeyan & Visvanathan, 2013; Nkemka et al., 2014; Saha et al., 2023; Xiong, Hussain, & Lee, 2019).

A pesar de que existan estudios que afirmen que se puede mejorar los rendimientos de los LBR en la digestión anaerobia de desechos orgánicos con alto contenido de sólidos, es necesario que exista un estudio que compare los rendimientos y composición de los digeridos con los obtenidos en el STR bajo las mismas condiciones de operación, para poder determinar cuáles efectivamente son las diferencias de operar bajo dos sistemas de agitación distintos. Por otro lado, para que el estudio tenga un mayor rango de comparación, debe realizarse a diferentes pH, para demostrar si las diferencias obtenidas son independientes del pH, ya que como se señaló anteriormente, es uno de los factores más importantes de la fermentación anaerobia.

Se propone que el estudio sea realizado con desechos alimentarios, para estar en línea con los ODS, sin embargo, se hace necesario hacer un estudio adicional utilizando alperujo, ya que no existe suficiente información sobre cómo afectan las diferentes condiciones en la producción de AGV a partir de alperujo. Se sospecha que el tipo de inóculo afecte el proceso, ya que, al tratarse de un compuesto lignocelulósico, se ha reportado como influye el tipo de inóculo en la fermentación anaerobia en desechos lignocelulósicos (Soto et al., 2022) sin embargo, no hay información en cómo afecta el tipo de inóculo en la producción de AGV a partir de alperujo, por lo cual se hace necesario su estudio.

2. Hipótesis

La hipótesis que plantea el presente trabajo de tesis corresponde a “Si se cambia el pH de operación, la estrategia de mezclado o el tipo de inóculo en la fermentación anaerobia de residuos orgánicos, entonces se obtendrá rendimientos distintos y diferentes concentraciones de ácidos grasos volátiles en el digerido del proceso”.

3. Objetivos

3.1. General

Determinar el impacto de diferentes factores operativos en la generación de ácidos grasos volátiles a partir de desechos orgánicos en reactores con alto contenido de sólidos.

3.2. Específicos

- Entender cómo el pH afecta la generación de ácidos grasos volátiles a partir de desechos alimentarios en reactores con alto contenido de sólidos.
- Estudiar dos estrategias de mezclado y su efecto en la producción y solubilización de ácidos grasos volátiles a partir de residuo alimentarios en reactores.
- Determinar el efecto del inóculo en la producción de ácidos grasos volátiles a partir de alperujo en reactores con alto contenido de sólidos.

4. Materiales y métodos

4.1. Efectos del mezclado y del pH

Se fermentó de forma anaerobia desechos alimentarios con el fin de producir AGV, esto con el fin de estudiar el efecto del mezclado y del pH. Para ello se realizaron 4 experimentos en duplicado, dos en STR, a pH libre y a pH 7, y otros dos en LBR, a pH libre y a pH 7. Posteriormente se analizó el digerido de cada experimento realizado. El diagrama de experimentación se muestra en la figura 5.



Figura 5. Esquema general de experimentos de fermentación anaerobia de desechos alimentarios.

4.1.1. Materiales

4.1.1.1. Sustrato

Se preparó un sustrato emulando un residuo alimentario chileno, manteniendo el contenido de proteínas, frutas, verduras y carbohidratos. Este se preparó tras la revisión de estudios de fermentación anaerobia de residuos alimentarios (Bouallagui et al., 2009; Brown & Li, 2013; Dahiya et al., 2015; Izumi et al., 2010; Jiang et al., 2013; Lim et al., 2008; Yin et al., 2016). La composición del sustrato se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Composición del residuo alimentario

	Contenido % [P/P]	Observación
Carne	10%	cocido
Repollo	4%	Crudo
Zanahoria	4%	Cocido sin cáscara
Espinaca	4%	Crudo
Tomate	4%	Crudo con cáscara
Brócoli	4%	Cocido
Papas	20%	Cocido sin cáscara
Naranja y limón	6%	Crudo con cáscara
Manzana	6%	Crudo con cáscara
Banana	8%	Crudo con cáscara
Arroz	12%	Cocido
Fideos	12%	Cocido
Pan	6%	Cocido

Una vez preparado el sustrato, se mantuvo congelado a -20 °C y previo a utilizarlo se descongeló a temperatura ambiente. La caracterización del sustrato se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Caracterización del residuo alimentario

Parámetro	Valor
DQO total [$\text{gO}_2/\text{g}_{\text{residuo}}$]	0,1566
Sólidos totales [$\text{g}_{\text{ST}}/\text{kg}_{\text{residuo}}$]	294,03
Sólidos Volátiles [$\text{g}_{\text{SV}}/\text{kg}_{\text{residuo}}$]	233,58

4.1.1.2. Inóculo

El inóculo utilizado fue lodo anaerobio extraído de una planta de tratamiento de aguas urbanas. El inóculo fue almacenado a 4 °C y previo a su uso fue sometido a un tratamiento térmico a 75 °C durante 15 min, con el propósito de inactivar la actividad metanogénica (Xiong, Hussain, Lee, et al., 2019). La caracterización correspondiente al inóculo se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Caracterización del lodo anaerobio

Parámetro	Valor
DQO total [gO ₂ /g _{residuo}]	0,1369
Sólidos totales [g _{ST} /kg _{residuo}]	100,6
Solidos Volátiles [g _{SV} /kg _{residuo}]	84,85

4.1.2. Métodos

4.1.2.1. Diseño experimental

Se realizaron experimentos con 4 condiciones de operación, donde se comparó el tipo de reactor, entre un reactor de tanque agitado (STR *stirred tank reactor*) y un reactor de lecho de lixiviación (LBR *leaching bed reactor*), y variando entre aplicar control de pH a valor neutro (7) o sin control de pH.

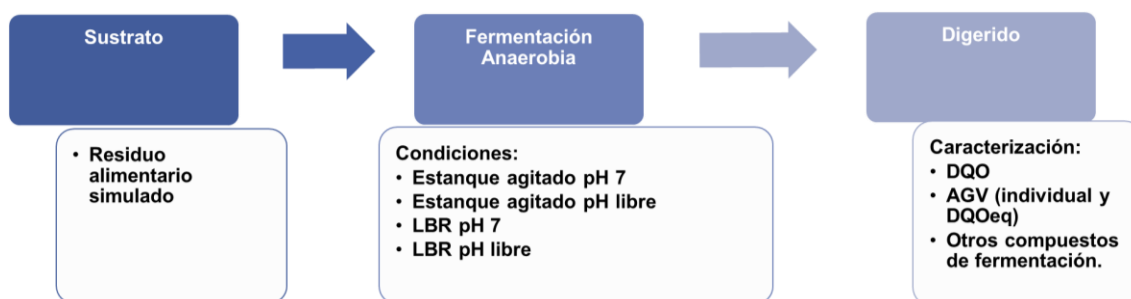


Figura 6. Esquema de trabajo para experimentos de fermentación anaerobia de residuos alimentarios.

Los experimentos fueron alimentados con 109,7 g de sustrato (en sólidos volátil) y con una carga del inóculo del 10% respecto a los sólidos volátiles, ya que se ha reportado que es el máximo valor que se puede operar el LBR para evitar la inundación del lecho (Xiong, Hussain, & Lee, 2019). El sistema se componía de un 68% de agua libre, la cual contaba con una concentración de 2 g/l de bicarbonato y 10 ml/l de solución de macronutrientes, según Tabla 4. Los experimentos fueron operados durante 14 d y la temperatura se mantuvo constante en una cámara caliente a 30 °C.

Tabla 4. Composición de macronutrientes

Compuesto	Concentración [g/l]
KH ₂ PO ₄	37
NH ₄ Cl	170
CaCl ₂ ·2H ₂ O	8
MgCl ₄ ·H ₂ O	9

4.1.2.2. Operación en LBR

El reactor de lecho lixiviado es un cilindro acrílico de 1,7 l, en donde fue introducido el sustrato, el inóculo y el material estructurante, este último se agregó con el fin de mejorar el contacto entre el sustrato y el lixiviado y evitar que el lecho se compacte. El material estructurante correspondió a anillos cilíndricos de PLA, los cuales cuentan con un largo de 10 mm, un espesor de 1 mm y un diámetro externo de 10 mm. La cantidad utilizada en cada experimento fueron 145 gramos.

El reactor fue segmentando en 3 partes, dividido de forma homogénea el sustrato, el inóculo y el material estructurante, en donde cada segmento fue separado por una rejilla metálica. En la parte inferior del reactor se fue recolectando el lixiviado, el cual se mantuvo

homogéneo mediante agitación y en el caso de controlador de pH se fue dosificando NaOH de 1 N o HCL 1 N según necesidad, para el caso de sin control de pH no se dosificó tales compuestos.

El lixiviado recolectado fue recirculado intermitentemente hasta la parte superior del reactor mediante una bomba peristáltica, para que este luego mediante gravedad fuera recorriendo todo el lecho del reactor para luego ser recolectado en el fondo en el tanque de lixiviado. La recirculación fue realizada intermitentemente, a un caudal de 22,6 l/d, 10 veces al día durante 64 minutos, además, el sistema poseía una salida de gases unida a un medidor de flujo volumétrico para cuantificar la producción del biogás. El sistema puede ser observado en la figura 7. Una muestra de 30 ml fue extraída diariamente del tanque de lixiviado, y con tal de mantener el volumen de lixiviado, se reponían los 30 ml con agua fresca.



Figura 7. Montaje sistema LBR. (1) LBR, (2) Controlador pH, (3) Estanque lixiviado, (4) Bomba de recirculación.

4.1.2.3. Operación en STR

Los reactores de sistema agitado fueron estanques de 2,5 l, donde fue introducido el sustrato, el inóculo y la fase líquida. Tal mezcla se mantuvo homogénea con la suficiente agitación mecánica con el fin de mantener el sustrato en suspensión. Tal reactor contaba con 3 salidas, la primera de ellas era una salida de gases, la cual conectaba a un medidor de flujo volumétrico para medir la producción de biogás. La segunda de ellas era la entrada del dosificador de NaOH 1 N y HCl 1 N para mantener el pH a 7 en el caso de controlar el pH. La última de las salidas correspondía a la toma de muestra, donde se extraía directamente del reactor 30 ml y luego se reponían los mililitros extraídos con agua del grifo por la misma toma de muestras. El montaje del experimento se presenta en la figura 8.

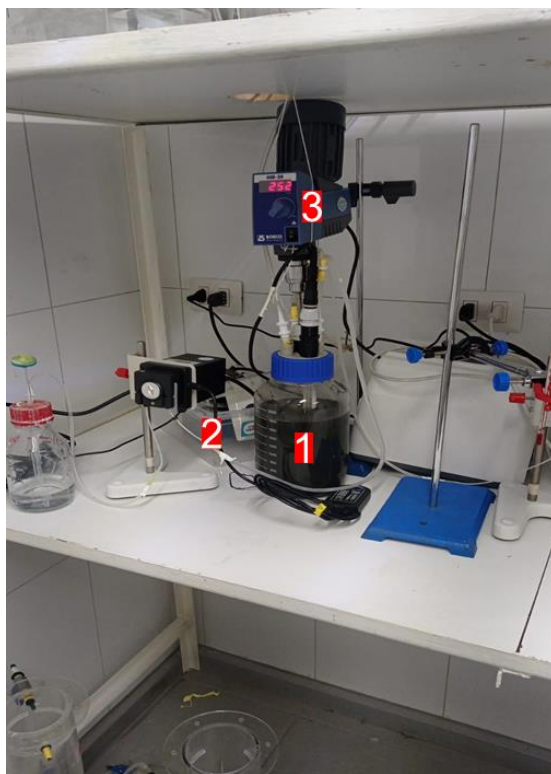


Figura 8. Montaje sistema STR. (1) STR, (2) Controlador pH, (3) Agitador

4.2. Efecto del inóculo

Para estudiar el efecto del inóculo en la producción de AGV a partir de alperujo, se debieron realizar dos experimentos, cada uno en duplicado, un tipo de experimento utilizó un inóculo rico en microorganismos metanogénicos y el otro tipo de experimento utilizó un inóculo rico en microorganismos hidrolíticos, donde posteriormente se realizó un análisis químico de cada digerido obtenido. Lo mencionado anteriormente se ilustra en la figura 9.



Figura 9. Esquema general de experimentos de fermentación anaerobia de alperujo

4.2.1. Materiales

4.2.1.1. Sustrato

El sustrato utilizado fue proporcionado por la cooperativa de aceite de oliva "Oleícola El Tejar Ntra. Sra. De Araceli", que se encuentra en Marchena, Sevilla, España. Este sustrato se mantuvo preservado a una temperatura de -20 °C y para utilizarlo se descongeló en cámaras frigoríficas a una temperatura de 4 °C. La caracterización realizada se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Caracterización de Alperujo

pH	4,2
Humedad [%]	72,73±0,37
Solidos totales [mg _{st} /kg _{total}]	272.742±3.662
Solidos minerales [mg _{sm} /kg _{total}]	15.793±109
Solidos volátiles [mg _{sv} /kg _{total}]	256.950±3.553
DQO total [gO ₂ /kg]	326±9,4
DQO soluble [mgO ₂ /l]	13.873±0,8

4.2.1.2. Inóculo

En este estudio se utilizaron dos tipos de inóculos, el primero de ellos fue un inóculo proveniente de una planta de tratamiento de caña de azúcar, rico en microorganismos hidrolíticos. La caracterización realizada a este inóculo se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Caracterización Inóculo de Planta de Tratamiento de Caña de Azúcar.

pH	4,0
Humedad [%]	50,96±0,13
Solidos totales [mg _{st} /kg _{total}]	490.436 ±1.279
Solidos minerales [mg _{sm} /kg _{total}]	111.432±443
Solidos volátiles [mg _{sv} /kg _{total}]	379.00±4835
DQO soluble [gO ₂ /l]	523,08±1,44

El otro inóculo empleado fue un lodo metanogénico proveniente de un digestor anaerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales urbanas (PTARU) (EDAR) “Copero” (EMASESA), localizada en Dos Hermanas, Sevilla (España). La caracterización realizada se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Caracterización Inóculo de planta de tratamiento de aguas residuales urbanas.

pH	7,33
Humedad [%]	96,51±0,18
Solidos totales [mg _{st} /kg _{total}]	34.928,2 ±0,1
Solidos minerales [mg _{sm} /kg _{total}]	12.586,1±0,3
Solidos volátiles [mg _{sv} /kg _{total}]	22.342,1±0,2
DQO soluble [mgO ₂ /l]	664,5±0,8

4.2.2. Métodos

4.2.2.1. Diseño experimental

Se realizaron experimentos bajo dos condiciones iniciales distintas, cada una de ellas por duplicado. El primer tipo de condición inicial fue introducir un inóculo rico en microorganismos metanogénicos y el segundo tipo de condición inicial fue introducir un inóculo rico en microorganismos hidrolíticos, en ambos casos se inoculo con 10 g_{sv}/l. Adicionalmente, como condición inicial, se ajustó el pH inicial del reactor a 5, ajustándose de forma manual durante la operación utilizando HCl 1 N y NaOH 1 N.

Los reactores operaron durante 59 días con un volumen útil de 800 ml con agitación continua suficiente para mantener el sustrato en suspensión. Los reactores fueron alimentados con 2 g_{sv}/l de alperujo los días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56. Estos se ubicaron dentro de una cámara climatizada entre 35 y 37 °C. El sistema de muestreo consistió en extraer un total de 120 ml cada 7 días, el volumen extraído se sustituía semanalmente con agua fresca, la configuración anteriormente descrita se ilustra en la figura 10. Las mediciones de DQOs, AGV's, sólidos totales, volátiles y minerales se realizaron los días que se muestran en la tabla 8.

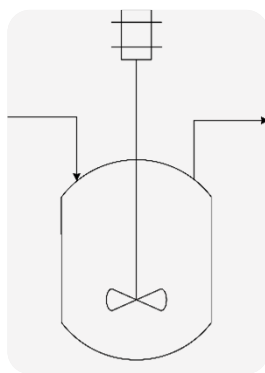


Figura 10. Esquema experimental de producción de AGV a partir de alperujo.

Tabla 8. Calendario de muestreo de experimentos de fermentación anaerobia de alperujo.

Día	6,8,13,15,20,22, 27,29,34,36,41,43, 48,50,55,57	3,7,10,14,17,21, 24,28,31,35,38,42, 45,49,52,56,59	1,2,9,16,23,30, 37,44,51,58	4,5,11,12,18,19, 25,26,32,33,39,40, 46,47,53,54
Volumen extraído [ml]	20	30	20	0
DQO s				
ST,SM,SV				
AGV				

4.3. Análisis químico

A las muestras tomadas se le midió su demanda química de oxígeno DQO, utilizando el método de reflujo cerrado en base al estándar colorimétrico de “*American Publics Health Association*” (APHA, 2005).

Para las muestras de los reactores batch se les midió la concentración de los diferentes ácidos grasos volátiles, etanol y ácido láctico por medio de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se realizó utilizando un cromatógrafo marca Agilent Technologies modelo 1260 Infinity. El equipo trabajó utilizando como fase móvil una solución de ácido sulfúrico 0,005 mMol/l y con 2 módulos de detección operando en forma simultánea: DIR (Detector de índice de infrarrojo) y DAD (Detector de arreglo de diodo), donde, el primero fue el que determinó etanol, mientras que el segundo, detectó ácidos grasos volátiles a una longitud de onda de 210 nm (de Sá et al., 2011).

En cuanto a los reactores semi continuos, Los ácidos grasos volátiles individuales se cuantificaron en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-2025, equipado con una columna Stabilwax-DA (Crossbond Carbowax Polietilenglicol, RESTEK) de 0,25 mm × 30 m (diámetro interno × longitud) y un detector de ionización de llama (FID) a 250 °C. La temperatura del horno se incrementó gradualmente desde 100 hasta 170 °C con una rampa de temperatura de 5 °C/min. Se utilizó N2 (30 mL min⁻¹), H2 (40 mL min⁻¹) y aire (400 mL min⁻¹) como gas portador a un caudal de 40 mL min⁻¹ a 504 kPa.

4.4. Análisis de resultados

A partir de las mediciones de DQO, se determinó la cantidad de materia orgánica solubilizada, usando la ecuación 1 para reactores Batch.

$$Y_{\text{solubilización}} = \frac{DQO \text{ soluble medida}}{DQO \text{ total alimentada}} \quad (\text{ec. 1})$$

En cuanto a los reactores semi continuos, el rendimiento de hidrólisis se calculó a partir de la ecuación 2, la cual es descrita por Wu et al. (2015) para el cálculo de la hidrólisis reactores continuos (L.-J. Wu et al., 2015).

$$\text{Hidrolisis } (DQO_s \%) = \frac{([DQO_s] + [DQO_{CH_4}])_{\text{efluente}} - [DQO_s]_{\text{influyente}}}{([DQO_t] + [DQO_s])_{\text{influyente}}} \quad (\text{ec. 2})$$

Donde:

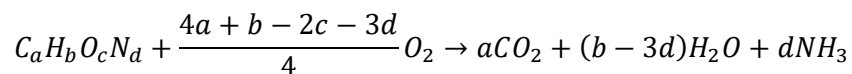
DQO_s influyente: DQO soluble alimentada al reactor gO₂/l.

DQO_t influyente: DQO total alimentada al reactor gO₂/l.

DQO_s efluente: DQO soluble del efluente del reactor gO₂/l.

DQO_{CH4} efluente: Metano producido en el reactor gO₂/l.

Con los valores medidos de las concentraciones de los AGVs, se determinó su demanda de oxígeno teórica utilizando la ecuación 3 y con tal valor se obtuvo el rendimiento de acidificación con la ecuación 4.



$$DQO_{eq} = \frac{4a + b - 2c - 3d}{4} \cdot \frac{PM(O_2)}{PM(C_aH_bO_cN_d)} \quad (ec. 3)$$

$$Y_{acidificación} = \frac{DQO \text{ equivalente AGV}}{DQO \text{ soluble medida}} \quad (ec. 4)$$

Donde:

a: Número de átomos de carbono en la molécula analizada.

b: Número de átomos de hidrógeno en la molécula analizada.

c: Número de átomos de oxígeno en la molécula analizada.

d: Número de átomos de nitrógeno en la molécula analizada.

DQOeq: Demanda química de oxígeno determinada teórica.

5. Resultados y discusión

5.1. Estudio del efecto del pH y mezclado

A partir del análisis químico y de resultados, se presenta la discusión realizada de como afectó la estrategia de mezclado a diferentes pH en los experimentos de producción de AGV a partir de desechos alimentarios. Se analizó el impacto en el pH, en la DQO soluble, en la concentración de los AGV, en los rendimientos de hidrólisis y de acidificación, además de cómo se vieron afectados otros compuestos de fermentación

5.1.1. pH

Diferencias fueron observadas en el pH de la muestra en la operación sin control de pH. Como se puede observar en la figura 11, el valor del pH disminuyó desde su valor inicial hasta el 5 día de operación donde logró estabilizarse para ambos tipos de reactor. Para el caso de LBR el pH estuvo en torno a $4,13 \pm 0,07$, y para el caso del STR alrededor de $3,69 \pm 0,09$. Tales resultados ya han sido reportados anteriormente, en donde XU et al. (2014) reporta que para los primeros días de operación en LBR el lixiviado tuvo un pH entre 3.94–4.17 (Xu et al., 2014) y para I. Owusu-Agyeman et al. (2023) para un batch agitado reporta que el pH disminuyó hasta 3.7 a causa de la acumulación de AGV en el sistema (Owusu-Agyeman et al., 2023). En el STR y en el LBR se obtienen valores similares de pH, por lo cual no se aprecia un efecto del mezclado en el valor alcanzado de pH.

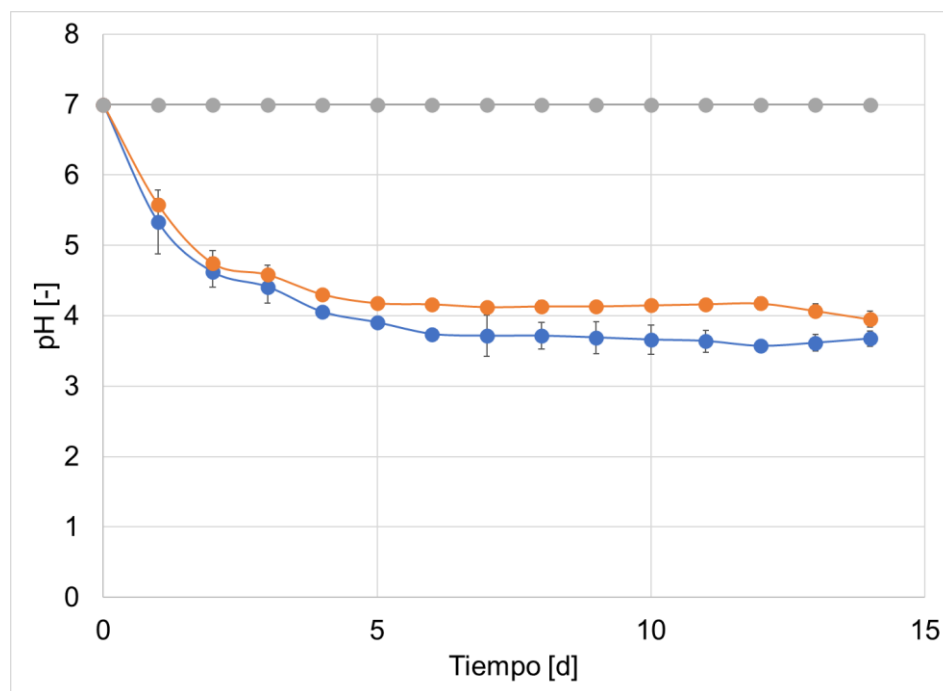


Figura 11. pH en sistemas no controlados. En gris STR y LBR con control de pH, en naranja sistema LBR sin control de pH y en azul sistema STR sin control de pH.

5.1.2. Demanda Química de Oxígeno

En los sistemas en donde no hubo un control del pH de la fase líquida, se observó que para los sistemas operando en STR y LBR se lograron valores similares de DQO soluble, el cual se mantuvo en un rango a partir del quinto día de $43,2 \pm 2,7 \text{ gO}_2/\text{l}$ para STR y para LBR $45,2 \pm 3,3 \text{ gO}_2/\text{l}$, lo que se traduce en una solubilización de la materia orgánica de $47,4 \pm 2,9\%$ para STR y $49,5 \pm 3,6\%$ para LBR. En la literatura se reportan valores similares de solubilización de materia orgánica de residuos alimentarios en condiciones similares a las utilizadas en estos experimentos, Chakraborty et al. en 2022 reportan una solubilización del 45,18% en sistemas LBR sin control de pH (Chakraborty et al., 2022) y Law et al. (2023) publicaron que su reactor del tipo STR sin control de pH, alcanzó una solubilización del $47 \pm 1\%$ (Law et al., 2023). Cabe mencionar que se observó un efecto en cuanto a la cinética de solubilización, ya que para el sistema en STR el valor de DQO soluble se logró estabilizar a partir del tercer día, pero para el sistema en LBR este se estabilizó a partir del quinto día,

por ende se puede afirmar que existe una diferencia en la cinética de solubilización, pero no se observa un efecto en el valor alcanzado de solubilización al final de la operación.

Por otro lado, a un pH 7 si se observó un efecto significativo en el mezclado, debido a que la DQO soluble para los sistemas STR se estabilizó en torno a los $63,9 \pm 4,6$ gO₂/l y para sistemas LBR llegó a valores de $27,5 \pm 2,4$ gO₂/l, lo que representa una solubilización del $70,0 \pm 5,1\%$ para STR y $30,1 \pm 2,6\%$ para LBR, por lo cual se podría afirmar que la solubilización fue mayor en sistemas STR que en LBR cuando se operó a pH 7.

Observando los sistemas STR se aprecia que la solubilización fue mayor cuando se controló el pH 7, lo cual va acorde a estudios anteriores, como es el caso de Zhang et al. (2005), en el cual se comenta sobre que hubo un mayor rendimiento de hidrólisis a pH neutro (Zhang et al., 2005); sin embargo, ocurre el caso contrario para lo sistema de lecho de lixiviación, tal como se observa en la figura 12, ya que la DQO soluble alcanzó mayores valores cuando el sistema no poseía control de pH. Esto puede atribuirse a que en los sistemas LBR existió menor contacto entre el inóculo y el sustrato, por lo cual a pesar de que la hidrólisis es favorecida a pH neutros, este efecto no se logra apreciar debido a que el inóculo no es capaz de entrar en contacto con todo el sustrato, por lo cual adquiere mayor significancia la extracción ácida de los compuestos orgánicos. Por lo cual se puede concluir que cuando hay menor contacto entre el inóculo, el sustrato y la fase lixivante, la solubilización es desfavorecida a pH neutros, siendo mejor la solubilización a pH ácidos.

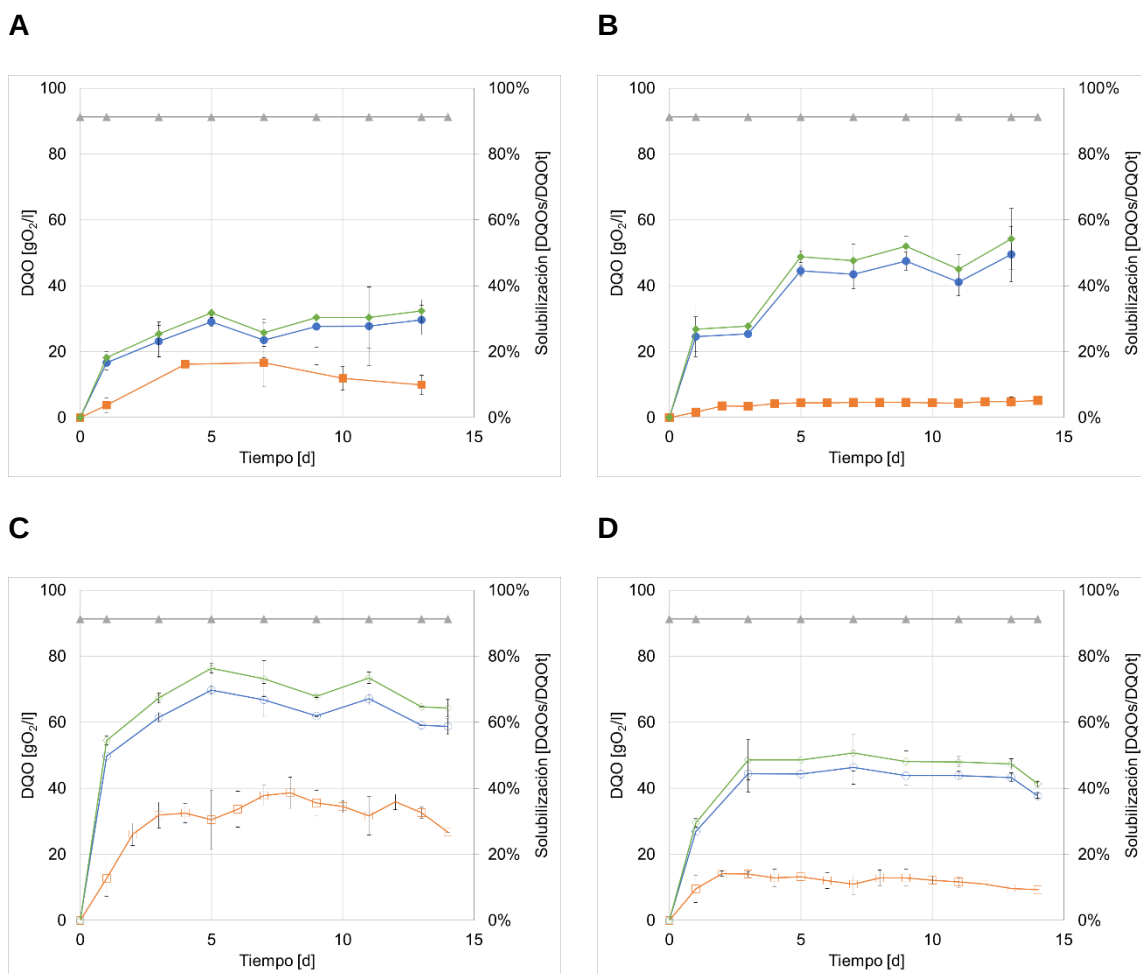


Figura 12. DQO soluble en los diferentes sistemas. (A) LBR a pH 7, (B) LBR pH libre, (C) STR a pH 7, (D) STR pH libre. En azul DQO soluble medida, en naranja AGV equivalente a DQO, en gris DQO total y en verde solubilización.

5.1.3. Ácidos grasos volátiles totales

En los experimentos sin control sobre el pH, se puede observar en la figura 12 que la concentración total de los ácidos grasos volátiles oscila en torno a $12,05 \pm 1,5$ gO₂/l para los estanques agitados y $4,4 \pm 0,5$ gO₂/l para los reactores con lecho de lixiviación, lo que representa una conversión de la materia orgánica soluble a ácidos grasos volátiles de un $11 \pm 3\%$ para los LBR y de un $28 \pm 4\%$ para STR, Xu et al. (2014) obtuvo un rendimiento del 13% de acidificación al operar sin control de pH y con recirculación intermitente del (Xu et al., 2014) y Silva et al. (2016) reporta un rendimiento de acidificación del 32,4% al utilizar residuos municipales (Silva et al., 2016). Se puede inferir que a pesar de que ambos

sistemas tengan la misma capacidad de solubilización de materia orgánica, los sistemas con un mayor contacto entre las fases, posee una mayor capacidad de producir ácidos grasos volátiles cuando no se tiene un control sobre el pH del sistema.

Se observaron diferencias en la figura 12 en cuanto a la concentración final de ácidos grasos volátiles en los experimentos a pH 7, ya que se logró una mayor concentración de estos en los sistemas STR con un valor en torno a los $32,9 \pm 3,7$ gO₂/L y para los sistemas LBR $13,7 \pm 3,3$ gO₂/L, sin embargo, la conversión de materia orgánica soluble a ácidos grasos volátiles en STR estuvo entre el $51,1 \pm 5,6\%$ y para el LBR estuvo entre $52,4 \pm 18,8\%$. Se pueden encontrar valores similares en la literatura, Hussian et al. (2017) se reporta un $47 \pm 7\%$ de acidificación en LBR operado a pH 7 (Hussain et al., 2017) y Fernandez et al. (2020) informa un 50% de acidificación operando en batch en condiciones similares al STR (Fernández et al., 2020). No se observó diferencias entre estos valores, por conclusión se puede afirmar que el mezclado no tiene un efecto significativo en la conversión de DQO soluble a AGV cuando se opera a pH 7. Esto pudo haber sido a causa de que la materia orgánica una vez solubilizada, logra estar en contacto con todo el inóculo en ambos casos, tanto como el LBR como en el STR, por lo cual, no mezclar el sustrato con el inóculo constantemente no afectaría la conversión de materia orgánica soluble a AGV.

Cabe destacar que tanto para STR como para LBR, la concentración final total de ácidos grasos volátiles y la conversión de DQO soluble a AGV aumenta cuando se el pH sistema fue de pH 7. Este comportamiento se ha visto en otros estudios de producción de AGV a partir de residuos alimentarios, ya que tanto como Jiang et al. (2013) y Zhang et al. (2005) reportan mejores rendimientos de hidrolisis y de acidificación a partir de residuos alimentarios.

5.1.4. Ácidos grasos volátiles individuales

En la figura 13 se puede apreciar que, ante la ausencia de control sobre el pH, se obtuvieron concentraciones similares de ácido acético en los sistemas LBR y STR; sin embargo, en los sistemas STR se obtuvieron mayor cantidad de ácido propiónico y butírico, lo que produce una diferencia en el perfil de ácidos grasos volátiles en el sistema. Por otro lado, cuando el sistema opera a pH 7, en los reactores del tipo STR se obtuvo mayor concentración de AGV, sin embargo, en ambos tipos de reactores el ácido butírico es el predominante, seguido por el ácido acético y por último el ácido propiónico.

En los reactores del tipo LBR se observó que la producción de AGV fue mayor a pH 7, además, también existió un efecto en el perfil de ácidos grasos volátiles, ya que cuando no existió control sobre el pH, el ácido predominante fue el ácido acético, pero a pH 7 el ácido que mayor se generó fue el ácido butírico, lo cual pudo haber sido a causa de que a sin control de pH se vio favorecida la conversación de los AGV de mayor tamaño a ácido acético y a pH 7, la acetogénesis pudo haber sido limitada, generando así una mayor acumulación de ácido butírico.

Para el STR se observó que se logró una mayor concentración de cada AGV cuando se trabajó a un pH 7, por otro lado, no se observó que el pH produjera un efecto significativo en el perfil de ácidos en el estanque agitado, ya que en ambos casos se obtuvo que el ácido predominante fue el ácido butírico con contenido similares. Una mayor producción de AGV a pH 7 en comparación a pH ácidos, pudo haber sido a que en el medio ácido hay mayor presencia de protones, lo que genera limitaciones en las etapas de acidogénesis y acetogénesis, ya que estas liberan protones al medio, por lo cual químicamente a pH 7 son favorecidas las reacciones que permiten la producción de AGV.

En la literatura se encuentra que al operar a condiciones similares de LBR también obtuvieron que el AGV predominante a pH neutros es el butírico (Xiong, Hussain, Lee, et al., 2019) y a pH ácidos predomina la producción de acético en LBR (Hussain et al., 2017) y Ali et al. (2021) reporta que en tanto como en pH ácidos como en neutros, el ácido que se produce en mayor cantidad al utilizar residuos alimentarios es el ácido butírico en STR (Ali et al., 2021).

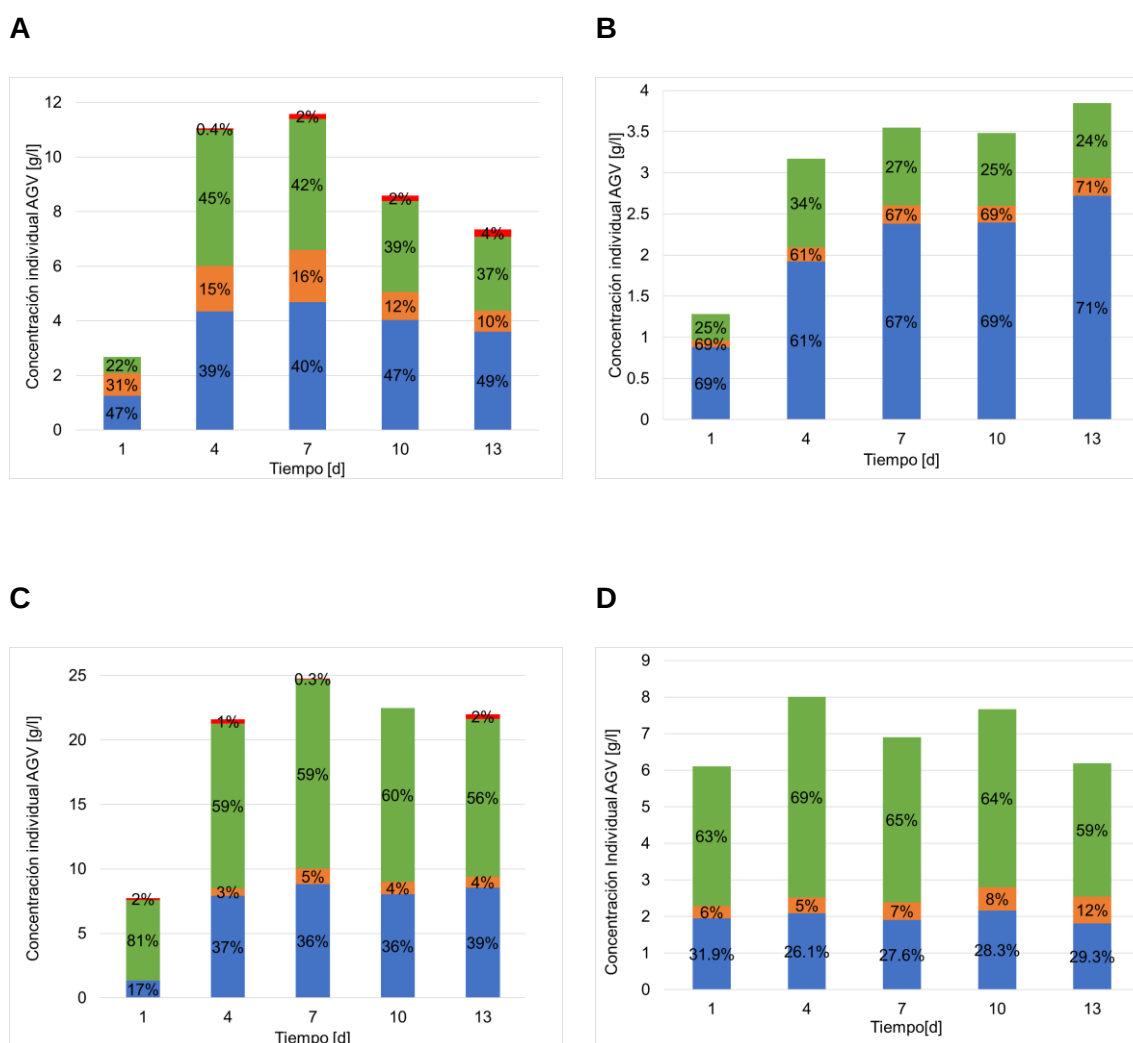


Figura 13. Composición de ácidos grasos volátiles. (A) LBR a pH 7, (B) LBR pH libre, (C) STR a pH 7, (D) STR pH libre. Azul para ácido acético, naranja indica ácido propiónico, verde indica ácido butírico y rojo indica ácido isobutírico.

5.1.5. Ácido láctico

En cuanto a la síntesis de ácido láctico se observó que este se acumuló en el sistema solo cuando se operó a pH ácido, tal y como se aprecia en la figura 14. También se pudo apreciar que se produjeron cantidades similares para los sistemas LBR y STR, siendo $11,0 \pm 2,3$ g/l para LBR y $12,1 \pm 0,75$ g/l para STR. Esto representa un $24,2 \pm 2,5\%$ de la fracción de DQO soluble en LBR y un $27,7 \pm 2,3 \%$ del total de DQO soluble en el STR, lo cual al igual ocurrido que con la DQO, no se logra apreciar un efecto del mezclado en la acumulación de ácido láctico. En la literatura se ha reportado resultados similares a los obtenidos, Kim et al. (2016) observó la acumulación de ácido láctico en la fermentación anaerobia de residuos alimentarios a pH libre, posiblemente como resultado de la fermentación láctica (Kim et al., 2016).

Cuando se operó a pH 7, se apreció la presencia de ácido láctico solo el primer día, luego no se detectó en los siguientes días de operación. Tal caso se asemeja al de GU et al. (2018), en el cual reportan la presencia de ácido láctico los primeros días de operación, pero al ir añadiendo agentes neutralizantes para mantener un pH neutro, se logró disminuir casi en su totalidad la concentración de ácido láctico, fomentando así la presencia de AGV (Gu et al., 2018).

Estos resultados también indican que a pH 7 se favorece la reducción de moléculas complejas a compuestos más pequeños, ya que como se señaló anteriormente, a pH 7 se obtienen mayor cantidad de AGV, no así en el caso cuando no existe control de pH, en donde se ve favorecida la producción de moléculas mas grandes, tal y como lo es el ácido láctico.

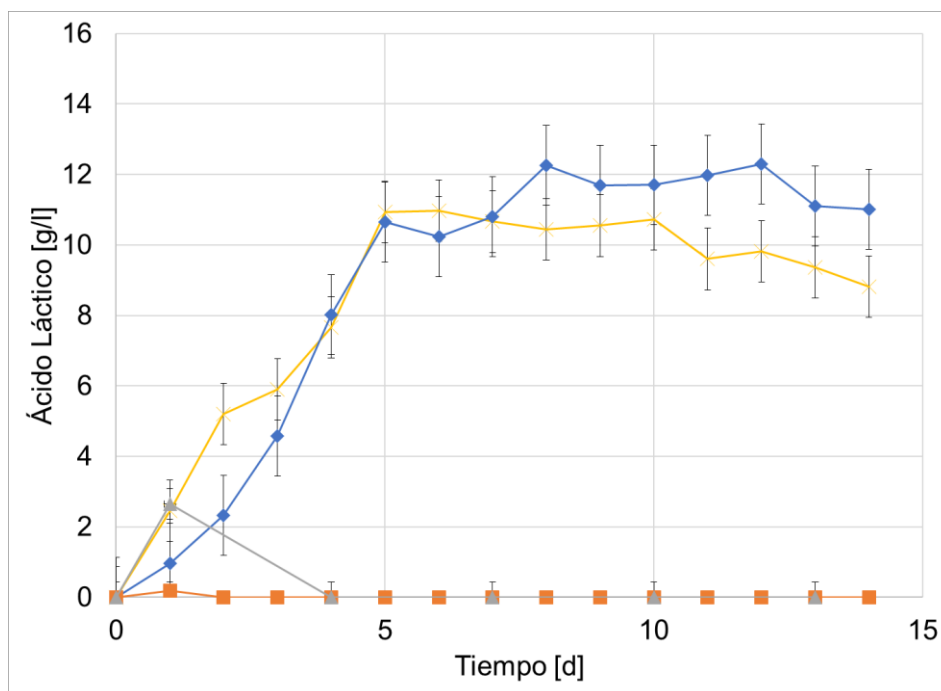


Figura 14. Acumulación de Ácido láctico en el sistema. Amarillo indica LBR a pH libre, Azul indica STR a pH libre, naranja indica STR a pH 7 y gris indica LBR a pH 7.

5.1.6. Etanol

Tal y como se muestra en la figura 15, en el STR se obtuvo a partir del quinto día una concentración de etanol de $6,73 \pm 0,78$ g/l a pH libre y $12,88 \pm 1,13$ g/l a pH 7, y en el LBR a partir del quinto día la concentración de etanol estuvo alrededor de $3,37 \pm 0,20$ g/l sin control de pH y en $6,80 \pm 0,66$ g/l a pH neutro. Al igual que la producción de AGV, la producción de etanol se vio favorecida por el mezclado, lo cual puede ser explicado ya que, al igual que los AGV, el etanol es un producto de la acidogénesis (Varnero, 2011), por lo cual, si los microorganismos tienen mayor área de contacto con el sustrato, estos pueden digerir mayor cantidad de sustrato. En cuanto al efecto del pH en el STR, la acumulación de etanol fue mayor cuando se operó a pH 7. Esto ya ha sido reportado en literatura, en donde WU et al. (2017) trabajó con la fermentación acidogénica de residuos de frutas y verduras en un reactor de estanque agitado, observó mayor cantidad de etanol a pH cercanos a 7 en comparación a pH cercano a 4 (Y. Wu et al., 2017).

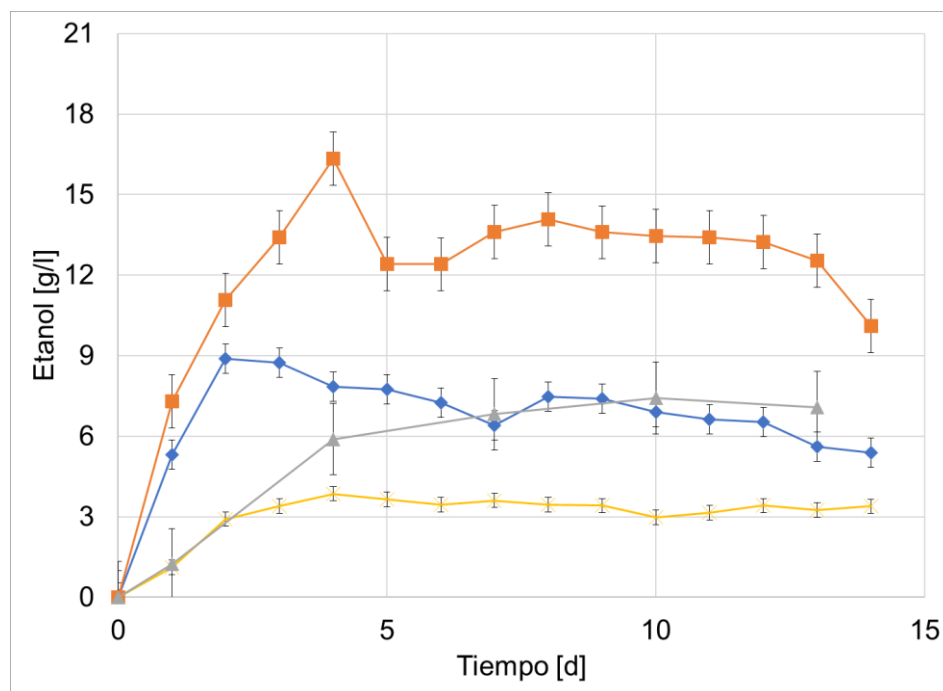


Figura 15. Acumulación de etanol en el sistema. Amarillo indica LBR a pH libre, Azul indica STR a pH libre, naranja indica STR a pH 7 y gris indica LBR a pH 7.

5.1.7. Identificación de compuestos de fermentación

Con las concentraciones obtenidas y utilizando la ecuación 3, se pudo conocer la composición porcentual de la DQO soluble al final de la operación para cada condición, lo cual se muestra en la figura 16. Para los sistemas a pH 7, tanto STR como LBR, se puede ver que se logró identificar más del 90% de los compuestos que pertenecen a la DQO soluble, los cuales la componen principalmente AGV, ácido láctico y etanol, sin embargo, en los STR sin control de pH solo se logró identificar cerca del 80% de los componentes de la DQO soluble y para el LBR fue identificable solo el 50% de los componentes orgánicos solubles. Los compuestos no identificados podrían ser moléculas solubilizadas, como proteínas, lípidos o carbohidratos complejos, pero que no han sido acidificadas. Esto puede ser a causa de que la acidogénesis y la acetogénesis es inhibida a pH ácidos, por lo cual el digerido obtenido cuando no existe control de pH, aún tiene potencial de ser acidificado para producir más AGV.

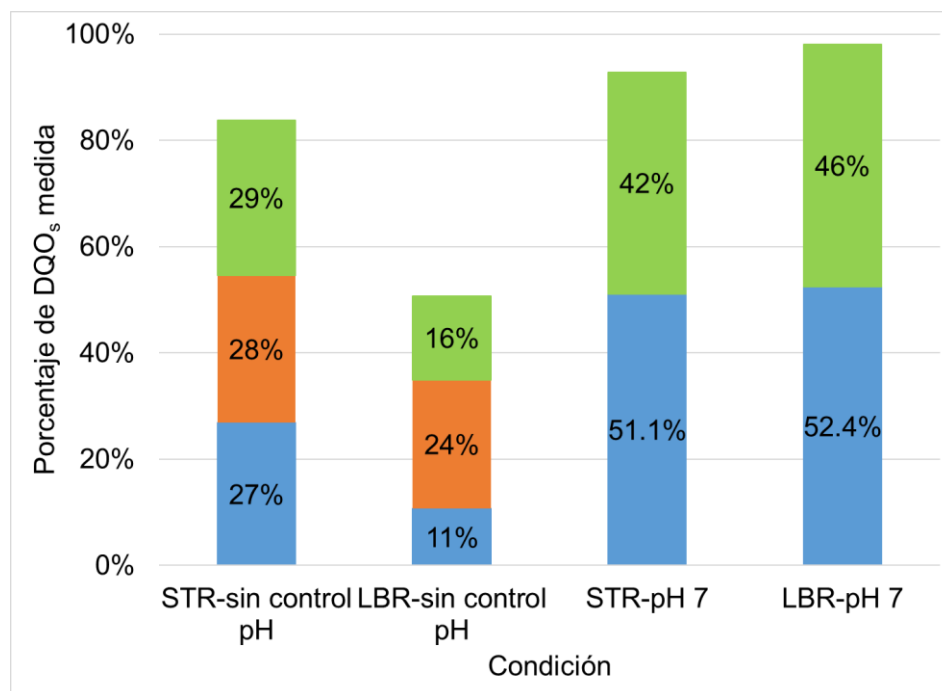


Figura 16. Composición porcentual de la DQO soluble. Azul indica AGV, naranja indica ácido láctico y verde indica etanol.

5.2. Estudio del efecto del inóculo

A partir del análisis químico y de resultados, se presenta la discusión realizada de como afectó el tipo de inóculo inicial en los experimentos de producción de AGV a partir de alperujo. Se analizó el impacto en la DQO soluble, en la concentración de los AGV y en los rendimientos de hidrólisis y de acidificación.

5.2.1. Demanda Química de Oxígeno

La acumulación de DQO soluble obtenida en los sistemas se representa en la figura 17, donde se observó que cuando se utilizó el inóculo de planta de tratamiento de caña de azúcar, el valor de la DQO soluble disminuyó de su valor inicial hasta los $7,17 \pm 0,32 \text{ gO}_2/\text{l}$, esto representó que al final de la operación hubo una hidrólisis del $31,76 \pm 1,6\%$. Por otro lado, cuando se utilizó un inóculo PTARU, el valor de la DQO soluble aumentó desde su valor inicial hasta llegar a un valor de $2,92 \pm 0,28 \text{ gO}_2/\text{l}$, por lo cual el rendimiento de hidrólisis en este caso fue de $19,16 \pm 1,8\%$. Este último valor de hidrólisis es similar a lo que se encuentra en la literatura, ya que se ha reportado que para la fermentación anaerobia de alperujo a pH 5 usando un inóculo proveniente de un digestor anaerobio de una planta de tratamiento de aguas residuales, se obtiene una solubilización promedio del 20% (Cabrera et al., 2019). La hidrólisis obtenida en el primer caso es mayor que en el segundo caso, por lo cual se puede concluir que la solubilización de materia orgánica del alperujo fue favorecida al utilizar una mayor cantidad de microorganismos hidrolíticos, ya que se cree que el inóculo proveniente de la planta de tratamiento de caña de azúcar tenga mayor cantidad de microorganismos hidrolíticos.

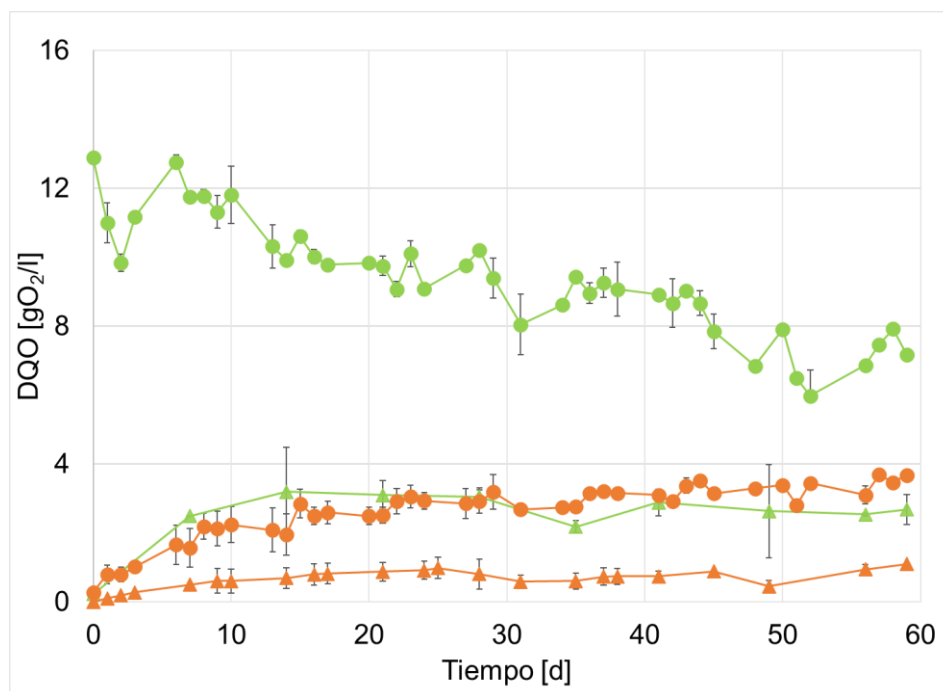


Figura 17. DQO soluble en reactor semi continuo de fermentación anaerobia de alperujo. En verde los resultados obtenidos utilizando inóculo hidrolítico y en naranja los resultados obtenidos utilizando inóculo metanogénico. Circulo para representar DQO soluble y triangulo AGV en DQO equivalente.

5.2.2. Ácidos grasos Volátiles

Los AGV producidos al utilizar el inóculo de la caña de azúcar fueron en aumento hasta el día 14, en donde mantuvieron su valor estable hasta la final operación, tal y como se enseña en la figura 17. La suma de AGV fue de $2,75 \pm 0,32$ gO₂/l, lo que significó un $37,35 \pm 3,4\%$ de acidificación. Los AGV obtenidos cuando se utilizó el inóculo PTAR se pueden ver en la figura 17, donde se apreció que estos aumentan su concentración inicial hasta el día 21 a $0,88 \pm 0,26$ gO₂/l y luego disminuyeron su valor hasta el día 49 y para el final de la operación, al día 59, se logró aumentar su concentración a $1,10 \pm 0,02$ gO₂/l. Esta disminución de AGV pudo haber sido causa debido a que a pH ácidos la acetogénesis es limitada, por lo cual la producción de ácido acético pudo haber sido disminuida a tal punto de que se extrajo más ácido acético de lo que se produjo del reactor, generando así una disminución de concentración de AGV total dentro del reactor.

El rendimiento de acidificación al utilizar el inóculo PTAR en el día 59 fue de $29,99 \pm 0,04\%$, el cual es un valor bastante similar al utilizar el inóculo de la caña de azúcar, por lo cual no se podría concluir si existe un cambio en el rendimiento de acidificación.

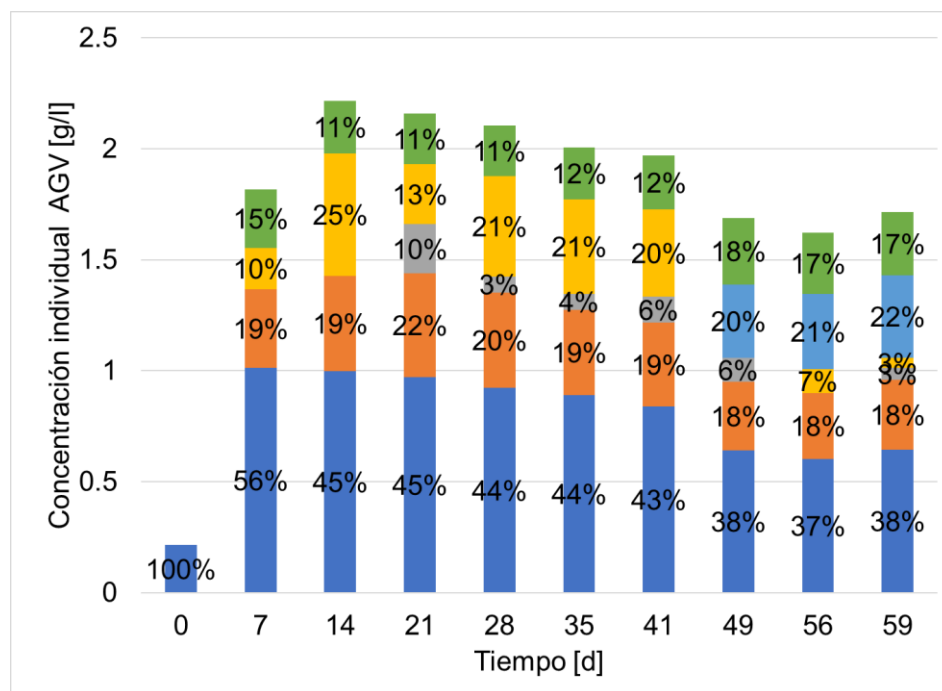


Figura 18. Composición de ácidos grasos volátiles en reactor semi continuo de fermentación anaerobia de alperujo con inóculo de caña de azúcar. Azul para ácido acético, naranja indica ácido propiónico, gris indica ácido isobutírico, amarillo para ácido butírico, celeste indica ácido isovalérico y verde ácido valérico.

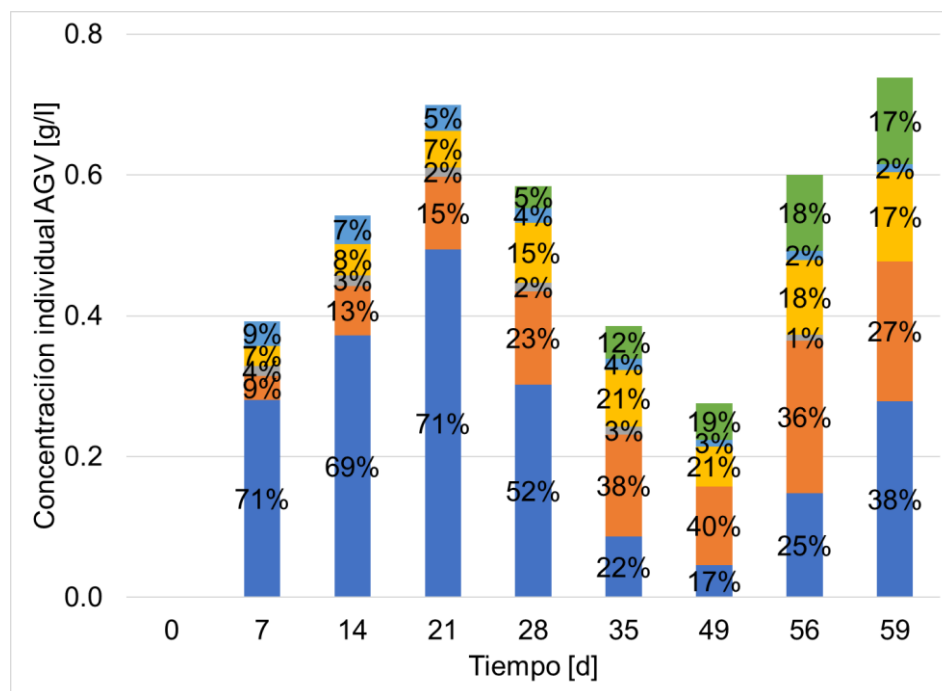


Figura 19. Composición de ácidos grasos volátiles en reactor semi continuo de fermentación anaerobia de alperujo con inóculo PTARU. Azul para ácido acético, naranja indica ácido propiónico, gris indica ácido isobutírico, amarillo para ácido butírico, celeste indica ácido isovalérico y verde ácido valérico.

Cuando se utilizó el inóculo de la planta de tratamiento de caña de azúcar, los principales AGV obtenidos correspondieron al ácido acético, propiónico, butírico y valérico, tal como se puede apreciar en la figura 18. A partir del séptimo día se apreció un aumento de los AGV, principalmente de ácido acético, lo cual puede ser atribuible a la acidogénesis y acetogénesis que ocurre en las condiciones anaerobias otorgadas al sistema. A partir de la segunda semana se obtuvo una composición de ácido acético de $43 \pm 3\%$, $20 \pm 1\%$ de propiónico, $18 \pm 7\%$ de butírico y $12 \pm 2\%$ de valérico.

Como se observa en la figura 19, cuando se utilizó el inóculo PTAR, se apreció que las primeras 3 semanas se vio favorecida la síntesis de ácido acético hasta lograr un $71 \pm 5\%$, luego la concentración de ácido acético disminuyó hasta el día 49. Esto podría explicarse por la limitación de la acetogénesis a un pH ácido, debido a que los protones son uno de los productos de la degradación hacia ácido acético, y al haber protones en el medio, la acetogénesis es limitada, lo cual favoreció la acumulación de ácidos de cadena más larga,

como el ácido valérico y butírico, que no se lograron degradar a ácido acético. Junto a este efecto, al extraer muestras del reactor, la producción de ácido acético pudo haber sido menor a la cantidad extraída, lo que habría provocado una disminución de su concentración dentro del reactor. Finalmente, al día 59 de la operación se obtuvo una composición de ácido acético en torno al $38\pm4\%$, $27\pm3\%$ de propiónico, $17\pm5\%$ de butírico y $17\pm2\%$ de valérico.

6. Conclusiones

A partir del trabajo de investigación realizado se puede concluir que:

- En los experimentos sin control de pH, la solubilización de materia orgánica es similar en el STR y en el LBR. Caso contrario ocurre a pH 7, ya que la solubilización de materia orgánica es mayor en el STR en comparación al LBR.
- En sistemas sin control de pH, la acidificación es mayor en los STR que en los LBR. Por otro lado, a pH 7, la estrategia del mezclado no tiene un efecto en el rendimiento de acidificación.
- En sistemas sin control de pH, existe un efecto de la estrategia del mezclado sobre la composición de los AGV. Por otro lado, a pH 7, la estrategia del mezclado no parece afectar la composición de los AGV.
- La estrategia del mezclado no influye en la producción de ácido láctico, pero si influye en la producción de etanol, siendo mayor la producción de etanol en el STR que en el LBR cuando no se tiene control de pH y a pH 7.
- Al utilizar un inóculo de una planta de tratamiento de caña de azúcar en la síntesis de AGV a partir de alperujo, se obtiene un mejor rendimiento de hidrólisis que cuando se utiliza un inóculo PTARU. Cabe mencionar que, en ambos casos, se obtiene un rendimiento de acidificación similar, con la diferencia que la concentración de ácido acético a lo largo de la operación, ya que cuando se utilizó el inóculo de la caña de azúcar esta se mantiene constante y con el inóculo PTARU esta concentración es variable.

7. Referencias

- Aboudi, K., Álvarez-Gallego, C. J., Romero-García, L. I., & Fernández-Güelfo, L. A. (2021). Biogas, biohydrogen, and polyhydroxyalkanoates production from organic waste in the circular economy context. *Sustainable Biofuels: Opportunities and Challenges*, 305–343. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820297-5.00002-5>
- Ali, R., Saravia, F., Hille-Reichel, A., Gescher, J., & Horn, H. (2021). Propionic acid production from food waste in batch reactors: Effect of pH, types of inoculum, and thermal pre-treatment. *Bioresource Technology*, 319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124166>
- Bayrakdar, A., Sürmeli, R. Ö., & Çalli, B. (2018). Anaerobic digestion of chicken manure by a leach-bed process coupled with side-stream membrane ammonia separation. *Bioresource Technology*, 258, 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.117>
- Bouallagui, H., Lahdheb, H., Ben Romdan, E., Rachdi, B., & Hamdi, M. (2009). Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition. *Journal of Environmental Management*, 90(5), 1844–1849. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.12.002>
- Brown, D., & Li, Y. (2013). Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production. *Bioresource Technology*, 127, 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.081>
- Cabrera, F., Serrano, A., Torres, Á., Rodríguez-Gutierrez, G., Jeison, D., & Fermoso, F. G. (2019). The accumulation of volatile fatty acids and phenols through a pH-controlled fermentation of olive mill solid waste. *Science of the Total Environment*, 657, 1501–1507. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.124>

- Chakraborty, D., Karthikeyan, O. P., Selvam, A., Palani, S. G., Ghangrekar, M. M., & Wong, J. W. C. (2022). Two-phase anaerobic digestion of food waste: Effect of semi-continuous feeding on acidogenesis and methane production. *Bioresource Technology*, 346. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126396>
- Consejo Oleícola Internacional. (2022). *Olive oil: world consumption has increased over last three years*. <https://www.internationaloliveoil.org/rid/?lang=es>
- Dahiya, S., Sarkar, O., Swamy, Y. V., & Venkata Mohan, S. (2015). Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with co-generation of biohydrogen. *Bioresource Technology*, 182, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.007>
- De Gioannis, G., Muntoni, A., Poletini, A., Pomi, R., & Spiga, D. (2017). Energy recovery from one- and two-stage anaerobic digestion of food waste. *Waste Management*, 68, 595–602. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.013>
- de Sá, L. R. V., de Oliveira, M. A. L., Cammarota, M. C., Matos, A., & Ferreira-Leitão, V. S. (2011). Simultaneous analysis of carbohydrates and volatile fatty acids by HPLC for monitoring fermentative biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(23), 15177–15186. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.08.056>
- Demirer, G. N., & Chen, S. (2008). Anaerobic biogasification of undiluted dairy manure in leaching bed reactors. *Waste Management*, 28(1), 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.11.005>
- Donner, M., Erraach, Y., López-i-Gelats, F., Manuel-i-Martin, J., Yatribi, T., Radić, I., & El Hadad-Gauthier, F. (2022). Circular bioeconomy for olive oil waste and by-product valorisation: Actors' strategies and conditions in the Mediterranean area. *Journal of Environmental Management*, 321. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115836>

- Fariñas, B., Oliva, A., Rodríguez-Galán, M., Esposito, G., García-Martín, J. F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Serrano, A., & Famoso, F. G. (2020). Environmental assessment of olive mill solid waste valorization via anaerobic digestion versus olive pomace oil extraction. *Processes*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/PR8050626>
- Fernández, D., Astals, S., Peces, M., Frison, N., Bolzonella, D., Mata-Alvarez, J., & Dosta, J. (2020). Volatile fatty acids production from biowaste at mechanical-biological treatment plants: Focusing on fermentation temperature. *Bioresource Technology*, 314. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123729>
- García, J. F., Cuevas, M., Feng, C. H., Mateos, P. Á., García, M. T., & Sánchez, S. (2020). Energetic valorisation of olive biomass: Olive-tree pruning, olive stones and pomaces. In *Processes* (Vol. 8, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/PR8050511>
- Gong, X., Wu, M., Jiang, Y., & Wang, H. (2021). Effects of different temperatures and pH values on volatile fatty acids production during codigestion of food waste and thermal-hydrolysed sewage sludge and subsequent volatile fatty acids for polyhydroxyalkanoates production. *Bioresource Technology*, 333, 125149. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125149>
- Gu, X. Y., Liu, J. Z., & Wong, J. W. C. (2018). Control of lactic acid production during hydrolysis and acidogenesis of food waste. *Bioresource Technology*, 247, 711–715. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.166>
- Hussain, A., Filiatrault, M., & Guiot, S. R. (2017). Acidogenic digestion of food waste in a thermophilic leach bed reactor: Effect of pH and leachate recirculation rate on hydrolysis and volatile fatty acid production. *Bioresource Technology*, 245, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.130>

- Izumi, K., Okishio, Y., Nagao, N., Niwa, C., Yamamoto, S., & Toda, T. (2010). Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(7), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.06.013>
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., & Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 143, 525–530. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.025>
- Karthikeyan, O. P., & Visvanathan, C. (2013). Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(3), 257–284. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9304-9>
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management*, 31(8), 1737–1744. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.021>
- Kim, M. S., Na, J. G., Lee, M. K., Ryu, H., Chang, Y. K., Triolo, J. M., Yun, Y. M., & Kim, D. H. (2016). More value from food waste: Lactic acid and biogas recovery. *Water Research*, 96, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.064>
- Komemoto, K., Lim, Y. G., Nagao, N., Onoue, Y., Niwa, C., & Toda, T. (2009). Effect of temperature on VFA's and biogas production in anaerobic solubilization of food waste. *Waste Management*, 29(12), 2950–2955. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.07.011>
- Lahiri, A., Daniel, S., Kanthapazham, R., Vanaraj, R., Thambidurai, A., & Peter, L. S. (2023). A critical review on food waste management for the production of materials and biofuel. In *Journal of Hazardous Materials Advances* (Vol. 10). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100266>

- Law, A. W. S., Rubio Rincón, F., van de Vossenberg, J., Saffar, Z. Al, Welles, L., Rene, E. R., & Lopez Vazquez, C. (2023). Volatile fatty acid production from food waste: The effect of retention time and lipid content. *Bioresource Technology*, 367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128298>
- Le, T.-S., Bui, X.-T., Nguyen, P.-D., Hao Ngo, H., Dang, B.-T., Le Quang, D.-T., Thi Pham, T., Visvanathan, C., & Diels, L. (2024). Bacterial community composition in a two-stage anaerobic membrane bioreactor for co-digestion of food waste and food court wastewater. *Bioresource Technology*, 391, 129925. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129925>
- Lim, S.-J., Kim, B. J., Jeong, C.-M., Choi, J., Ahn, Y. H., & Chang, H. N. (2008). Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology*, 99(16), 7866–7874. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.028>
- Ministerio del Medio Ambiente. (2022). *NATIONAL ORGANIC WASTE STRATEGY 2020-2040*. <https://economiacircular.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2022/03/Estrategia-Nacional-Residuos-Organicos-Ingles.pdf>
- Nkemka, V. N., Arenales-Rivera, J., & Murto, M. (2014). Two-Stage Dry Anaerobic Digestion of Beach Cast Seaweed and Its Codigestion with Cow Manure. *Journal of Waste Management*, 2014, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/325341>
- ONU. (2018). *La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe*. www.issuu.com/publicacionescepal/stacks
- Owusu-Agyeman, I., Bedaso, B., Laumeyer, C., Pan, C., Malovanyy, A., Baresel, C., Plaza, E., & Cetecioglu, Z. (2023). Volatile fatty acids production from municipal waste streams and use as a carbon source for denitrification: The journey towards full-scale

- application and revealing key microbial players. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 175. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2023.113163>
- Pavlostathis, S. G. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*, 21(5–6), 411–490. <https://doi.org/10.1080/10643389109388424>
- Ribeiro, T. B., Oliveira, A. L., Costa, C., Nunes, J., Vicente, A. A., & Pintado, M. (2020). Total and sustainable valorisation of olive pomace using a fractionation approach. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(19). <https://doi.org/10.3390/app10196785>
- Saha, S., Hussain, A., Lee, J., Lee, E., & Lee, H.-S. (2023). An integrated leachate bed reactor – anaerobic membrane bioreactor system (LBR-AnMBR) for food waste stabilization and biogas recovery. *Chemosphere*, 311, 137054. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137054>
- Serrano, A., Villa-Gomez, D., Feroso, F. G., & Alonso-Fariñas, B. (2021). Is anaerobic digestion a feasible alternative to the combustion of olive mill solid waste in terms of energy production? A critical review. In *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* (Vol. 15, Issue 1, pp. 150–162). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/bbb.2159>
- Silva, F. C., Serafim, L. S., Nadais, M. H., & Arroja, L. (2016). *Acidogenic Fermentation Towards Valorisation of Organic Waste Streams into Volatile Fatty Acids*. <https://www.researchgate.net/publication/259573107>
- Singh, V., Ormeci, B., Radadiya, P., Ranjan Dhar, B., Sangal, A., & Hussain, A. (2023). Leach bed reactors for production of short-chain fatty acids: A review of critical operating parameters, current limitations and challenges, and prospects. *Chemical Engineering Journal*, 456, 141044. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.141044>

- Soto, J., Oviedo-Ocaña, E. R., Angarita-Rangel, M. A., Rodríguez-Flórez, L. V., Castellanos-Suarez, L. J., Nabarlatz, D., & Sanchez-Torres, V. (2022). Optimization of lignocellulolytic bacterial inoculum and substrate mix for lignocellulose degradation and product quality on co-composting of green waste with food waste. *Bioresource Technology*, 359, 127452. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127452>
- Valentino, F., Morgan-Sagastume, F., Campanari, S., Villano, M., Werker, A., & Majone, M. (2017). Carbon recovery from wastewater through bioconversion into biodegradable polymers. In *New Biotechnology* (Vol. 37, pp. 9–23). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.05.007>
- Varnero, T. (2011). *MANUAL DE BIOGÁS*. https://www.energia.gob.cl/sites/default/files/manual_de_biogas.pdf
- Wang, K., Yin, J., Shen, D., & Li, N. (2014). Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: Effect of pH. *Bioresource Technology*, 161, 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.088>
- Wang, Q., Zhang, G., Wang, X., Fang, W., Zhang, P., Yang, N., Wu, Y., Ma, W., & Fu, C. (2022). Promoting chain elongation efficiency from food waste by refluxing chain elongation fermentation liquid. *Journal of Cleaner Production*, 368. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.133220>
- Wu, L.-J., Qin, Y., Hojo, T., & Li, Y.-Y. (2015). Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by temperature-phased process with recycle. *Energy*, 87, 381–389. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.04.110>
- Wu, Y., Wang, C., Zheng, M., Zuo, J., Wu, J., Wang, K., & Yang, B. (2017). Effect of pH on ethanol-type acidogenic fermentation of fruit and vegetable waste. *Waste Management*, 60, 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.09.033>

- Xiong, Z., Hussain, A., & Lee, H.-S. (2019). Food waste treatment with a leachate bed reactor: Effects of inoculum to substrate ratio and reactor design. *Bioresource Technology*, 285, 121350. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121350>
- Xiong, Z., Hussain, A., Lee, J., & Lee, H. S. (2019). Food waste fermentation in a leach bed reactor: Reactor performance, and microbial ecology and dynamics. *Bioresource Technology*, 274, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.066>
- Xu, S. Y., Karthikeyan, O. P., Selvam, A., & Wong, J. W. C. (2012). Effect of inoculum to substrate ratio on the hydrolysis and acidification of food waste in leach bed reactor. *Bioresource Technology*, 126, 425–430. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.059>
- Xu, S. Y., Karthikeyan, O. P., Selvam, A., & Wong, J. W. C. (2014). Microbial community distribution and extracellular enzyme activities in leach bed reactor treating food waste: Effect of different leachate recirculation practices. *Bioresource Technology*, 168, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.009>
- Xu, S. Y., Lam, H. P., Karthikeyan, O. P., & Wong, J. W. C. (2011). Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: Effect of pH and bulking agent. *Bioresource Technology*, 102(4), 3702–3708. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.095>
- Yin, J., Yu, X., Zhang, Y., Shen, D., Wang, M., Long, Y., & Chen, T. (2016). Enhancement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from food waste: Effect of redox potential and inoculum. *Bioresource Technology*, 216, 996–1003. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.053>
- Zhang, B., Zhang, L. L., Zhang, S. C., Shi, H. Z., & Cai, W. M. (2005). The influence of pH hydrolysis and acidogenesis of kitchen wastes in two-phase anaerobic digestion.

Environmental Technology, 26(3), 329–340.
<https://doi.org/10.1080/09593332608618563>

Zhou, M., Yan, B., Wong, J. W. C., & Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. In *Bioresource Technology* (Vol. 248, pp. 68–78). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>