

Trabajo de Fin de Grado Experimental

INNOVATIVE PRODUCTION OF ORGANIC ACIDS FROM MEAT INDUSTRY ORGANIC BRINES

MANUEL CARRAMAL SILVA

Grado en Biotecnología

Tutor: Jordi Villà Freixa

Cotutores: Lidia Paredes Barro, Miguel Martínez Quintela

Vic, junio de 2023

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a Lidia y Miguel, por la confianza depositada en mí, por todo el apoyo y la ayuda recibida a lo largo de estos meses y por el entusiasmo y conocimiento que me habéis aportado. También agradecer a todas las personas que forman parte del CT BETA por haberme tratado y acogido de forma tan inmejorable. Quiero darle las gracias a también a Jordi por haberme aconsejado a lo largo de este proyecto y la motivación que me ha dado.

Agradecer a la Universidad de Vic y a su profesorado por el aprendizaje durante los años de carrera, que me han permitido desenvolverme, de forma práctica y teórica, en el desarrollo de este Trabajo Fin de Grado.

Muchas gracias a mis amigos y a mis niñas de Vic, sin las que mi paso por Vic no hubiera sido lo mismo, con los que he disfrutado experiencias inolvidables, momentos mejores y peores que, sin duda alguna, hacen de nosotros una gran familia *que portaré sempre all cor*. Os echaré de menos.

Principalmente agradecer a mi familia, en especial a mis padres y a mi hermana, María, por su apoyo, paciencia y amor incondicional a lo largo de esta etapa tan especial, pilares sin los que no hubiera logrado ser lo que soy a día de hoy. Gracias por estar siempre, en las buenas y en las malas, allanándome el camino en cada paso que doy. *Quérovos*.

RESUMEN

Título: Producción innovadora de ácidos grasos volátiles a partir de salmueras de la industria cárnica

Autor: Manuel Carramal Silva

Cotutores: Dra. Lidia Paredes Barro (CT BETA), Dr. Miguel Martínez Quintela (CT BETA) y Dr. Jordi Villà Freixa(UVic)

Fecha: Junio de 2023

Palabras clave: *Ácidos Grasos Volátiles, Aguas residuales industriales, Electrodialisis, Fermentación anaerobia.*

Durante la actividad de las industrias cárnicas se generan salmueras y aguas residuales con altos niveles de salinidad que pueden ser fuente de contaminación de los medios acuáticos si no se realiza una gestión apropiada de las mismas. Estas aguas residuales son tratadas in situ o por empresas gestoras de residuos subcontratadas por las empresas responsables, lo que supone una carga económica para dichas industrias. Se ha visto que la implantación de alternativas tecnológicas novedosas permite el correcto tratamiento de las aguas residuales y la obtención de productos de interés, como son los ácidos grasos volátiles, que pueden ser valorizados por las industrias cárnicas promoviendo a la bioeconomía circular. Por ello, en el presente Trabajo Fin de Grado se estudiado y optimizado la producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) mediante fermentación anaerobia de diferentes salmueras procedentes de la industria cárnica para que, posteriormente, puedan ser recuperados mediante la aplicación de un sistema de electrodiálisis. Los resultados observados sugieren que la salmuera con mejores resultados para la producción de AGVs y su posterior recuperación aplicando dicho novedoso tratamiento, es la procedente de la limpieza y el lavado de las tripas (Foso). En este sentido, durante la experimentación se han observado porcentajes de acidificación de la materia orgánica contenida en esta salmuera de hasta el 92% durante la fermentación anaerobia en ensayos *batch* de 7 días; y se ha logrado recuperar un 90% de los AGVs y disminuir la conductividad en el permeado del sistema de electrodiálisis.

SUMMARY

Title: Innovative production of organic acids from meat industry organic brines

Author: Manuel Carramal Silva

Supervisor: Dra. Lidia Paredes Barro (CT BETA), Dr. Miguel Martínez Quintela (CT BETA) and Dr. Jordi Villà Freixa (UVic)

Date: June 2023

Keywords: *Anaerobic Fermentation, Electrodialysis, Industry wastewater, Volatile Fatty Acids.*

During the activity of the meat industries, brine and wastewater with high levels of salinity are generated, which can be a source of contamination of aquatic environments if they are not properly managed. This wastewater is treated in situ or by waste management companies subcontracted by the responsible companies, which represents an economic burden for these industries. It has been shown that the implementation of innovative technological alternatives allows the correct treatment of wastewater and the obtaining of products of interest, such as volatile fatty acids, which can be valorised by the meat industries, promoting the circular bioeconomy. Therefore, in this Final Degree Project we studied and optimised the production of volatile fatty acids (VFAs) by anaerobic fermentation of different brines from the meat industry so that they can subsequently be recovered through the application of an electrodialysis system. The results observed suggest that the brine with the best results for the production of VFAs and their subsequent recovery by applying this novel treatment is the brine from the cleaning and washing of casings (pit). In this sense, during the experimentation, percentages of acidification of the organic matter contained in this brine of up to 92% have been observed during anaerobic fermentation in 7-day batch trials; and 90% of the VFAs have been recovered and decrease conductivity in the permeate of the electrodialysis system.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	La industria cárnica en Cataluña	1
1.2	Impacto medioambiental	1
1.3	Fermentación anaerobia	2
1.3.1	Hidrólisis	2
1.3.2	Acidogénesis	2
1.3.3	Acetogénesis	3
1.3.4	Metanogénesis	3
1.4	Parámetros operacionales de la fermentación anaerobia	4
1.4.1	pH	4
1.4.2	Conductividad	4
1.4.3	Temperatura	4
1.4.4	Tiempo de Retención Hidráulico	4
1.4.5	Tiempo de Retención Celular	5
1.4.6	Alcalinidad	5
1.4.7	Velocidad de carga orgánica (OLR)	5
1.4.8	Relación carbono/nitrógeno (C/N)	5
1.4.9	Redox	5
1.5	Interés de los AGVs en el mercado	6
1.5.1	Ácido acético	6
1.5.2	Ácido butírico	6
1.5.3	Ácido propiónico	6
1.5.4	Ácido Valérico	6
1.6	Electrodialisis	7
2	OBJETIVOS	8
3	METODOLOGÍA	9
3.1	Selección de las salmueras	9
3.2	Montaje Experimental	10
3.2.1	Operación en continuo del fermentador anaerobio	10
3.2.2	Experimentos de acidificación en batch	11
3.2.2.1	Experimento batch 1	11
3.2.2.2	Experimento batch 2	13
3.2.3	Operación en batch del sistema de electrodialisis	14
3.2.3.1	Configuración del sistema de electrodialisis	14
3.2.3.1.1	Determinación de la curva LCD	14
3.2.3.1.2	Voltaje constante	15
3.2.3.1.3	Separación selectiva	15
3.3	Métodos analíticos	15
3.3.1	pH y conductividad eléctrica	15
3.3.2	Sólidos totales y sólidos volátiles	16

3.3.3	AGVs	16
3.3.3.1	Extracción de AGVs.....	16
3.3.3.2	Cromatografía de gases.....	16
3.3.4	DQO	16
3.4	Cálculos	17
3.4.1	Análisis estadístico.....	18
4.	RESULTADOS.....	19
4.1	Porcentajes de acidificación obtenidos en los experimentos <i>batch</i>	19
4.2	Perfil de AGVs obtenidos de la fermentación en los experimentos <i>batch</i>	22
4.3	Rendimiento de la biomasa	23
4.4	Recuperación de AGVs purificados mediante electrodiálisis	24
4.5	Beneficio económico estimado	26
5	DISCUSIÓN.....	27
6	CONCLUSIONES	30
6.1	Limitaciones y mejoras para realizar en proyectos futuros	30
6.1.1	Electrodiálisis bipolar.....	30
6.1.2	Optimización del proceso y tiempo de separación iónica	30
7	BIBLIOGRAFÍA	31
ANEXOS.....	<i>i</i>

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización de las salmueras procedentes de la industria cárnica.	9
Tabla 2. Composición de la alimentación sintética.	11
Tabla 3. Caracterización del inóculo utilizado durante el batch 1	12
Tabla 4. Condiciones establecidas para el batch 1.	12
Tabla 5. Matriz experimental diseñada para las condiciones del batch 1.	12
Tabla 6. Caracterización del inóculo batch 2.	13
Tabla 7. Condiciones establecidas para el batch 2.	13
Tabla 8. Equivalencias g DQO correspondientes a los g de AGVs.	17
Tabla 9. Concentraciones finales de los AGVs producidos durante el día 7 con la salmuera de Foso con RIS bajo y sus precios de mercado.	26
Tabla 10. Beneficio económico total estimado por m ³	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de fermentación anaeróbica.....	3
Figura 2. Funcionamiento de la electrodiálisis.....	7
Figura 3. Esquema del fermentador anaerobio utilizado.	10
Figura 4. Esquema de la electrodiálisis.	14
Figura 5. Resultados del porcentaje de acidificación correspondientes al primer experimento batch.....	20
Figura 6. Resultados del porcentaje de acidificación correspondientes al segundo experimento batch.....	21
Figura 7. Perfiles de AGVs obtenidos en el primer experimento batch.....	22
Figura 8. Perfiles de AGVs obtenidos en el segundo experimento batch.	23
Figura 9. Rendimientos de biomasa obtenidos en las condiciones del primer experimento batch. Los resultados se expresan en $\text{gDQO}_{\text{AGVs}}/\text{gSV}$	24
Figura 10. Rendimientos de biomasa obtenidos en las condiciones del segundo experimento batch. Los resultados se expresan en $\text{gDQO}_{\text{AGVs}}/\text{gSV}$	24
Figura 11. Recuperación de los AGVs con voltaje constante.	25
Figura 12. Recuperación de los AGVs con intensidad constante.	25
Figura 13. Correlación EC - % Acidificación.....	28

1 INTRODUCCIÓN

1.1 La industria cárnica en Cataluña

La industria cárnica, dedicada principalmente al sacrificio y a la transformación de la carne, es el principal sector agroalimentario en Cataluña, abarcando más del 31% del volumen de negocio en dicho sector con producciones superiores a 2,5 millones de toneladas anuales. Se posiciona como uno de los mayores centros productivos de Europa y como décimo a nivel mundial, principalmente en carnes de origen porcina, bovina y avícola. En el mercado estatal alcanza el 51%, mientras que en Europa representa el 22% [1].

Por ello, sus procesos de producción implican ciertas cuestiones medioambientales relacionadas, principalmente, con la gestión de las aguas residuales de alta salinidad generadas durante la producción de productos elaborados tales como los embutidos o el jamón curado. Teniendo en cuenta el alto impacto ambiental debido a su alta carga contaminante, las aguas residuales salinas deben ser gestionadas adecuadamente por las industrias alimentarias, bien in situ o a través de empresas de gestión externas. [2].

1.2 Impacto medioambiental

La industria cárnica consume altas cantidades de agua y, como consecuencia, se generan elevados volúmenes de aguas residuales contaminadas. El mayor problema medioambiental de estas aguas residuales, como producto de la actividad de dichas industrias y del empleo de sal para el procesado, está asociado a la materia orgánica producida y liberada, junto con la carga de proteínas y las elevadas concentraciones de sales minerales disueltas, lo que desencadena un aumento de la conductividad eléctrica en el agua, lo que podría afectar negativamente al desarrollo de vida acuática, alterando su equilibrio ecológico y dañando los ecosistemas acuáticos. [2].

La liberación de aguas contaminadas al medioambiente es una de las principales causas de muerte de vida acuática debido a la continua reducción del oxígeno disponible por la oxidación de la materia orgánica contenida en las aguas residuales. Además, la carga de nitrógeno procedente de las proteínas favorece el crecimiento descontrolado de algas y, por tanto, el desarrollo de la eutrofización - enriquecimiento nutritivo del medio acuático que provoca condiciones anóxicas y una disminución de la calidad del agua [2,3].

Los actuales costes de gestión de las salmueras y aguas residuales obligan a las empresas a explorar procesos alternativos orientados a su tratamiento más eficiente y valorización. Una solución prometedora es el tratamiento de estas aguas residuales mediante fermentación anaerobia. Este proceso bioquímico permite la producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) y su valorización, lo cual está alineado con el concepto de economía circular. Estos productos son un atractivo económico para la obtención de beneficios en la industria química o agroalimentaria, tanto como para la producción de fertilizantes, aditivos alimentarios, generación de combustible microbiano, eliminación biológica de nitrógeno o producción de biopolímeros (ej. PHAs), entre otros [4].

1.3 Fermentación anaerobia

La fermentación anaerobia es un proceso de carácter bioquímico que consiste en la degradación de la materia orgánica en ausencia de oxígeno y que presenta ciertas ventajas, como la recuperación energética en forma de biogás, desarrollo de energías renovables mediante el control de la emisión de gases de efecto invernadero o la producción de fertilizantes orgánicos. Este proceso biológico permite la conversión de sustratos orgánicos complejos en biogás gracias a la acción de los microorganismos sinérgicamente implicados y a las condiciones anaeróbicas establecidas. La complejidad del sustrato varía en función de su origen y composición, y se pueden tratar diferentes corrientes residuales desde estiércol hasta residuos derivados del procesado de alimentos [4,5]. Consta de cuatro etapas (*Figura 1*) diferenciadas por los microorganismos que actúan en cada una de ellas, los sustratos utilizados y los productos obtenidos: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis; que corresponden al modelo ADM 1 (Digestión Anaerobia Modelo N°1), desarrollado por la IWA (International Water Association) y es el modelo ampliamente más aceptado y empleado por investigadores [6]. La fermentación anaerobia es un proceso esencial para mantener la estabilidad del ecosistema promoviendo el ciclo del carbono mediante el flujo de materia y energía [4,7].

1.3.1 Hidrólisis

En esta primera etapa de la fermentación anaerobia, la materia orgánica soluble y componentes de mayor masa molecular (lípidos, proteínas, grasas, polisacáridos o ácidos nucleicos), son transformados por enzimas hidrolíticas en sustancias más simples para que puedan ser absorbidos por los microorganismos como fuente de alimentación [5,7].

La velocidad del proceso hidrolítico depende de la composición y complejidad del propio sustrato. Éste actúa como factor limitante de la fermentación anaeróbica, inhibiendo el crecimiento de la biomasa. En su hidrólisis participan microorganismos sacarolíticos y proteolíticos; bacterias anaerobias estrictas como *Clostridium* o facultativas como *Staphylococcus* [6,8].

1.3.2 Acidogénesis

Las sustancias simplificadas (monómeros) durante la hidrólisis se transforman en ácidos orgánicos de cadena corta, tales como el ácido propiónico, butírico, acético, y se producen hidrógeno y CO₂. En esta etapa, la formación de hidrógeno supone un factor limitante, ya que un aumento de la presión parcial podría implicar una disminución de la producción de ácidos orgánicos [5,7].

La población de microorganismos correspondientes a esta etapa es la mayoritaria, suponiendo el 90% del total del cultivo. Estos microorganismos tienen una mayor tasa de crecimiento y pueden resistir condiciones más extremas que las metanogénicas, como pH bajos o temperaturas y cargas orgánicas (Organic Loading Rate, OLR) elevadas. Algunas de las bacterias que participan en esta etapa de la fermentación anaeróbica son: *Acinetobacter* sp, *Actinomyces* sp, *Pasteurella* sp, *Staphylococcus hominis*, *Bacillus*, *Clostridium* spp, *Bifidobacterium*, *Delsulphovibrio* spp, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli* [5,6,8].

1.3.3 Acetogénesis

En la fase acetogénica, los productos de la acidogénesis son convertidos en sustratos metanogénicos, es decir, los ácidos grasos volátiles producidos son reducidos a acetato, hidrógeno y CO_2 . Las bacterias acetogénicas, al igual que las acidogénicas, tienen un crecimiento notoriamente más rápido que las metanogénicas. En esta etapa participan principalmente microorganismos anaerobios estrictos homoacetogénicos como *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium woodii* [5,6,8].

1.3.4 Metanogénesis

Durante la etapa metanogénica los productos intermedios resultantes de la acetogénesis son tratados por organismos metanógenos para la producción de metano (CH_4). Es la reacción bioquímica más lenta de todo el proceso de la fermentación anaerobia [8]. Participan microorganismos metanogénicos acetotróficos como *Methanosaeta concilii* ó *Methanosarcina acetivorans* que emplean el acetato como sustrato para producir alrededor del 70% del metano resultante en esta etapa. También participan metanógenos hidrogenotróficos como *Metanobacterium bryantii* ó *Metanobrevibacter arboriphilus* que utilizan el CO_2 y el H_2 como sustratos. Una elevada concentración de ácidos grasos volátiles o pH bajos pueden suponer factores limitantes en esta etapa inhibiendo la actividad metanogénica de las bacterias [5,6,7].

El proceso de fermentación anaerobia es dinámico, pudiéndose detener ciertas etapas para generar otros productos de interés en función de los objetivos deseados. Por ello es posible obtener ácidos grasos orgánicos volátiles, junto alcohóles, acetonas o hidrógeno, como principal producto de la fermentación si se detiene la fermentación en la etapa acidogénica [2,9].

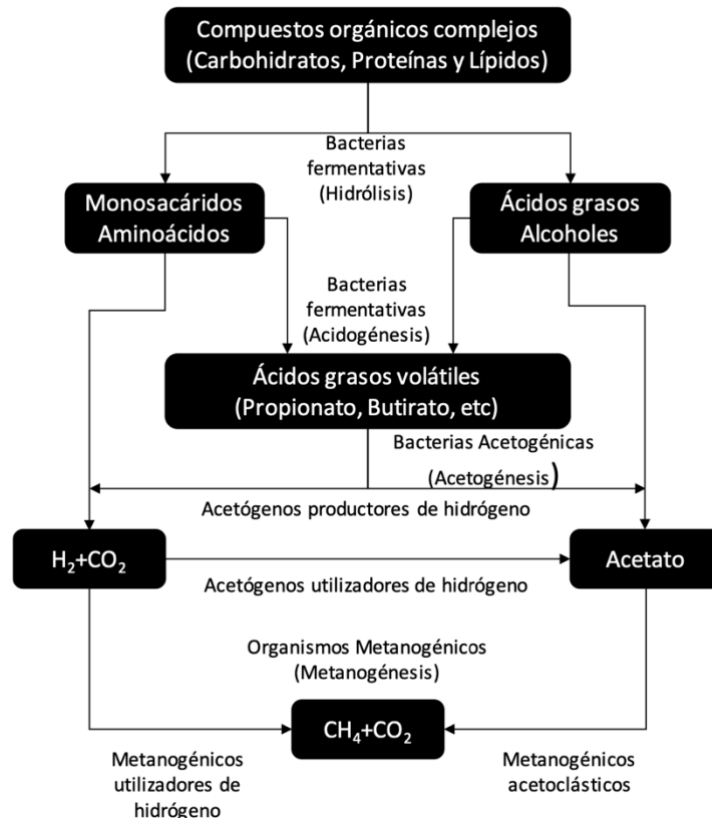


Figura 1. Esquema del proceso de fermentación anaeróbica. Valdovinos Lepine, A. (2018). Tiempo de residencia medio para diseño de digestores anaerobios de residuos orgánicos urbanos. Universidad Nacional Autónoma de México.

1.4 Parámetros operacionales de la fermentación anaerobia

Para poder controlar las etapas de la fermentación anaerobia deben tenerse en cuenta ciertos factores que juegan un rol importante en las condiciones que permiten la transición entre etapas, además de favorecer positiva o negativamente al desarrollo de los productos o crecimiento de los microorganismos involucrados [8].

1.4.1 pH

El pH permite medir la acidez o la basicidad de una disolución determinada. El rango óptimo de pH para la acidogénesis se encuentra entre 4,5 y 6,5 [8,10]. Las variaciones de pH se deben a diferentes factores tales como la adición de bicarbonato, o elevadas concentraciones de AGVs. No se puede generalizar con todos los efectos relacionados con el pH, ya que también influyen las características fisicoquímicas del sustrato y los pH específicos de los diferentes grupos microbianos del cultivo mixto [5].

1.4.2 Conductividad

La capacidad de conducción de corrientes eléctricas de una solución viene determinada por la conductividad eléctrica (CE). Este parámetro aporta información sobre la composición iónica y de sales dentro de la solución [11,12]. Las unidades de medida se establecen en milisiemens/cm (mS/cm) [13,14].

1.4.3 Temperatura

La fermentación anaerobia puede llevarse a cabo en un rango de temperatura mesofílico con una temperatura óptima de 37°C. Este parámetro está relacionado de manera inversamente proporcional con los tiempos de retención [8,10]. Dentro de este rango, las bacterias son menos sensibles a los posibles cambios de temperatura con variaciones de $\pm 3^{\circ}\text{C}$ [8].

1.4.4 Tiempo de Retención Hidráulico

El Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) es el periodo en el que el sustrato permanece en el biorreactor en contacto con la biomasa. Establece el tiempo disponible para el crecimiento de los microorganismos y para la conversión de la materia orgánica en producto [8]. La acumulación de AGVs aumenta a TRH bajos (de 3 a 6 días), mientras que la producción de metano aumenta con tiempos residencias más elevados (entre 12 y 21 días) [5].

1.4.5 Tiempo de Retención Celular

El tiempo de retención celular hace referencia al tiempo medio de permanencia de los microorganismos en el reactor antes de ser retirados y se establece en función al tiempo de duplicación de los microorganismos que intervienen en la fermentación anaerobia [8]. Se recomienda un valor aproximado dos veces superior a la tasa de duplicación de los microorganismos de crecimiento más lento. Sin embargo, su valor varía en función de otros parámetros como la temperatura, el diseño experimental o la composición del residuo a ser tratado [10]. Es un factor importante que influye en la composición del biogás, en la degradación de materia o en la tolerancia a tóxicos [8].

1.4.6 Alcalinidad

Permite la estabilidad del proceso aumentando la capacidad de soportar cambios de pH [10]. Los niveles de alcalinidad deben ser los suficientes para mantener los rangos óptimos de pH (7,8 – 8,2 para la metanogénesis y entre 4,5 – 6,5 para la acidogénesis) y evitar los posibles efectos tóxicos que afecten negativamente a la actividad bacteriana [5].

1.4.7 Velocidad de carga orgánica (OLR)

Hace referencia a la cantidad de sustrato suministrado al interior del fermentador por unidad de volumen y tiempo. A niveles altos de carga orgánica, se favorece la hidrólisis y la acidogénesis, incrementando la producción de ácidos orgánicos favoreciendo valores de pH ácidos que inhibirían el proceso metanogénico. Sin embargo, un nivel elevado de acidificación podría inhibir la actividad hidrolítica de las bacterias [5,8].

1.4.8 Relación carbono/nitrógeno (C/N)

Debe mantenerse una relación C/N equilibrada para evitar la inhibición del proceso por acumulación de amonio. Las bacterias acidogénicas y metanogénicas comprenden diferentes rangos óptimos de relación C/N (10-45:1 y 20-30:1 respectivamente). Por ello lo óptimo sería un rango 20-30:1, ya que a niveles mayores disminuiría el crecimiento de microorganismos metanogénicos y a niveles menores se produciría la inhibición del proceso [8,10].

1.4.9 Redox

El estado del equilibrio redox (reducción-oxidación) permite conocer las condiciones establecidas en el interior del fermentador. Valores positivos de redox, implica una situación aeróbica en la que los componentes orgánicos del sustrato se transforman con la ayuda de oxígeno [15]; mientras que los valores negativos o positivos en torno al cero, señalan un estado anóxico en el que, a pesar de la ausencia de oxígeno, existen otros aceptores finales de electrones como el nitrato [16,17]. Sin embargo, cuando el equilibrio redox muestra valores negativos elevados, se trata de condiciones anaerobias, por lo que

las poblaciones bacterianas transforman la materia orgánica en biogás (mezcla de metano y CO₂) en ausencia de oxígeno [15,18,19].

1.5 Interés de los AGVs en el mercado

Los AGVs producidos en la etapa acidogénica de la fermentación anaerobia se consideran productos de alto valor añadido ya que los ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico o ácido butírico se utilizan actualmente como materia prima en otros procesos industriales agroalimentarios, químicos, textiles e incluso en la industria farmacéutica [5,6]. La demanda en el mercado de los diferentes ácidos grasos producidos varía en función de su utilidad en la industria y de su dificultad de obtención, es decir, su abundancia. De carácter general, suelen emplearse en la industria química como materia prima de adhesivos y pinturas; en la industria agroalimentaria para la producción de fertilizantes, conservantes, herbicidas o condimentos; para el desarrollo de medicamentos en la industria farmacéutica y de tintes o suavizantes en la textil [20,21,22]. De manera global, la demanda en el mercado de ácidos grasos aumenta gracias al interés actual por productos más sostenibles y ecológicos alineados con el concepto de economía circular. Algunos de los AGVs más destacados son: ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico.

1.5.1 Ácido acético

También se conoce como ácido etanoico. En Europa el ácido acético alcanza valores de mercado próximos a 1165\$/t, es decir, 1,165\$/Kg. El precio del ácido acético ha ido disminuyendo ya que es un ácido carboxílico de fácil obtención mediante fermentación acética.

1.5.2 Ácido butírico

El rendimiento moderado de las petroleras productoras de ácidos orgánicos como el butírico a partir de fermentación de gas de síntesis, supuso un reflejo en el valor de mercado del ácido butírico estimado en 2600\$/t.

1.5.3 Ácido propiónico

El valor medio de mercado del ácido propiónico durante los últimos años ronda los 1500\$/t en Europa.

1.5.4 Ácido Valérico

El valor de mercado del ácido valérico y derivados, como el ácido isovalérico o 4-Met-Va está alrededor de 2500\$/t (2,5\$/Kg).

1.6 Electrodiálisis

La electrodiálisis es un proceso de separación basado en campos eléctricos continuos para separar electroquímicamente sustancias iónicas disueltas en una solución acuosa a través de membranas selectivas de intercambio iónico, obteniendo un permeado de valor añadido y una solución concentrada en sales [23,24]. Un ejemplo claro de su empleo sería la desalinización del agua para la producción agua potable [24]. En este Trabajo Fin de Grado, el objetivo de la electrodiálisis es separar las sales de los ácidos grasos para purificarlos y ser valorizados. Es una técnica prometedora para facilitar la separación de los AGVs de los demás componentes iónicos solubles en el efluente del fermentador (digestato), debido a la dificultad para obtener y purificar dichos ácidos grasos del resto del digestato.

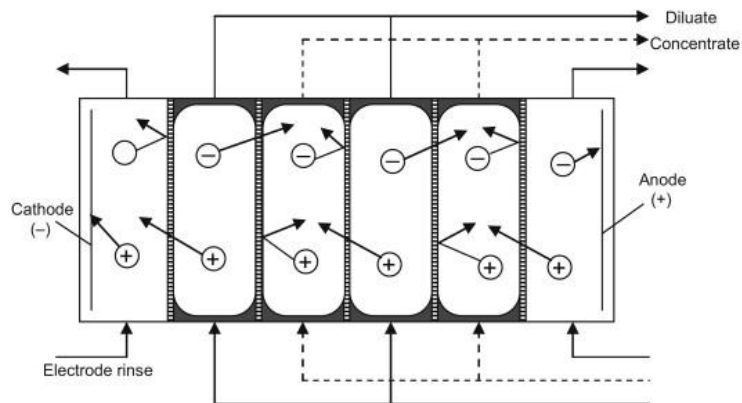


Figura 2. Funcionamiento de la electrodiálisis. Van Der Bruggen, B. (2015). *Advances in electrodialysis for water treatment*. En Elsevier eBooks (pp. 185-203). <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-121-4.00006-x>

2 OBJETIVOS

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) establece 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) interrelacionados para cumplir antes de 2030. Los ODS hacen hincapié en aspectos socioeconómicos y ambientales, sirviendo como plan compartido para la paz y la prosperidad de las personas, así como del planeta, ahora y en el futuro. El presente Trabajo Fin de Grado contribuye al desarrollo de los ODS 6 y 14 ('Agua limpia y saneamiento' y 'Vida bajo el agua', respectivamente).

El objetivo principal del presente Trabajo Fin de Grado es evaluar la valorización de las aguas residuales salinas generadas en la industria cárnica para producir ácidos orgánicos de alto valor añadido. Para ello se aplica un proceso de fermentación anaerobia empleando como inóculo un cultivo mixto acoplada a la electrodiálisis para recuperar los ácidos orgánicos en el permeado y concentrar las sales (principalmente cloruro de sodio (NaCl)) en el producto concentrado. Con este procedimiento se pretende: 1) valorizar la materia orgánica contenida en las salmueras para la obtención de productos de alto valor añadido tales como los ácidos orgánicos y, 2) reducir el coste de gestión de las salmueras para las empresas responsables a través de la aplicación de tecnologías de menor consumo energético, evitando tecnologías convencionales como son la ósmosis inversa o la evaporación al vacío empleando la fermentación anaerobia para la producción de ácidos orgánicos. Con el fin de alcanzar el objetivo global, se han definido 4 subobjetivos específicos:

1. Enriquecer el inóculo procedente de un cultivo mixto en poblaciones de biomasa acidogénica.
2. Determinar el tipo de salmuera que tiene mayor potencial para la producción de ácidos grasos volátiles mediante experimentos en *batch* para su posterior recuperación en el fermentador anaerobio operado en continuo.
3. Evaluar la producción (específicamente, concentración y composición) de ácidos grasos volátiles en un fermentador anaerobio operado en continuo.
4. Separar los ácidos grasos de las sales mediante la tecnología de electrodiálisis para purificarlos y poder valorizarlos.

3 METODOLOGÍA

3.1 Selección de las salmueras

Para el desarrollo experimental de este Trabajo Fin de Grado se han seleccionado cuatro salmueras derivadas de la actividad de la industria de procesamiento de la carne con diferente origen: i) Efluente de una Estación Depuradora de Aguas Residuales (denominada EDAR) instalada en una industria de procesamiento de la carne, ii) descalcificadores (denominada descalcificador), iii) limpieza y lavado de tripas (denominada foso) y, iv) lavado de jamones tras la etapa de curado (denominada jamón).

Las EDAR instaladas en las industrias cárnicas tratan las aguas residuales generadas durante el desarrollo de los diferentes procesos productivos (por ejemplo, lavado de productos alimentarios, instalaciones y maquinaria, etc.). Durante el tratamiento convencional en las EDAR instaladas en las industrias cárnicas se eliminan materia orgánica y nutrientes, pero la concentración de sales minerales disueltas (ej, NaCl) permanece inalterada, por lo que el efluente de las EDAR de las industrias de procesamiento de carne dedicadas a la elaboración de embutidos puede presentar una alta conductividad.

La descalcificación es un proceso común en la industria cárnica para eliminar la cal del agua mediante el intercambio de iones Ca^{+2} y Mg^{+2} por iones de Na^+ . Por ello, se han seleccionado salmueras procedentes de descalcificadores para llevar a cabo el experimento.

Las salmueras de foso se generan durante la limpieza y lavado de las tripas utilizadas para la elaboración de embutidos, por lo que, las altas concentraciones de salinidad y, principalmente, de materia orgánica, hacen de las aguas residuales procedentes de foso salmueras con potencial para el experimento.

Las últimas salmueras seleccionadas son las generadas en la producción de derivados cárnicos como es el caso del jamón curado. Se producen por el lavado de los jamones tras la etapa de curado, por lo que, las aguas residuales contienen elevadas concentraciones de sal y de materia orgánica.

En la Tabla 1 se muestran las caracterizaciones (pH, conductividad eléctrica y concentración de materia orgánica expresada como demanda química de oxígeno (DQO)) de cada una de las salmueras seleccionadas en el presente Trabajo de Fin de Grado.

Tabla 1. Caracterización de las salmueras procedentes de la industria cárnica.

SALMUERA	pH	EC (mS/cm)	DQO (g/L)
EDAR	6,83 ± 0,08	3,34 ± 0,02	0,12 ± 0,01
Descalcificador	7,64 ± 0,04	41,2 ± 0,9	0,64 ± 0,04
Foso	6,77 ± 0,02	107,4 ± 0,2	6,1 ± 0,12
Jamón	5,87 ± 0,02	223,7 ± 0,2	27,23 ± 2,63

3.2 Montaje Experimental

3.2.1 Operación en continuo del fermentador anaerobio

Durante la puesta en marcha del fermentador anaerobio se utiliza como inóculo un cultivo mixto procedente de un reactor anaerobio industrial que trata residuos de la industria agroalimentaria para la transformación de la materia orgánica en biogás que opera con un TRH de 70 días a 37°C. El fermentador de 10 L de volumen útil se opera en *feed-batch* manteniendo un TRH de 6 días para evitar el crecimiento de bacterias metanogénicas; con una temperatura mesófila de 37°C. Se alimenta con una alimentación sintética de alta salinidad (*Tabla 2*) que simula una salmuera procedente de la industria cárnica para adaptar a las poblaciones bacterianas y que puedan digerir los sustratos de salmueras caracterizadas por sus altos niveles en sal. Para monitorizar las condiciones anaeróbicas en el interior del reactor, se instala una sonda redox. Para el seguimiento semanal del reactor y sus condiciones, además de mantener las condiciones redox, se mantiene constante la temperatura, se mide el pH y la conductividad cada 2 días para estudiar la evolución del fermentador y asegurarse de que no se superan umbrales de pH que puedan ser nocivos para las poblaciones bacterianas o para su actividad de producción de AGVs.

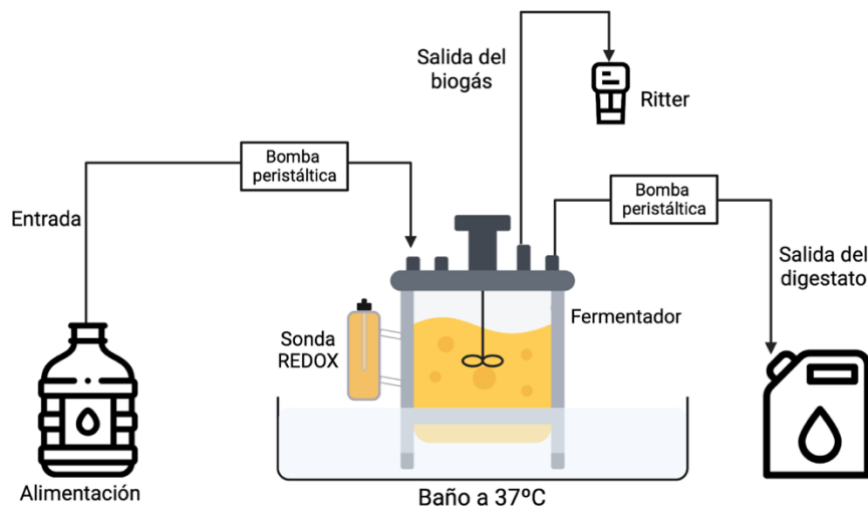


Figura 3. Esquema del fermentador anaerobio utilizado.

La operación del fermentador anaerobio alimentado con la alimentación sintética se dividió en tres periodos (*Tabla 2*) caracterizados por variaciones en la composición de la alimentación. Se empleó cloruro de sodio (NaCl) para simular las condiciones salinas de la salmuera, glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) como fuente de materia orgánica y hidrogenofosfato de diamonio ($(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$) como aporte de nitrógeno y fósforo. El primer periodo (Periodo I) se estableció desde el día 1 del experimento hasta el día 17. En el segundo periodo (Periodo II), desde el día 18 al día 45, se aumentó la concentración de sal mientras que, en el tercer periodo (Periodo III) - desde el día 46 al día 106 - se aumentó la concentración de glucosa suministrada al fermentador. En los periodos II y III se añadió bicarbonato de sodio (NaHCO_3) a la alimentación para regular el pH dentro de sus rangos establecidos. A pHs superiores al pK_a de los ácidos ($\approx 4,8$), éstos se ionizan, por lo que podrían movilizarse al concentrado con las sales. Por ello se mantuvo el pH del reactor en un punto medio entre los valores óptimos de producción y por debajo del pK_a - pH entre 4 y 4,5 - para abaratar y simplificar el proceso en su escalado.

Tabla 2. Composición de la alimentación sintética.

REACTIVO	Concentración (g/L)		
	Periodo I	Periodo II	Periodo III
Cloruro de sodio (NaCl)	19	21	21
Glucosa (C ₆ H ₁₂ O ₆)	16,8	16,8	20
Hidrogenofosfato de diamonio ((NH ₄) ₂ PO ₄)	0,35	0,35	0,35
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	-	1	1

3.2.2 Experimentos de acidificación en batch

Para estudiar la producción de AGVs a partir de las salmueras de la industria cárnica mencionadas en la sección 3.1 y determinar cuál de ellas tiene mayor potencial para maximizar la valorización de la materia orgánica contenida a través de la fermentación anaerobia, se diseñan dos experimentos batch. El objetivo es determinar los parámetros operacionales óptimos (pH, alcalinidad, ratio sustrato/inóculo (RIS), temperatura, TRH, OLR y conductividad) necesarios para obtener una mayor transformación de la materia orgánica en AGVs. Una vez establecidos dichos parámetros y analizados los rendimientos de las réplicas del batch, se determinará qué salmuera o salmueras tienen mayor potencial para la producción de AGVs mediante fermentación anaerobia.

Para el desarrollo de cada *batch*, se caracterizan previamente las salmueras (*Tabla 1*) y el inóculo empleado. Con ello se diseña una matriz experimental donde se establecen las condiciones de operación. Los experimentos batch se realizan en botellas de 120 mL – 85 mL de líquido y 35 mL de espacio de cabeza -. Las botellas se sellan y se purgan con N₂ para crear una atmósfera anaerobia. Diariamente se mide la producción de gas con manómetro (SMC, ISE30A-01-P).

3.2.2.1 Experimento batch 1

El inóculo, procedente de un fermentador industrial que trata los residuos generados por la industria alimentaria, se lava con agua tres veces para eliminar cualquier traza de AGVs o DQO remanente que pudiera interferir en el experimento. Una vez lavado, se caracteriza el inóculo empleado en términos de pH, conductividad y DQO (*Tabla 3*). Además, se realiza un análisis de sólidos totales y volátiles presentes en el digestato para determinar el ratio sustrato/inóculo (RIS), un factor clave para la optimización del proceso (*Tabla 4*), ya que permite establecer la proporción de inóculo necesaria en cada botella en función del sustrato.

Para el primer experimento *batch* se estableció un RIS de 3 g DQO_{sustrato}/g VS_{inóculo} en base a los valores óptimos identificados en bibliografía [2]. El primer *batch* tiene por objetivo determinar el pH óptimo de operación, la necesidad de añadir bicarbonato y los sustratos de salmueras con mayor potencial para la producción de AGVs. Se tomó la decisión de establecer una duración de 10 días para el experimento en base al TRH necesario para la acumulación de AGVs, pero suficiente para evitar la producción de metano.

Tabla 3. Caracterización del inóculo utilizado durante el batch 1

	pH	EC (mS/cm)	DQO (g/L)	ST (g/L)	SV (g/L)
Lodo acidogénico	3,85	31,53	7,67	34,84	15,16

Tabla 4. Condiciones establecidas para el batch 1.

	DQO _{botella} (g/L)	Concentración inóculo (g/L)	Concentración bicarbonato (g/L)
EDAR	0,12	0,04	0,367
Descalcificador	0,63	0,21	1,934
Foso	5,36	1,79	16,41
Jamón	17,03	5,68	52,198

En el diseño de la matriz experimental (Tabla 5) se detallan las condiciones en las que se llevará a cabo el *batch* a lo largo de los 10 días de duración del experimento y las cantidades necesarias de inóculo, sustrato y bicarbonato (para regular el pH) necesarias para la generación de AGVs. Para reproducir el experimento se prepararon 28 botellas, de las cuales cuatro correspondían al blanco, cuatro a las muestras de EDAR, cuatro a las muestras de salmueras descalcificadoras, ocho a las de foso y las ocho restantes a las salmueras de jamón. Teniendo en cuenta los duplicados, la mitad de las botellas llevarían un añadido de tampón bicarbonato para amortiguar las posibles variaciones pH resultantes de la acidificación, el cual se establecería a 4,5 en todas las muestras excepto en 2 de foso y 2 de jamón, que se establecerían a un pH 6,5.

Tabla 5. Matriz experimental diseñada para las condiciones del batch 1.

MUESTRA	pH sin bicarbonato		pH con bicarbonato		mL Inóculo	mL sustrato
Blanco	4,5		4,5		85	-
EDAR	4,5		4,5		0,22	84,78
Descalcificador	4,5		4,5		1,18	83,82
Foso	4,5	6,5	4,5	6,5	10,01	74,99
Jamón	4,5	6,5	4,5	6,5	31,83	53,17

La selección de diferentes pH es debida al rango óptimo de producción de AGVs. En aquellas botellas en las que se establece un pH 6,5 se favorece el proceso hidrolítico, mientras que en las que el pH es 4,5 se favorece a la acidogénesis [8,10]. El objetivo es determinar a cuál de ellos hay mayor rendimiento de la biomasa para transformar el sustrato en AGVs.

Durante los días 2, 4, 7 y 10 se extrajeron muestras del sobrenadante de cada botella para analizar la composición de AGVs y se llevó a cabo una caracterización de cada condición del *batch* para estudiar su pH y conductividad finales.

3.2.2.2 Experimento batch 2

Una vez finalizado el primer *batch* y definida la o las salmueras y las condiciones con las que se trabajarán, se lleva a cabo un segundo *batch* con los sustratos elegidos previamente variando su ratio sustrato/inóculo y el diseño de la matriz. Para acondicionar el lodo en el segundo *batch*, se realizó un lavado previo con tampón fosfato (0,8 g/L de KH_2PO_4 + 1 g/L K_2HPO_4), más eficaz que los lavados con agua del primer *batch*, para eliminar la mayor DQO residual posible de AGVs producidos en el reactor y que no interfiera posteriormente en las lecturas resultantes del cromatograma. De igual forma que en el *batch* 1, se caracteriza previamente el inóculo empleado (Tabla 6). En función a los resultados obtenidos del primer *batch*, se diseñó una nueva matriz experimental. En este caso no se añadió bicarbonato a cada botella. Las salmueras empleadas como sustrato para lograr los objetivos de este segundo experimento son las de foso y jamón, además de probar dos mezclas con diferentes porcentajes de salmuera: 50:50 de foso + jamón y 25:75 de descalcificador + jamón. Se modificaron los ratios sustrato/inóculo para optimizar la producción a partir de los resultados observados en el primer *batch*. Los cálculos para establecer los RIS se basan en el volumen de líquido total para cada botella, la DQO de las salmueras, los SV del inóculo y las condiciones posibles a las que podría trabajar el fermentador: con un TRH de 3 días (RIS alto) o a un TRH de 6 (RIS bajo). Tras definir los nuevos ratios, se establecieron y definieron las proporciones de inóculo y de sustrato necesarias en cada duplicado. La duración del experimento se estableció en 7 días en base a los resultados obtenidos de la acidificación del primer experimento *batch*.

Tabla 6. Caracterización del inóculo batch 2.

	pH	EC (mS/cm)	DQO (g/L)	ST (gTS/L)	SV (gVS/L)
Lodo acidogénico	3,73	25,83	7,67	30,89	8,63

Tabla 7. Condiciones establecidas para el batch 2.

	DQO _{botella} (g/L)	Concentración inóculo (g/L)	RIS
Foso	1,52	6,47	0,23
Foso	0,87	7,40	0,12
Jamón	6,81	6,47	1,05
Jamón	3,89	7,40	0,53
Foso + Jamón	4,16	6,47	0,64
Foso + Jamón	2,45	7,61	0,32
Desc. + Jamón	4,86	6,11	0,79
Desc. + Jamón	2,94	7,40	0,4

De igual modo que en el primer experimento *batch*, se hizo un seguimiento periódico tomando medidas de producción de gas cada día y despresurizando cada botella. Además, se extrajeron muestras de AGVs los días 2, 4 y 7 de experimento para analizar la composición y producción de ácidos grasos con las nuevas condiciones establecidas y también se caracterizaron nuevamente las condiciones finales.

3.2.3 Operación en batch del sistema de electrodiálisis

3.2.3.1 Configuración del sistema de electrodiálisis

Para lograr separar los ácidos de la sal presentes en el digestato del fermentador se empleó la tecnología de electrodiálisis (ED) (Figura 4). El equipo, PCell Bed 1-2 (PCell GmbH), consta de una pila compuesta por 20 membranas catiónicas y aniónicas intercaladas. En dicha pila se separan los iones en función de su carga gracias a la polaridad generada por un voltaje. Está conectada a dos tanques donde se introducen las muestras iniciales: al tanque de concentrado se movilizarán los iones desde el de permeado, en el cual permanecerán los AGVs. La velocidad a la que los iones se separan al concentrado depende de la intensidad de corriente aplicada (amperaje). El conductor o electrolito empleado para el transporte de los iones entre los electrodos positivo y el negativo es sulfato de sodio (Na_2SO_4). A medida que la muestra pasa a través de la pila con un cierto caudal, se obtienen lecturas de conductividad, voltaje y amperaje a lo largo del tiempo de duración del experimento.

Para los experimentos llevados a cabo con la ED se tuvieron en cuenta parámetros como la conductividad inicial y la final a la que se pretendía llegar; el caudal de trabajo, la presión ejercida por la muestra sobre las membranas de la pila y, principalmente, el voltaje e intensidad de corriente a la que se llevaría a cabo la separación de las sales de los ácidos.

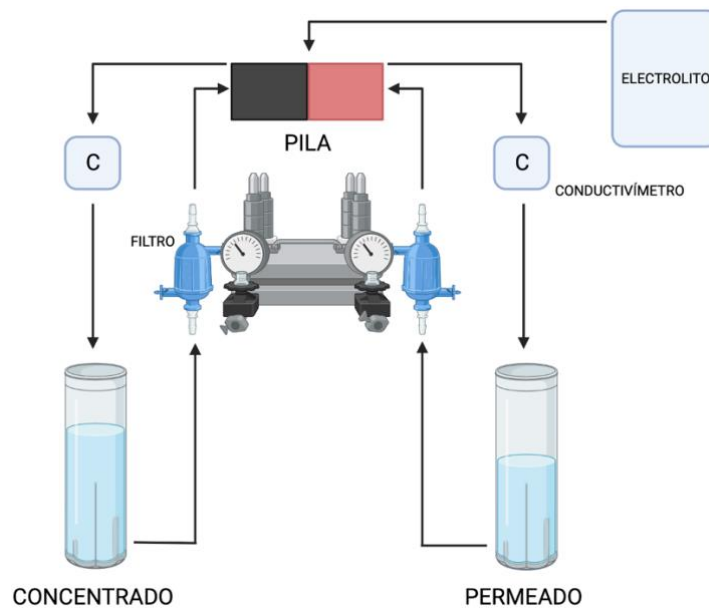


Figura 4. Esquema de la electrodiálisis.

Se han llevado a cabo dos experimentos, uno a voltaje constante - forma convencional de operar con la ED y optimizada a partir de la curva LCD previamente calculada – y otro experimento a intensidad constante. Este último se realiza en base a referencias que indican que se puede lograr una separación selectiva de la sal respecto a los ácidos [25,26].

3.2.3.1.1 Determinación de la curva LCD

Para determinar el voltaje de la corriente de trabajo, se realiza la determinación de la curva LCD (*Limiting Current Density*) [26]. Para ello se toman las medidas de la intensidad correspondiente a cada punto de entre 1 a 30 voltios y se representan, mediante el método

Conan-Brown [25], la resistencia (Ohm) (calculada mediante la ley de Ohm) e intensidad inversa (A^{-1}). La LCD se corresponde con el mínimo de la gráfica. Por norma general, se establece un voltaje correspondiente al 70% respecto a dicho punto de inflexión.

Las pruebas se llevaron a cabo a diferentes caudales de digestato – previamente tratado por centrifugación y filtración al vacío (diámetro del poro del filtro de $1,2 \mu m$) - para reducir el ensuciamiento de las membranas.

3.2.3.1.2 Experimento 1: Voltaje constante

Se realizó un primer experimento con un voltaje constante determinado mediante la LCD mencionada previamente. Se estableció un caudal de 10 L/h, tanto para el tanque de permeado como para el tanque de concentrado, y un voltaje constante de 14 V (a partir de la curva LCD). La intensidad de corriente resultante al inicio del experimento fue de 1,97 A. La duración de este primer experimento fue de 60 minutos hasta que el permeado alcanzó la conductividad objetivo de 0,43 mS/cm.

3.2.3.1.3 Experimento 2: Intensidad constante

El objetivo de este experimento era lograr la separación selectiva de los iones de sal con respecto a los ácidos presentes en el permeado para evitar la migración de éstos al concentrado. Dicha separación selectiva viene dada por la densidad de corriente aplicada al sistema de membranas [27]. Se estableció un caudal para ambos tanques de 10 L/h y una intensidad de corriente constante de 0,25 a 0,3 A en base a referencias bibliográficas que indican que se puede lograr la separación selectiva de la sal respecto a los ácidos a dicho amperaje [25,26]. La duración del experimento fue de 6 horas y 40 minutos hasta que se alcanzó la CE de 4,6 mS/cm en el permeado.

Durante ambas pruebas se tomaron muestras del permeado a diferentes tiempos, dependiendo de la duración estimada del experimento, para analizar la concentración de AGVs obtenidos durante el proceso. Además, se extrajeron los datos de conductividad registrados en el equipo para estudiar la evolución de la separación a lo largo de las pruebas.v

3.3 Métodos analíticos

3.3.1 pH y conductividad eléctrica

La determinación del pH y de la conductividad eléctrica llevados a cabo a lo largo de los experimentos, se realizaron con el equipo multiparamétrico Hanna Instruments HS5521-02 con dos canales de medida (pH/ORP·CE) y sonda de temperatura. La conductividad mantiene una relación directamente proporcional con la temperatura, ya que al aumentar ésta, aumenta también la capacidad conductora de la solución [29]. Por el contrario, al aumentar la temperatura disminuyen los valores de pH asociados a la muestra.

3.3.2 Sólidos totales y sólidos volátiles

Para la caracterización del lodo del fermentador se han llevado a cabo pruebas gravimétricas de sólidos totales (ST) (Eq. 1) y sólidos volátiles (SV) (Eq. 3), lo que permite determinar la cantidad de materia disuelta y en suspensión contenida en una muestra de agua. Los sólidos totales son los residuos estimados tras la evaporación y secado de la muestra durante 48h a 105°C. Por otra parte, los sólidos volátiles se determinan por calcinación a 550°C durante 2h de los sólidos contenidos en la muestra, debido a la combustión de la materia orgánica con el oxígeno y su pérdida como CO₂.

El procedimiento consiste en la toma de cuatro pesos en crisoles de porcelana: un peso **A** correspondiente al crisol; un peso **B** correspondiente a la muestra; un tercer peso **C** tras la evaporación a 105°C y un cuarto peso **D** después de la combustión en la mufla a 550°C.

$$\text{Peso } B - \text{Peso } A = g \text{ de muestra} \approx mL \text{ de muestra}$$

$$\text{Asumiendo que } \rho = \frac{1g}{mL}$$

$$(1) \quad ST = \frac{C - A}{B - A} \cdot \frac{1000ml}{1L} \qquad (2) \quad SV = \frac{C - D}{B - A} \cdot \frac{1000mL}{1L}$$

3.3.3 AGVs

3.3.3.1 Extracción de AGVs

Para la extracción de los ácidos grasos se llevó a cabo un protocolo [30] de extracción específico para muestras de digestores anaerobios. A partir de 300 µL de muestra se añaden:

1. 100µL de solución saturada KHSO₄.
2. 100µL de *internal Standard* (ácido 2-etil butírico 99%). Ref. Merck 109959-100ML.
3. 1mL de DMC (dimetil carbonato).

Una vez mezclados, se agitan durante un 1 minuto en el vórtex y se centrifugan a 11000 rpm durante 10 minutos. Para finalizar, se recupera la fase orgánica para su análisis en el cromatógrafo de gases.

3.3.3.2 Cromatografía de gases

Para analizar la composición de las muestras de AGVs se emplea el equipo de cromatografía de gases GC Agilent Technologies 7820A PNT y la columna CP-FFAP CB. La temperatura del detector y del inyector se establecieron a 300°C y 250°C, respectivamente.

3.3.4 DQO

La DQO permite medir la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar químicamente la materia orgánica [11,29]. Los compuestos químicos oxidantes empleados, como dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) o permanganato de potasio (KMnO₄), tienen la capacidad de degradar con

mayor facilidad compuestos complejos difícilmente biodegradables por los microorganismos fermentadores [12].

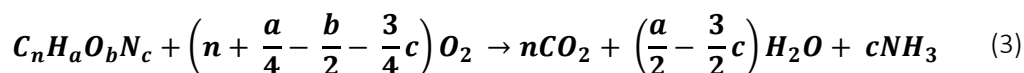
Para la medición se emplea el set de reactivos pre-dosificados en cubetas con código de barras Hanna Instruments HI94754B-25 (rango 200 – 1400mg/L). En cada tubo de ensayo se añaden 2mL de muestra (con o sin dilución, según la concentración estimada) o 2mL de agua destilada en caso del blanco. La muestra se digiere a 150°C

3.4 Cálculos

Para los cálculos realizados durante los experimentos se han empleado una serie de ecuaciones necesarias para el análisis de los resultados obtenidos. En la *Tabla 8* pueden observarse las fórmulas químicas y los pesos moleculares de los AGVs estudiados junto con la equivalencia de g DQO correspondientes a los g de ácido graso volátil, calculada a partir de la ecuación genérica que permite determinar los moles de O₂ necesarios para oxidar 1 mol del ácido correspondiente (Eq. 3).

Tabla 8. Equivalencias g DQO correspondientes a los g de AGVs.

AGV	Fórmula	Peso molecular (g/mol)	Equivalencia (g DQO/g AGV)
Acético	C ₂ H ₄ O ₂	60,06	1,066
Propiónico	C ₃ H ₆ O ₂	74,09	1,512
Butírico	C ₄ H ₈ O ₂	88,12	1,816
Valérico	C ₅ H ₁₀ O ₂	102,15	2,036
Iso-butírico	C ₄ H ₈ O ₂	88,12	1,816
Iso-valérico	C ₅ H ₁₀ O ₂	102,15	2,036
4-Met-Va	C ₆ H ₁₂ O ₂	117,19	1,103



Los cálculos del porcentaje de acidificación (Eq. 4), que aporta información sobre la cantidad de AGVs producidos a partir de la DQO inicial, y para el rendimiento de la biomasa (Eq. 5) (cantidad de AGVs generado por gramo de biomasa), permiten evaluar la eficiencia del proceso, estimar la capacidad de producción y optimizar las condiciones de operación. La variable $g DQO_{AGVs}$ hace referencia a los g de DQO correspondientes al total de los AGVs producidos. $g DQO_{Salmuera}$ es la variable correspondiente a los gramos de DQO de salmuera empleados como sustrato para la fermentación. Los $g Sólidos volátiles$ son los gramos de sólidos volátiles presentes en el lodo.

$$\% \text{ Acidificación} = \frac{g \text{ DQO}_{AGVs}}{g \text{ DQO}_{\text{salmuera}}} \quad (4)$$

$$\text{Rendimiento de la biomasa} = \frac{g \text{ DQO}_{AGVs}}{g \text{ Sólidos volátiles}} \quad (5)$$

3.4.1 Análisis estadístico

Todos los valores se expresan como la media \pm error típico de la media (SEM) para cuantificar cuánto se alejan los valores de la media poblacional. Las diferencias entre cuatro o más grupos se compararon mediante la prueba ANOVA de una o dos vías y el test Kruskal-Wallis, en función de la normalidad que siguen los datos, utilizando el software *R Studio* (versión 4.1.3). Las diferencias se consideraron significativas con un p-valor ajustado $< 0,05$ y se analizaron *post hoc* mediante test Tukey para los datos derivados de los tests ANOVA, mientras que, para los que provienen de Kruskal-Wallis, se aplicaron tests de pairwise-wilcoxon junto con el ajuste de Bonferroni.

4. RESULTADOS

4.1 Porcentajes de acidificación obtenidos en los experimentos *batch*

Uno de los parámetros a tener en cuenta durante el proceso experimental de los ensayos *batch* es la acidificación de la materia orgánica contenida en las salmueras. En la *Figura 5* se pueden observar los porcentajes de acidificación del primer experimento *batch*. El porcentaje de acidificación difiere, no solo entre los días en los que se tomó muestra para analizar, sino que también entre los grupos de salmuera a diferentes pHs y de la presencia o ausencia de bicarbonato sódico.

Las salmueras de EDAR alcanzan niveles mucho más elevados de acidificación (>75%) que el resto de salmueras. Los resultados de las condiciones de descalcificador son similares tanto en presencia de bicarbonato como sin él. Los resultados de las salmueras de Foso presentan similitudes significativas (ANOVA de dos vías $F = 10,98$ $p < 0,05$; Tukey test $p < 0,05$), sin embargo, en las botellas sin bicarbonato a pH 4,5 se logra entre el 20% y el 25% de acidificación, a diferencia del resto de condiciones de Foso, que alcanzan entre un 30 - 40%. Las que menor porcentaje de acidificación muestran son las condiciones donde se emplearon salmueras de Jamón como sustrato, donde apenas se logró obtener un 10% de acidificación en las condiciones con bicarbonato en el día 10 del experimento.

En la *Figura 6* se observan los porcentajes de acidificación respectivos a cada una de las condiciones del segundo experimento *batch*. Por lo general, los niveles de acidificación son ligeramente más elevados que en el primer *batch*. Los perfiles de acidificación de las salmueras de Foso y Jamón siguen tendencias similares al anterior experimento, siendo la acidificación de las condiciones de Foso más elevadas y significativas (ANOVA de una vía $F = 31,95$ $p < 0,05$; Tukey test $p < 0,05$) (entre el 55% y el 65% con RIS alto y entre el 75% y el 95% con RIS bajo) que las de Jamón (5% - 7% con RIS alto y entre el 15% y el 45% a RIS bajo). Respecto a las mezclas de salmueras empleadas, presentan resultados de acidificación más elevados las condiciones de Foso + Jamón a RIS bajo (37% - 50%), mientras que, en las mezclas de Descalcificador + Jamón, pueden observarse diferencias entre RIS altos – con una acidificación que apenas alcanza el 10% - y RIS bajo, donde se obtiene una acidificación de entre el 35 y el 55%.

Se observan diferencias notables entre los resultados obtenidos a RIS alto (menor porcentaje de acidificación: 55% - 65% en condiciones de Foso; 5% - 10% en condiciones de Jamón; 23% - 37% en F+J; y en torno al 7% - 10% en las condiciones de D+J) y a RIS bajo, que presentan resultados más significativos (ANOVA de dos vías $F = 47,73$ $p < 0,05$; Tukey test $p < 0,05$) (mayor porcentaje de acidificación: 75% y el 95% en condiciones de Foso; 15% - 45% en condiciones de Jamón; 37% - 50% en F+J; y en torno al 35% - 55% en las condiciones de D+J) en función del sustrato empleado, pero, de carácter general, con mayor acidificación a RIS más bajos.

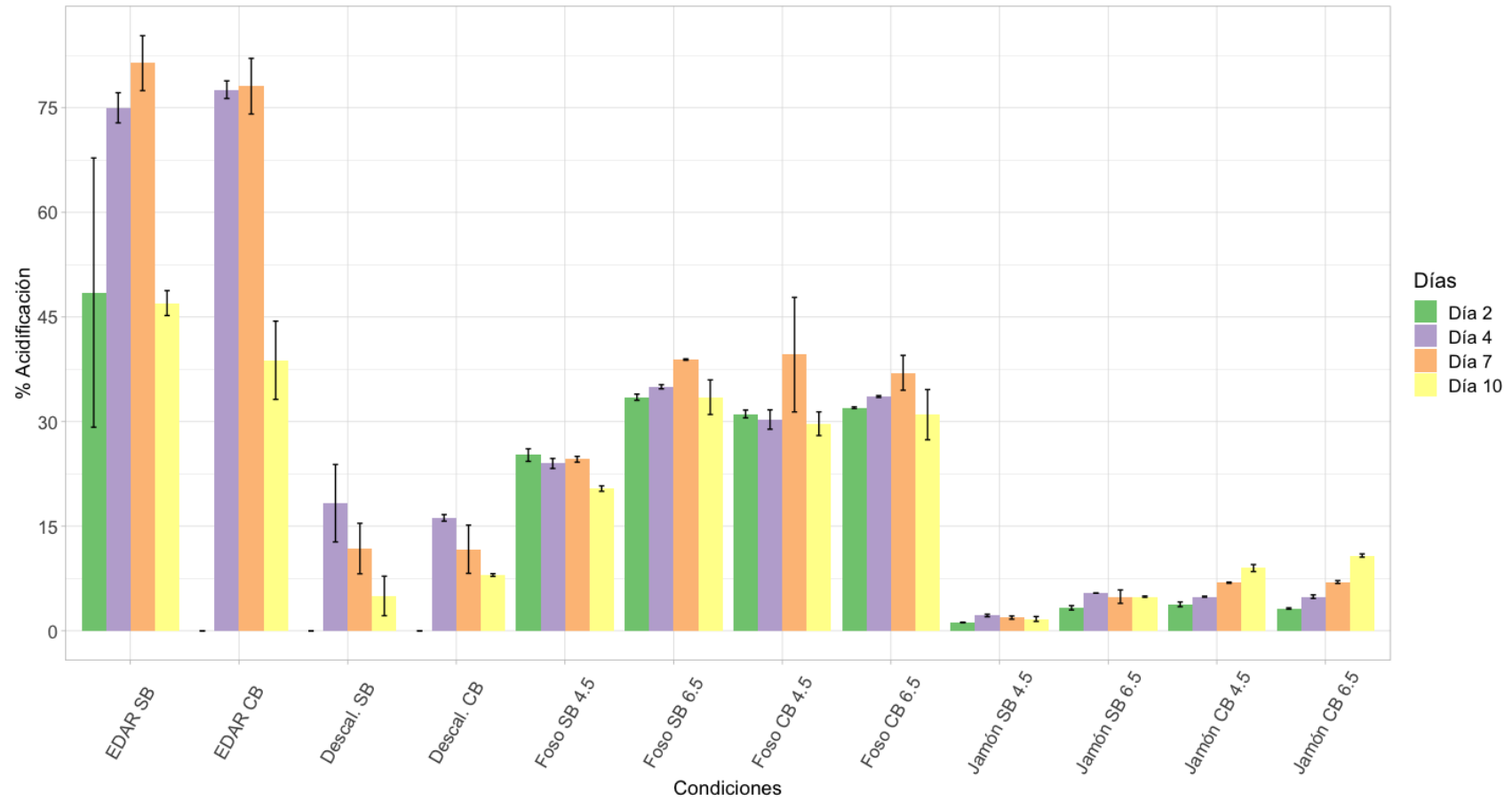


Figura 5. Resultados del porcentaje de acidificación correspondientes al primer experimento batch.

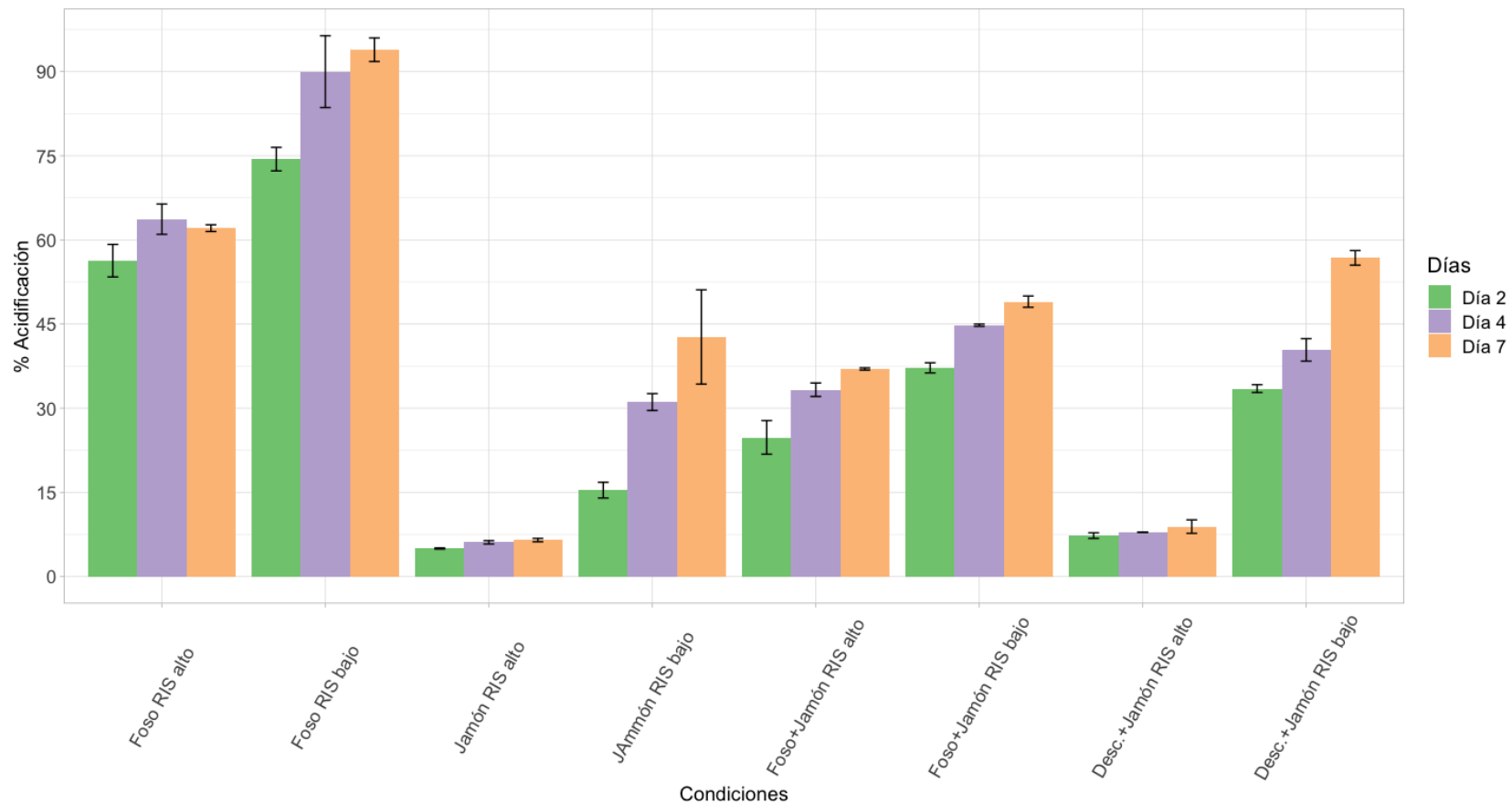


Figura 6. Resultados del porcentaje de acidificación correspondientes al segundo experimento batch.

4.2 Perfil de AGVs obtenidos de la fermentación en los experimentos *batch*

Uno de los estudios llevados a cabo tras los experimentos *batch* fue el análisis de la composición y el perfil de los ácidos grasos volátiles producidos en cada condición, parámetro necesario para determinar qué salmuera se empleará como sustrato en el fermentador.

En la *Figura 7* se observan los perfiles de ácidos grasos obtenidos en las condiciones del primer *batch*. Las salmueras de Foso y Jamón producen mayor variedad de AGVs que el resto de las salmueras, en las que destacan principalmente los ácidos acético y butírico (35% y 65%, respectivamente, en las condiciones de EDAR; 68% y 32% en las condiciones de Descalcificador SB y 39% y 61% en las condiciones Descalcificador CB). La composición de AGVs es similar independientemente de las condiciones impuestas para la salmuera de Foso (entre el 65% y el 75% son ácidos de interés en el mercado) mientras que, en las de Jamón, se observa una composición heterogénea en las condiciones de Jamón SB y Jamón CB a pH 4,5 ya que, en las condiciones de Jamón CB a pH 6,5 se obtiene únicamente ácido acético. A pesar de ello, las condiciones de Jamón heterogéneas muestran perfiles dispares (al contrario que las condiciones de Foso) obteniendo un 50% de ácidos de interés en las de Jamón SB a pH 4,5, y a penas entre un 15% y un 20% en las de Jamón CB pH 4,5 y Jamón SB pH 6,5, respectivamente. Las condiciones de Jamón ven alterada su composición en función del pH y de la presencia de bicarbonato de sodio.

La composición de AGVs del segundo *batch* se detalla en la *Figura 8*. Se observan variaciones entre las salmueras a RIS altos y bajos. Las salmueras de Foso con RIS alto y RIS bajo muestran tendencias similares (perfil de ácidos de interés entre un 60% y 40%, respectivamente) mientras que, las de Jamón con RIS bajo obtienen un perfil con AGVs de mayor valor e interés (35%) que las condiciones de Jamón con el RIS alto (25%). Respecto a las mezclas, las de Foso + Jamón a ambos RIS muestran composiciones similares en AGVs (perfiles próximos al 37% en ácidos de interés), al contrario que en las mezclas de Descalcificador + Jamón, que presentan un perfil más heterogéneo en AGVs de interés a RIS bajo (38%) respecto a las condiciones a RIS alto (18%).

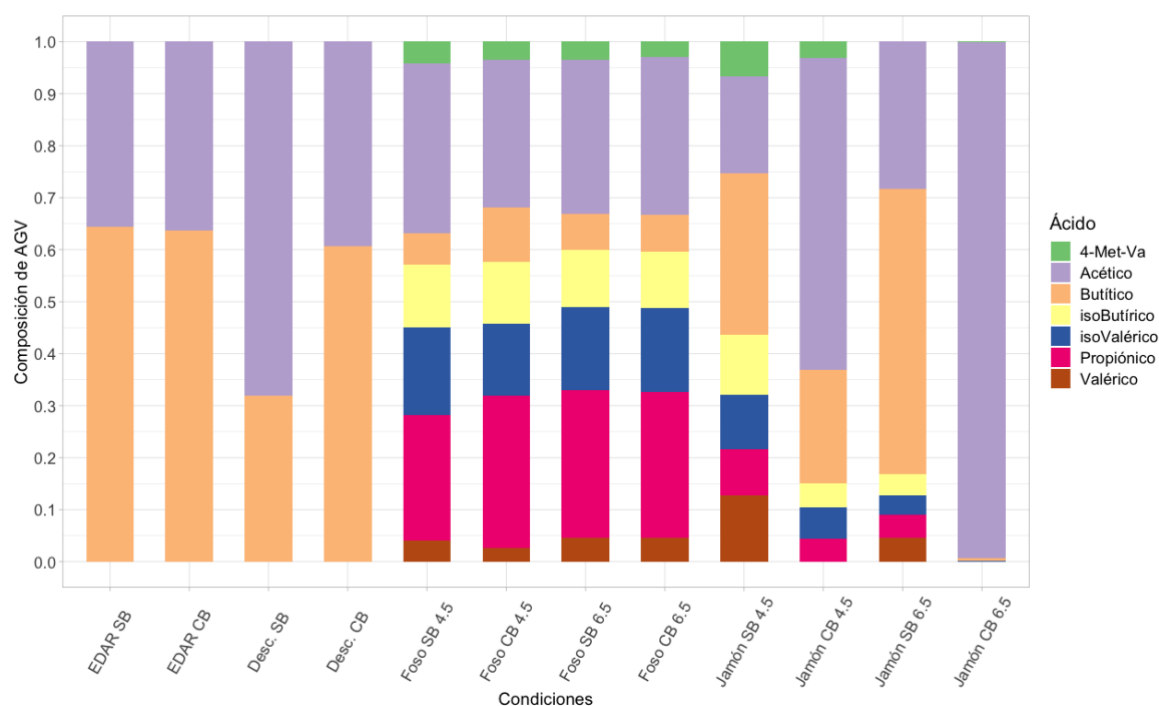


Figura 7. Perfiles de AGVs obtenidos en el primer experimento batch.

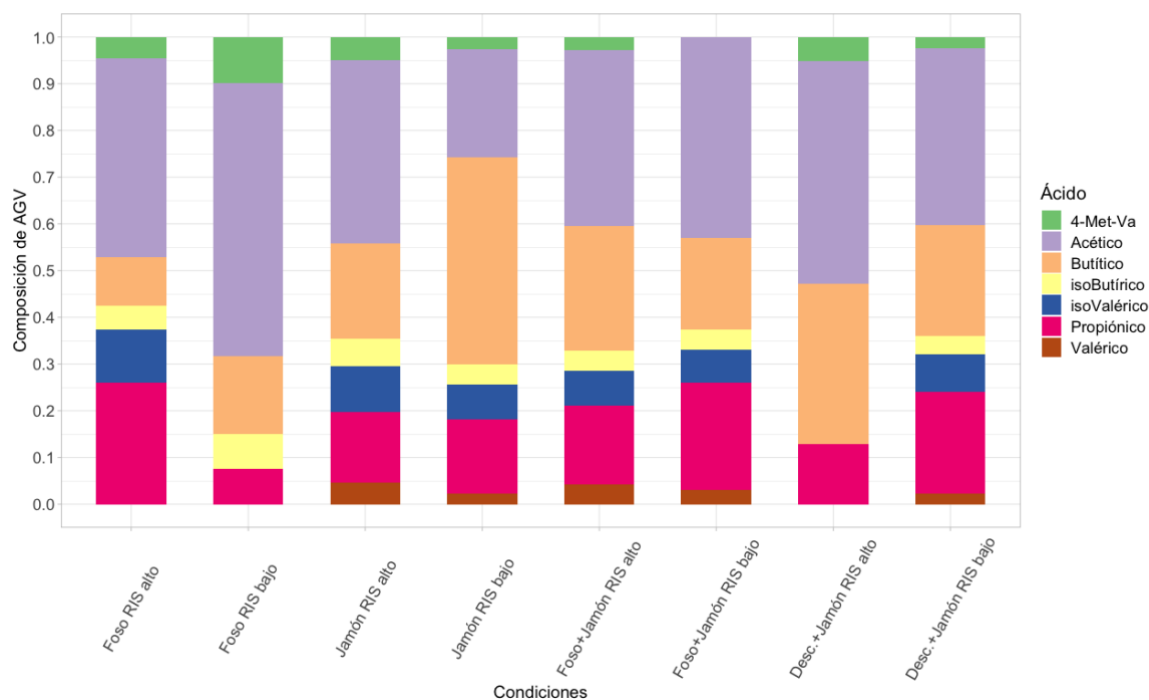


Figura 8. Perfiles de AGVs obtenidos en el segundo experimento batch.

4.3 Rendimiento de la biomasa

El rendimiento de la biomasa es la cantidad de producto (AGVs) generado por gramo de biomasa. Uno de los objetivos de los experimentos *batch* es determinar dicho rendimiento asociado a la biomasa para analizar cuál de las salmueras y en qué condiciones obtienen mayor producto. Por ello, con los datos obtenidos de los gramos de DQO de los AGVs y de los análisis de sólidos volátiles llevadas a cabo, se puede estudiar el rendimiento de la biomasa en cada una de las condiciones de las salmueras y determinar cuál es más viable para lograr los objetivos establecidos.

Los los porcentajes de acidificación del primer experimento *batch* (Figura 9) fueron más elevados en los días 7 en cada condición, pero ello se represetan los datos obtenidos del rendimiento en ese día. Se observan diferencias entre las salmueras. En las botellas de EDAR el rendimiento es similar en ambas codiciones (2,35 gDQO_{AGVs}/g_{SV} en SB y 2,46 gDQO_{AGVs}/g_{SV} en CB). Las salmueras de Foso mantienen tendencias similares (entre 1,12 gDQO_{AGVs}/g_{SV} y 1,20 gDQO_{AGVs}/g_{SV}), excepto en la condición de Foso SB a pH 4,5, donde se alcanza 0,75 gDQO_{AGVs}/g_{SV}. En ambas condiciones de Descalcificador el rendimiento de la biomasa apenas alcanza 0,35 gDQO_{AGVs}/g_{SV}. Las condiciones de Jamón logran rendimientos más bajos de entre el 0,6 y 0,20 gDQO_{AGVs}/g_{SV}. En la Figura 10 se observan los rendimientos de la biomasa correspondientes a las condiciones del segundo experimento *batch* en el séptimo día de experimento, máximo de producción. Las salmueras de Foso y las mezclas de Foso + Jamón ven disminuido su rendimiento de la biomasa en las condiciones de RIS bajo (0,112 gDQO_{AGVs}/g_{SV} y 0,160 gDQO_{AGVs}/g_{SV}, respectivamente) respecto a las condiciones con RIS alto (0,145 gDQO_{AGVs}/g_{SV} y 0,237 gDQO_{AGVs}/g_{SV}). Por el contrario, las condiciones que contienen salmueras de Jamón y mezcla de Descalcificador + Jamón aumentan su rendimiento a RIS más bajos (0,225 gDQO_{AGVs}/g_{SV} en ambos) respecto a sus condiciones con RIS altos (0,068 gDQO_{AGVs}/g_{SV} y 0,070 gDQO_{AGVs}/g_{SV}, respectivamente). Los resultados más significativos (Kruskal-Wallis Chi-squared = 7 p < 0,05; Pairwise wilcoxon test p < 0,05) entre las salmueras se obtienen en las condiciones de Foso a RIS alto.

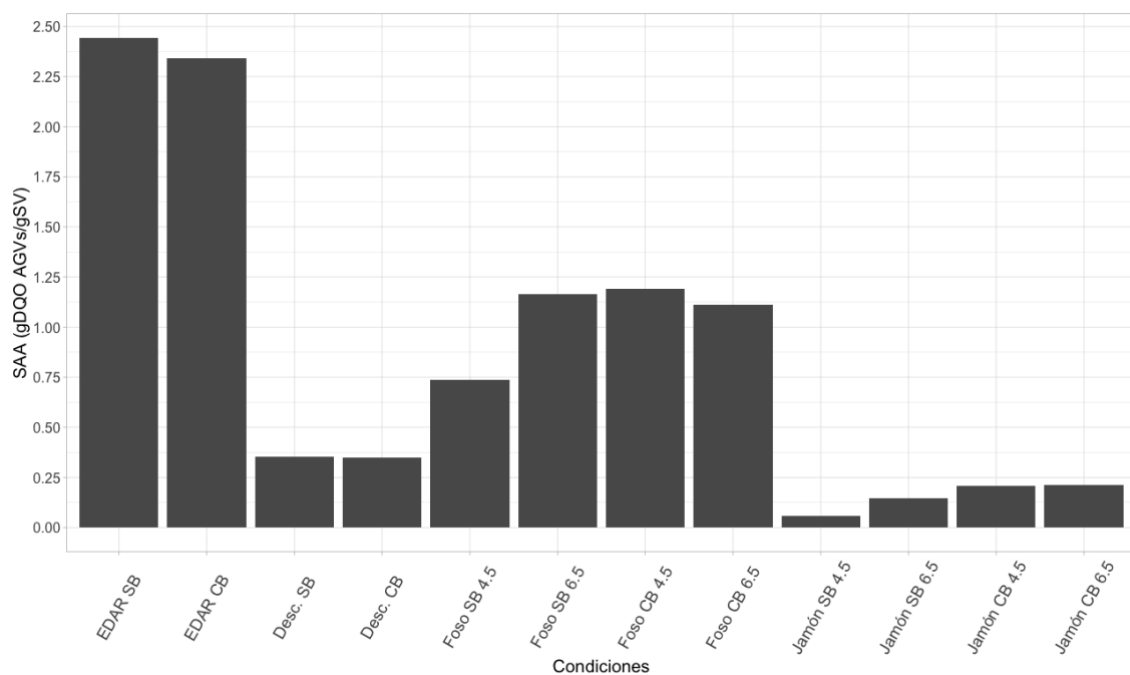


Figura 9. Rendimientos de biomasa obtenidos en las condiciones del primer experimento batch. Los resultados se expresan en $gDQO_{AGVs}/gSV$.

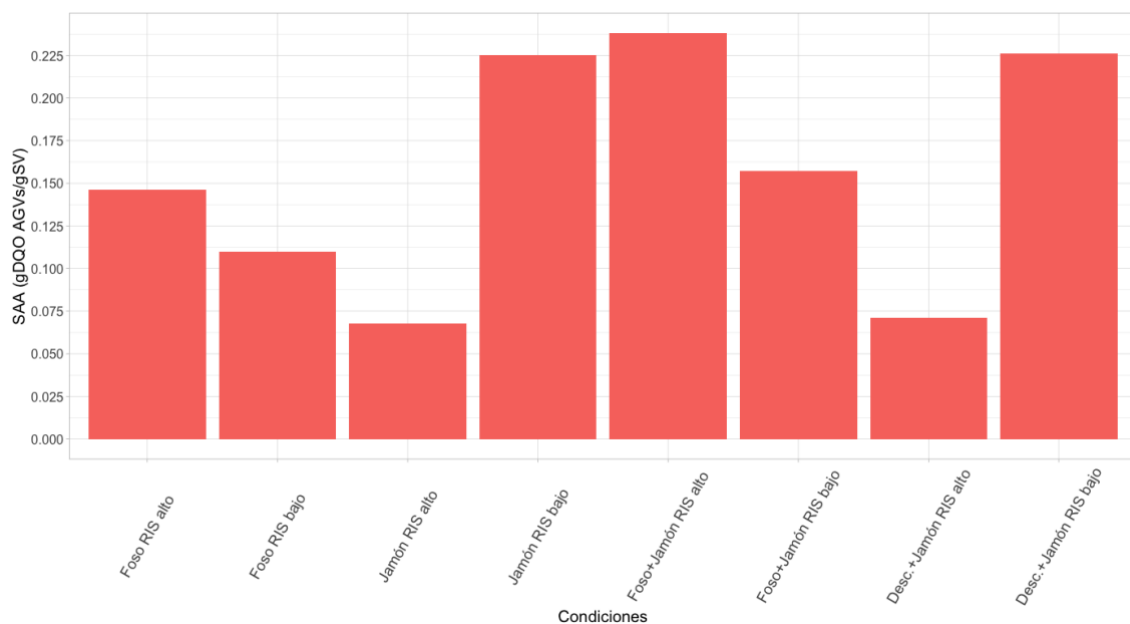


Figura 10. Rendimientos de biomasa obtenidos en las condiciones del segundo experimento batch. Los resultados se expresan en $gDQO_{AGVs}/gSV$.

4.4 Recuperación de AGVs purificados mediante electrodiálisis

Uno de los subobjetivos del trabajo es recuperar los ácidos grasos volátiles producidos en el fermentador separándolos de las sales presentes en el digestato. El digestato se recoge previamente del efluente del fermentador y se trata mediante centrifugación y filtración para que, posteriormente, pueda ser empleado en las pruebas de electrodiálisis.

En la *Figura 11* se observa la evolución de la concentración de los AGVs del permeado a lo largo del experimento con un voltaje constante de 14V a un caudal de entrada del permeado de 10L/h. Los datos muestran una disminución de la concentración de cada AGV en el permeado al final del proceso de entre el 40 % y el 60%, dependiendo del ácido. Sin embargo, se puede observar que la conductividad eléctrica del permeado se reduce a 0,43 mS/cm a lo largo de los 60 minutos que duró la prueba, indicando que se ha conseguido movilizar la mayor parte de la sal al concentrado. En la *Figura 12* se observan los resultados obtenidos de los experimentos de ED con intensidad constante de entre 0,25 y 0,3 A. La reducción de los ácidos en el permeado al final del experimento apenas supera el 10%. La conductividad del permeado a una intensidad constante disminuye progresivamente hasta 4,6 mS/cm a lo largo de las 6h de experimento.

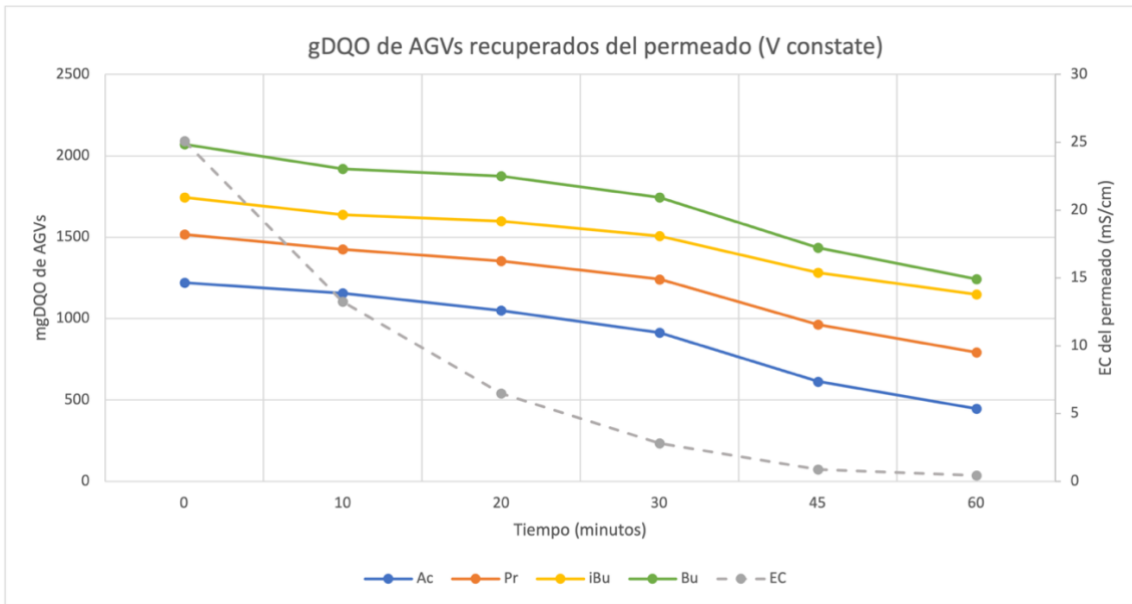


Figura 11. Recuperación de los AGVs con voltaje constante.

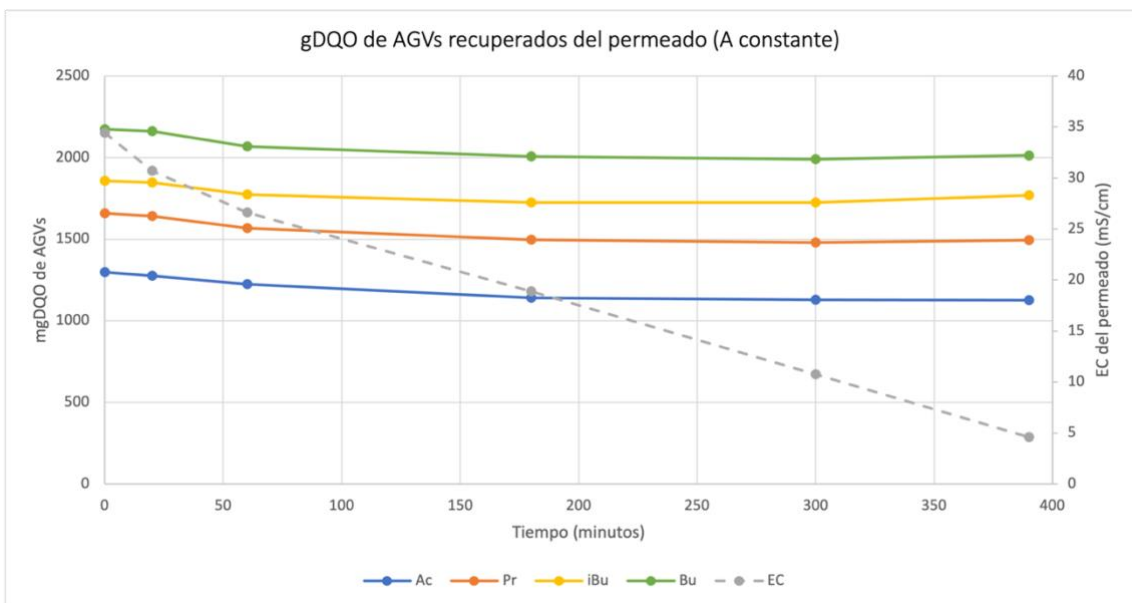


Figura 12. Recuperación de los AGVs con intensidad constante.

4.5 Beneficio económico estimado

Los mejores resultados de acidificación se obtienen en las condiciones con salmuera de Foso el día 7 con RIS bajo. En dicha condición se trataron 12,14 mL de salmuera de Foso y se obtuvieron en la botella las concentraciones finales (día 7) detalladas en la *Tabla 9*. En la *Tabla 9* también se detallan los precios de mercado de cada AGV producido.

Tabla 9. Concentraciones finales de los AGVs producidos durante el día 7 con la salmuera de Foso con RIS bajo y sus precios de mercado.

ÁCIDO	CONCENTRACIÓN (g/L)	PRECIO (\$/Kg)
Acético	0,299	1,165
Propiónico	0,082	1,5
Isobutírico	0,027	2,6
Butírico	0,091	2,6
Isovalérico	0,038	2,5
Valérico	0,018	2,5
4-Met-Va	0,019	2,5

En base a las concentraciones finales de cada AGV, teniendo en cuenta el volumen útil de cada botella (85 mL), el volumen de sustrato tratado (12,14 mL) y considerando que los mejores resultados de recuperación de AGVs por ED se obtienen en el segundo experimento de separación selectiva, en la que se logra un 90% de AGVs recuperados; se calcularon los gramos finales por mL de salmuera tratada (g/mL). Con estos datos, partiendo de los valores de mercado de cada AGV, se estimaron los beneficios económicos totales en 6,11 \$/m³ (*Tabla 10*).

Tabla 10. Beneficio económico total estimado por m³.

ÁCIDO	BENEFICIO (\$ Kg/m ³)
Acético	2,198
Propiónico	0,775
Isobutírico	0,442
Butírico	1,490
Isovalérico	0,606
Valérico	0,291
4-Met-Va	0,307
TOTAL	6,11

5 DISCUSIÓN

En el **primer batch** se pretende seleccionar las salmueras con mayor potencial como sustrato para la producción de AGVs y en qué condiciones de pH, alcalinidad y RIS llevar a cabo el experimento. Para ello se estudia la acidificación alcanzada en cada una de las botellas del batch, el perfil y composición de los AGVs obtenidos en las botellas y el rendimiento de la biomasa.

Los resultados sugieren que la salmuera de EDAR alcanza niveles de acidificación mucho más elevados que el resto probablemente a su baja EC, por lo que es más sencillo para la biomasa consumirla y transformarla en AGVs, por ello, no se consideran resultados significativos. Las salmueras de Foso alcanzan un porcentaje de acidificación de entre el 30% y el 40%, sin embargo, las salmueras de Jamón, a pesar de alcanzar porcentajes de acidificación menores (cerca del 10%), también producen ácidos de mayor interés en el mercado (4-Met-Va, Valérico, iso-valérico, isobutírico y propiónico), como se puede observar en la *Figura 7*.

En las salmueras de EDAR y Descalcificador se observa una composición en AGVs destacada por la presencia de ácido acético y butírico en la totalidad de sus perfiles mientras que, las salmueras de Foso y Jamón obtienen perfiles más heterogéneos con ácidos de mayor valor como el ácido iso-butírico (12% en Foso y 5% - 10% en Jamón), valérico (en Foso en torno al 5% y en Jamón entre el 5% y el 12%), iso-valérico (en Foso 18% y en Jamón 5% - 10%), propiónico (25% - 30% en Foso y 5% - 10% en Jamón) y 4-Met-Va (en Foso perfiles próximos al 5% y al 6% en Jamón).

El rendimiento de la biomasa del primer *batch* (*Figura 9*) sigue una tendencia similar a los datos obtenidos del porcentaje de acidificación, esto es debido a que se mantuvo un RIS igual para cada condición sin tener en cuenta las diferentes DQOs de las salmueras. Observamos que los rendimientos de EDAR son los más elevados al consumirse más fácilmente debido a su baja EC. Lo contrario ocurre con la salmuera de Jamón, donde su elevada EC hace que sea más difícil transformarla a AGVs. Se observa que los mejores rendimientos los obtienen las botellas con salmuera de Foso, siguiendo tendencias similares y valores entorno al 30% y al 45%, excepto en las condiciones de Foso sin bicarbonato a pH 4,5, donde se alcanzan rendimientos ligeramente inferiores de entre el 20% y el 25%.

Con los resultados que se observan en los datos obtenidos de los porcentajes de acidificación puede comprobarse que el máximo de acidificación se alcanza el día 7 del experimento. Las condiciones de Descalcificador y Jamón alcanzan valores de acidificación pequeños y no significativos (ANOVA de una vía; $p > 0,05$). Se ha observado que, de carácter general, no se observan diferencias relevantes entre las condiciones con bicarbonato y sin bicarbonato, y, respecto al pH, se obtienen mejores resultados con pHs cercanos al 4,5.

Con los datos obtenidos del primer experimento se diseñaron las condiciones para el **segundo experimento batch**. En base a los resultados del primer *batch*, se tomó la decisión de trabajar con las salmueras de Foso, por su alto rendimiento, y - a pesar de que muestran rendimientos de biomasa inferiores - con las de Jamón, ya que generan AGVs de interés que también pueden ser valorizados. Además, se hace una mezcla de Foso + Jamón - para estudiar su rendimiento y analizar su composición de AGVs - y una mezcla de Jamón + Descalcificador. Teniendo en cuenta que el máximo de acidificación se observa en el séptimo día de experimento, se optó por acortar el segundo batch a 7 días. Se decidió prescindir de bicarbonato de sodio, esto se debe a que en el primer experimento *batch* no se observan diferencias significativas (ANOVA de dos vías $F = 3,1$ $p > 0,05$) entre los resultados obtenidos para cada condición de las salmueras.

Los resultados sugieren mayor acidificación en las pruebas con salmueras de Foso (55% - 65% con RIS alto y entre un 75% - 93% con RIS bajo). Las botellas con salmuera de Jamón son las que menos porcentaje de acidificación alcanzan con resultados diferenciados entre ambos RIS alto y bajo (5% - 7% y 15% - 42%, respectivamente). Respecto a la acidificación lograda por las mezclas, las de F+J muestra resultados similares en ambos RIS (entre el 25%-40% a RIS alto y entre el 40% y el 50% a RIS bajo). La mezcla de J+D presenta resultados dispares, en los que apenas se alcanza el 7% - 8% en las pruebas con un RIS alto mientras que, a RIS bajo, se logran valores de entre el 35% y el 55%. Por lo general, se alcanzan mayores niveles de acidificación a RIS bajos.

Por lo general, cada condición analizada alcanza el punto máximo de rendimiento de la biomasa al séptimo día de experimento, en el que se puede observar una composición de AGVs heterogénea principalmente en las condiciones de foso, alcanzando entre un 35% y un 45% en composición de ácidos iso-butírico, iso-valérico, butírico, valérico y 4-Met-Va. Las condiciones de Jamón presentan perfiles con mayor variedad de AGVs a RIS más bajos en comparación con las condiciones a RIS altos, donde se obtiene un gran porcentaje de ácido acético (75%) y apenas un 25% de composición en los otros ácidos de interés. Los perfiles de AGVs obtenidos en las mezclas son de mayor interés en las condiciones de Foso + Jamón, donde se obtienen tendencias similares de entre el 50% y el 60% de ácidos de mayor valor en el mercado (isobutírico, valérico, isovalérico, propiónico y 4-Met-Va). Las mezclas de Desc. + Jamón obtienen mejores resultados a RIS más bajos debido a una composición más variada en AGVs de interés en comparación a los perfiles obtenidos a RIS altos.

Los datos obtenidos del rendimiento de la biomasa en el día 7 de experimento muestran que las salmueras de Foso y F+J alcanzan rendimientos más altos a RIS altos mientras que, las salmueras de Jamón y J+D alcanzan sus máximos de rendimiento en las pruebas con RIS bajos.

Se sospecha que la diferencia del porcentaje de acidificación entre las diferentes salmueras es debido a sus CE. Al observar los porcentajes de acidificación del día 7 del segundo experimento *batch* y las CE de las condiciones medidas al final del experimento, se puede observar la correlación ($R^2 = 0,9719$) entre la acidificación y la CE. Con ello se puede determinar que probablemente no se alcancen porcentajes de acidificación mayores en ciertas salmueras debido a su elevada concentración de sal y no debido a su composición de materia orgánica (Figura 13).

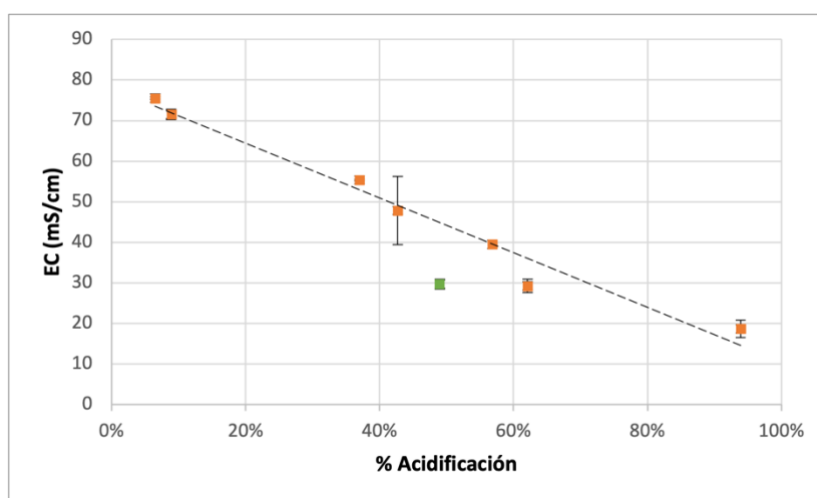


Figura 13. Correlación EC - % Acidificación.

Uno de los objetivos del estudio era lograr purificar los AGVs separándolos de los iones de sal presentes en el digestato del fermentador mediante el empleo de la **electrodiálisis**. Para realizar el experimento se llevaron a cabo pruebas de curva LCD para determinar la intensidad o el voltaje constante con la que operar el sistema. Los resultados muestran diferencias considerables en la variación de la conductividad y en la recuperación de los ácidos entre las pruebas con voltaje constante y las pruebas a intensidad constante.

En el primer experimento se estableció un voltaje constante - 14V tras realizar la curva LCD -. La intensidad de corriente se ajustó a 1,97A al inicio del experimento y luego fue decreciendo progresivamente, resultando en un tiempo de 60 minutos para alcanzar el objetivo de 0,43mS/cm de CE. Puede observarse que la disminución de la CE no se produce de forma progresiva (*Figura 10*), esto es debido a una elevada velocidad de separación (dada por la intensidad de corriente) de los componentes del permeado. En la electrodiálisis uno de los parámetros importantes es la velocidad de separación del proceso. El funcionamiento de las membranas de electrodiálisis es similar a la exclusión por tamaño, es decir, primero se movilizan los iones de menor tamaño (sales) y por último los de mayor tamaño (los AGVs). Si la velocidad de separación es muy elevada, los iones pueden llegar a separarse de forma no selectiva y forzar la movilización de ácidos al concentrado, suponiendo una reducción de AGVs en el permeado, hecho observable en los resultados del experimento a voltaje constante. Las sales se separan del permeado a lo largo de los 60 minutos de experimento principalmente durante los primeros 20 minutos. Los AGVs consiguen migrar del permeado al concentrado, obteniendo valores de reducción de AGVs en el permeado de entre el 40% y el 60%.

Sin embargo, en el experimento realizado a intensidad constante (0,25A – 0,3A), la intensidad establecida es menor y, por lo tanto, también la velocidad de separación – con una duración de 6 horas y 40 minutos hasta alcanzar el objetivo de 4,6 mS/cm. Los iones de sal se separan lentamente y de forma progresiva y, la recuperación de AGVs al final del experimento en el permeado alcanza el 90%. Por lo tanto, trabajar con intensidad constante permite separar selectivamente la sal de los AGVs y obtener una mayor recuperación de AGVs en el permeado. Este modo de operación es el óptimo para cumplir con los objetivos del proyecto.

6 CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos referentes a los porcentajes de acidificación alcanzados para cada condición experimental evaluada en el primer experimento *batch* indican que el punto máximo de acidificación se logra en el día 7 del experimento.
- Se obtienen perfiles de AGVs más heterogéneos y de mayor interés en el mercado durante la fermentación anaerobia de las salmueras de foso.
- En general, se alcanzan mayores rendimientos de la biomasa con RIS más bajos.
- Los mejores resultados en las pruebas de electrodiálisis se obtienen a intensidad constante, con la que se logra alcanzar la separación selectiva y, por lo tanto, mayor recuperación de AGVs (~90%).

6.1 Limitaciones y mejoras para realizar en proyectos futuros

6.1.1 Electrodiálisis bipolar

El equipo de ED con el que se trabajó únicamente permite separar selectivamente iones de sal de los ácidos grasos contenidos en el digestato del fermentador anaerobio en dos tanques. De esta manera tan solo pueden valorizarse los ácidos orgánicos grasos recuperados y purificados, pero no los iones de sal. Una mejora para valorizar las sales es la aplicación de electrodiálisis con membranas bipolares (EDBM). Está compuesta por tres tanques: uno en el que obtendríamos el permeado de AGVs, otro para el concentrado de cationes y un tercero para los aniones.

6.1.2 Optimización del proceso y tiempo de separación iónica

Como mejoras a tener en cuenta en futuros experimentos de electrodiálisis, debe optimizarse el tiempo de separación de las sales del permeado trabajando con intensidad constante. Lo ideal es establecer una velocidad de separación intermedia para evitar una gran migración de AGVs al concentrado pero que la separación de la sal no alcance un tiempo de duración tan extenso (más de 6 horas para 2 L de digestato). Con ello se ahorran, además de tiempo, costes energéticos para las empresas que implanten dicha metodología.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Prodeca. (s.f.). El sector de la carne y los embutidos. Recuperado de <https://www.prodeca.cat/es/sectores/el-sector-de-la-carne-y-los-embutidosel>
2. Fra-Vázquez A, Pedrouso A, Val Del Rio A, Mosquera-Corral A. Volatile fatty acid production from saline cooked mussel processing wastewater at low pH. *Sci Total Environ.* 2020 Aug 25;732:139337. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139337. Epub 2020 May 11. PMID: 32438163.
3. Wang, C., Li, X., Zhang, B., Zhou, J., & Lin, C. (2021). Volatile fatty acid production from saline cooked mussel processing wastewater at low pH. *Water and Environment Research*, 93(11), 2252-2262. <https://doi.org/10.1002/wer.1406>
4. Chen, B., Rupani, P. F., Azman, S., Dewil, R., & Appels, L. (2022). A redox-based strategy to enhance propionic and butyric acid production during anaerobic fermentation. *Bioresource Technology*, 361, 127672.
5. Arango-Londoño, D., & Ocampo-Medina, E. M. (2015). Design and construction of an experimental set for measuring properties of fine sediment deposits in hydropower plants. *Ingeniería y Competitividad*, 17(2), 139-152
6. Corrales, L. C. (s. f.). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta.
7. Chen, C., & Li, C. (2022). [Anaerobic digestion pathways in biochemistry: a teaching practice]. *PubMed*, 38(12), 4765-4778. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.220305>
8. Valdovinos Lepine, A. (2018). Título del trabajo. Tiempo de residencia medio para diseño de digestores anaerobios de residuos orgánicos urbanos. Universidad Nacional Autónoma de México.
9. 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. *Bioresource Technology*, 248, 68-78.
10. Segovia, E. (2018). Título del trabajo. Caracterización y cuantificación de las poblaciones de bacterias y arqueas presentes en digestores anaerobios de EDAR. Universitat Politècnica de València.
11. Ecosistemes d'aigua dolça : Un món ple de vida. (2003, October). Departament de Medi Ambient - Generalitat de Catalunya.

12. Antonio Aznar Jiménez. (2000). Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas. Instituto Tecnológico de Química y Materiales “Álvaro Alonso Barba”. Universidad Carlos III.
13. Torres, A. (2018). Análisis de aguas residuales laboratorio medio ambiente diputación provincial de granada. Laboratorio Medio Ambiente-Diputación Provincial de Granada.
14. Cristina García de la Fuente. (2013, November). Parámetros fisicoquímicos del agua. PV ALBEITAR.
15. Dashko, S., Zhou, N., Compagno, C., & Piškur, J. (2014). Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation? *Fems Yeast Research*, 14(6), 826-832. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12161>
16. Wang Y, Liang B, Kang F, Wang Y, Zhao C, Lyu Z, Zhu T, Zhang Z. An efficient anoxic/aerobic/aerobic/anoxic process for domestic sewage treatment: From feasibility to application. *Front Microbiol*. 2022 Aug 2;13:970548. doi: 10.3389/fmicb.2022.970548. PMID: 35983333; PMCID: PMC9378819.
17. Méndez, G. B., Sánchez, C. R., & Muyo, J. C. (s.f.). Red de Tratamiento y reciclaje de aguas industriales mediante soluciones sostenibles fundamentadas en procesos biológicos. (TRITÓN-316RT0506).
18. Vivanco, E., Yaya, R., & Chamy, R. (s.f.). Red de Tratamiento y reciclaje de aguas industriales mediante soluciones sostenibles fundamentadas en procesos biológicos. (TRITÓN-316RT0506).
19. Hernández-Rojas, M. E., Vázquez-Huerta, G., & Dávila-Gómez, J. Á. (2012). FERMENTACIÓN ANAEROBIA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOHIDRÓGENO EN UN REACTOR UASB MEDIANTE LA RUTA DEL ETANOL. *Revista Cubana de Química*, XXIV(3), 207-211.
20. Arbisa. (2021, 2 marzo). ¿QUÉ SABEMOS DEL ÁCIDO ACÉTICO? - Arbisa. Arbisa. <https://arbisa.es/que-sabemos-del-acido-acetico/>
21. Esteban, A. (2021, 26 diciembre). Ácido butírico: el potente combustible para el bienestar intestinal. *alimento.elconfidencial.com*. https://www.alimento.elconfidencial.com/bienestar/2021-12-26/acido-butirico-proteccion-intestinal_2751640/
22. Ácido butírico Tendencias del mercado, análisis y participación de la industria | 2022-27. (s. f.). <https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/butyric-acid-market>
23. Bloetscher, F., Meeroff, D.E., Roblyer, J. and Prymas, A. (2018) Algal Control in Warm Weather Pond Using EMOH Device. *Journal of Environmental Protection*, 9, 882-894.

24. Ghidotti, M., Fabbri, D., Torri, C., & Piccinini, S. (2018). Determination of volatile fatty acids in digestate by solvent extraction with dimethyl carbonate and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 1034, 92-101.
25. Lee, H. S., Strathmann, H., & Moon, S. (2006). Determination of the limiting current density in electrodialysis desalination as an empirical function of linear velocity. *Desalination*, 190(1-3), 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.08.004>
26. Zhang, Y., Pinoy, L., Meesschaert, B., & Van Der Bruggen, B. (2011). Separation of small organic ions from salts by ion-exchange membrane in electrodialysis. *Aiche Journal*, 57(8), 2070-2078. <https://doi.org/10.1002/aic.12433>
27. Rodier, J. (1989) *Análisis de las aguas : aguas naturales, aguas residuales, agua de mar*. Omega, Barcelona.
28. Alexis, P. B., Patricia, T., Fernando, M. L., Marcela, C. L., Carlos, V., Alexander, T. W., & Abdón, O. J. (2015). Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ingeniería Investigación y Tecnología*. <https://doi.org/10.1016/j.riit.2015.09.004>
29. Jankowska, E., Chwialkowska, J., Stodolny, M., & Oleskovicz-Popiel, P. (2017). Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation – The impact of substrate complexity and pH. *Chemical Engineering Journal*, 326, 901-910.
30. Mercado de ácido acético glacial | 2022 - 27 | Participación, tamaño y crecimiento de la industria - Mordor Intelligence. (s. f.). <https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/glacial-acetic-acid-market>
31. Naciones Unidas. (s.f.). Goal 6: Ensure availability and sustainable management of water and sanitation for all. Recuperado de <https://sdgs.un.org/goals/goal6>.
32. *Goal 14 | Department of Economic and Social Affairs*. (s. f.). <https://sdgs.un.org/goals/goal14>
33. Moran, M. (2020, 17 junio). *Agua y saneamiento - Desarrollo Sostenible*. Desarrollo Sostenible. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>
34. *Chemical Price Analysis, Chemical Latest Prices | ChemAnalyst*. (s. f.). <https://www.chemanalyst.com/Pricing/Pricingoverview>
35. La Cerva, M., Gurreri, L., Tedesco, M. A., Cipollina, A., Ciofalo, M., Tamburini, A., & Micale, G. (2018). Determination of limiting current density and current efficiency in electrodialysis units. *Desalination*, 445, 138-148.

36. Lee, H. S., Strathmann, H., & Moon, S. (2006). Determination of the limiting current density in electro dialysis desalination as an empirical function of linear velocity. *Desalination*, 190(1-3), 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.08.004>
37. Zhang, Y., Pinoy, L., Meesschaert, B., & Van Der Bruggen, B. (2011). Separation of small organic ions from salts by ion-exchange membrane in electro dialysis. *Aiche Journal*, 57(8), 2070-2078. <https://doi.org/10.1002/aic.12433>
38. Carles Martori, J. (s.f.). *Normality test*. DAM Research Group. Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya.
39. Bagotsky, V. S. (2005). *Fundamentals of Electrochemistry*. John Wiley & Sons.

ANEXOS

Gráficas suplementarias

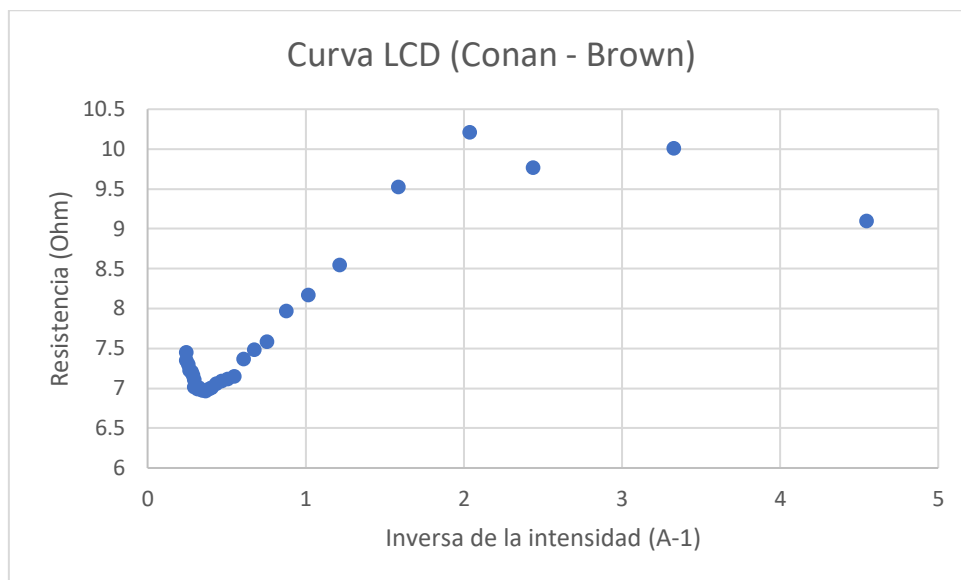


Figura A 1. Curva LCD realizada para el experimento con voltaje constante en la ED.