**Impact on the microbial population during biological volatile fatty acid production from olive mill solid waste**

***E. Jiménez-Páez1,2,*** ***A. Serrano2,3,\*, J. Purswani2,3, D. Correa-Galeote2,3, Juan Cubero-Cardoso4,5, F.G. Fermoso1***

1Instituto de la Grasa, Spanish National Research Council (CSIC), Ctra. de Utrera, km. 1, 41013 Seville, Spain

2Institute of Water Research, University of Granada, Granada, 18071, Spain

3Department of Microbiology, University of Granada, , Granada, 18071, Spain.

4Laboratory of Sustainable and Circular Technology, CIDERTA and Chemistry Department, Faculty of Experimental Sciences, Campus de “El Carmen”, University of Huelva, 21071, Huelva, Spain.

5CRETUS, Department of Chemical Engineering, University de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain.

\*Corresponding Autor: [antonio.serrano@ugr.es](mailto:antonio.serrano@ugr.es)

**Supplementary material**

***Table S1.*** *Individual VFAs concentration during the whole time experimentation*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Time (Days) | C2  (g O2/L) | C3  (g O2/L) | i-C4  (g O2/L) | n-C4  (g O2/L) | i-C5  (g O2/L) | n-C5  (g O2/L) |
| pH 4 | 0 | n.d | n.d | n.d | 0.03 ± 0.0 | n.d | n.d |
| 3 | 0.08 ± 0.02 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 8 | 0.07 ± 0.03 | n.d | 0.02 ± 0.03 | n.d | n.d | n.d |
| 11 | 0.13 ± 0.04 | 0.05 ± 0.0 | 0.02 ± 0.03 | n.d | n.d | n.d |
| 15 | 0.19 ± 0.03 | 0.20 ± 0.02 | 0.03 ± 0.02 | n.d | n.d | n.d |
| 17 | 0.20 ± 0.15 | 0.09 ± 0.06 | 0.03 ± 0.02 | 0.03 ± 0.04 | n.d | n.d |
| 22 | 0.20 ± 0.15 | 0.10 ± 0.06 | 0.03 ± 0.02 | 0.03 ± 0.03 | n.d | n.d |
| 24 | 0.25 ± 0.15 | 0.12 ± 0.07 | 0.03 ± 0.02 | 0.03 ± 0.03 | n.d | n.d |
| 29 | 0.24 ± 0.17 | 0.09 ± 0.06 | 0.05 ± 0.01 | 0.03 ± 0.03 | n.d | n.d |
| 31 | 0.30 ± 0.15 | 0.12 ± 0.01 | 0.03 ± 0.02 | 0.03 ± 0.04 | n.d | n.d |
| 37 | 0.36 ± 0.23 | 0.15 ± 0.03 | 0.02 ± 0.01 | 0.04 ± 0.03 | n.d | n.d |
| 39 | 0.41 ± 0.29 | 0.18 ± 0.02 | 0.05 ± 0.0 | 0.00 ± 0.03 | n.d | n.d |
| 44 | 0.41 ± 0.30 | 0.19 ± 0.02 | n.d | 0.05 ± 0.03 | n.d | 0.06 ± 0.07 |
| pH 5 | 0 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 3 | 0.02 ± 0.0 | 0.07 ± 0.0 | n.d | 0.07 ± 0.01 | n.d | n.d |
| 8 | 0.27 ± 0.01 | 0.09 ± 0.0 | n.d | 0.06 ± 0.01 | n.d | n.d |
| 11 | 0.36 ± 0.04 | 0.15 ± 0.04 | n.d | 0.12 ± 0.01 | n.d | n.d |
| 15 | 0.06 ± 0.0 | 0.16 ± 0.12 | n.d | 0.03 ± 0.04 | n.d | n.d |
| 17 | 0.07 ± 0.06 | 0.22 ± 0.05 | n.d | 0.14 ± 0.03 | n.d | 0.06 ± 0.01 |
| 22 | 0.04 ± 0.0 | 0.25 ± 0.05 | n.d | 0.13 ± 0.01 | n.d | 0.06 ± 0.01 |
| 24 | 0.20 ± 0.02 | 0.24 ± 0.04 | n.d | 0.12 ± 0.0 | n.d | 0.08 ± 0.03 |
| 29 | 0.06 ± 0.04 | 0.27 ± 0.0 | n.d | 0.11 ± 0.02 | n.d | 0.07 ± 0.02 |
| 31 | 0.18 ± 0.08 | 0.32 ± 0.05 | n.d | 0.09 ± 0.01 | n.d | 0.08 ± 0.01 |
| 37 | 0.20 ± 0.03 | 0.38 ± 0.01 | n.d | 0.10 ± 0.01 | n.d | 0.10 ± 0.03 |
| 39 | 0.04 ± 0.0 | 0.41 ± 0.01 | n.d | 0.10 ± 0.01 | 0.05 ± 0.0 | 0.11 ± 0.01 |
| 44 | 0.03 ± 0.0 | 0.44 ± 0.04 | n.d | 0.10 ± 0.01 | 0.03 ± 0.02 | 0.10 ± 0.02 |
| pH 6 | 0 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 2 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 7 | 0.03 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 9 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 14 | 0.01 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 16 | 0.24 ± 0.17 | 0.08 ± 0.02 | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 28 | 0.06 ± 0.07 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 30 | 0.21 ± 0.20 | 0.13 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 35 | 0.07 ± 0.06 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 37 | 0.19 ± 0.16 | 0.10 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 42 | 0.01 ± 0.02 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 45 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| pH 7 | 0 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 2 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 7 | n.d | n.d | 0.04 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d |
| 9 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 14 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 16 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 28 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 30 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 35 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 37 | 0.23 ± 0.11 | 0.11 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d | 0.33 ± 0.01 |
| 45 | 0.23 ± 0.24 | 0.04 ± 0.05 | n.d | n.d | n.d | 0.23 ± 0.03 |
| pH 9 | 0 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 2 | 0.70 ± 0.01 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 7 | 1.14 ± 0.06 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 9 | 1.28 ± 0.15 | 0.29 ± 0.16 | n.d | n.d | 0.31 ± 0.06 | n.d |
| 14 | 1.39 ± 0.15 | 0.26 ± 0.14 | 0.18 ± 0.01 | 0.14 ± 0.04 | 0.36 ± 0.07 | n.d |
| 16 | 1.26 ± 0.22 | 0.18 ± 0.15 | 0.16 ± 0.02 | 0.13 ± 0.04 | 0.26 ± 0.05 | n.d |
| 20 | 1.63 ± 0.22 | 0.31 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.32 ± 0.05 | n.d |
| 23 | 1.71 ± 0.29 | 0.30 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.29 ± 0.04 | n.d |
| 28 | 1.70 ± 0.33 | 0.28 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.27 ± 0.02 | n.d |
| 30 | 1.67 ± 0.39 | 0.28 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.23 ± 0.01 | n.d |
| 36 | 2.06 ± 0.46 | 0.31 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.26 ± 0.18 | n.d |
| 38 | 2.04 ± 0.82 | 0.33 ± 0.22 | n.d | n.d | 0.13 ± 0.03 | n.d |
| 42 | 2.65 ± 0.47 | 0.42 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.28 ± 0.2 | n.d |
| 45 | 2.3 ± 0.47 | 0.36 ± 0.15 | n.d | n.d | 0.15 ± 0.1 | n.d |
| pH 10 | 0 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 2 | 0.62 ± 0.05 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 7 | 1.25 ± 0.1 | n.d | n.d | n.d | n.d | 0.25 ± 0.3 |
| 9 | 1.25 ± 0.04 | 0.21 ± 0.01 | n.d | n.d | 0.40 ± 0.03 | n.d |
| 14 | 1.35 ± 0.08 | 0.21 ± 0.01 | 0.22 ± 0.02 | 0.25 ± 0.06 | 0.49 ± 0.04 | n.d |
| 16 | 1.35 ± 0.05 | 0.19 ± 0.01 | 0.21 ± 0.02 | 0.23 ± 0.05 | 0.37 ± 0.4 | n.d |
| 20 | 1.57 ± 0.08 | 0.22 ± 0.01 | 0.11 ± 0.15 | 0.12 ± 0.17 | 0.41 ± 0.04 | n.d |
| 23 | 1.60 ± 0.15 | 0.23 ± 0.02 | n.d | 0.12 ± 0.16 | 0.37 ± 0.04 | n.d |
| 28 | 1.65 ± 0.14 | 0.21 ± 0.01 | n.d | 0.10 ± 0.14 | 0.36 ± 0.04 | n.d |
| 30 | 1.67 ± 0.09 | 0.21 ± 0.03 | n.d | n.d | 0.32 ± 0.01 | n.d |
| 36 | 1.49 ± 0.77 | 0.20 ± 0.04 | n.d | n.d | 0.18 ± 0.26 | n.d |
| 38 | 1.81 ± 0.11 | 0.24 ± 0.01 | n.d | n.d | 0.29 ± 0.03 | n.d |
| 42 | 1.98 ± 0.13 | 0.28 ± 0.01 | n.d | n.d | 0.33 ± 0.01 | n.d |
| 45 | 2.00 ± 0.04 | 0.27 ± 0.01 | n.d | n.d | 0.33 ± 0.01 | n.d |

*n.d: not detected*

***Table S2.*** *Gene copies/g biomass of bacteria and archaea determined by quantitative PCR (n=6) retrieved from reactors at initial, intermediate and final times at each operational pH condition.*

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bacteria** | | | | | | |
|  | **T0** | | **T1** | | **T2** | |
|  | **Mean** | **Desv.** | **Mean** | **Desv.** | **Mean** | **Desv.** |
| **pH4** | 1.02E+10 | 3.68E+09 | 2.75E+09 | 6.55E+08 | 2.44E+10 | 1.04E+09 |
| **pH5** | 1.02E+10 | 3.68E+09 | 1.41E+10 | 5.71E+09 | 3.35E+10 | 1.29E+10 |
| **pH6** | 1.02E+10 | 3.68E+09 | 3.56E+09 | 1.68E+09 | 4.18E+09 | 8.25E+08 |
| **pH7** | 1.02E+10 | 3.68E+09 | 6.37E+09 | 2.23E+09 | 3.95E+09 | 4.25E+08 |
| **pH9** | 1.02E+10 | 3.68E+09 | 1.44E+10 | 1.73E+10 | 4.20E+09 | 5.24E+09 |
| **pH10** | 1.02E+10 | 3.68E+09 | 8.09E+08 | 4.95E+08 | 8.78E+08 | 4.35E+08 |
| **Archaea** | | | | | | |
|  | **T0** | | **T1** | | **T2** | |
|  | **Mean** | **Desv.** | **Mean** | **Desv.** | **Mean** | **Desv.** |
| **pH4** | 5.99E+07 | 1.74E+07 | 1.56E+05 | 1.94E+05 | 9.86E+04 | 1.41E+04 |
| **pH5** | 5.99E+07 | 1.74E+07 | 2.90E+06 | 1.01E+06 | 1.00E+07 | 6.89E+06 |
| **pH6** | 5.99E+07 | 1.74E+07 | 8.64E+06 | 9.27E+06 | 2.00E+06 | 7.59E+05 |
| **pH7** | 5.99E+07 | 1.74E+07 | 1.89E+07 | 2.01E+07 | 4.21E+07 | 6.71E+06 |
| **pH9** | 5.99E+07 | 1.74E+07 | 9.87E+05 | 1.14E+06 | 2.74E+05 | 8.59E+04 |
| **pH10** | 5.99E+07 | 1.74E+07 | 8.86E+03 | 4.95E+08 | 0.00E+00 | 0.00E+00 |

*T0: day 0 (sample initial conditions); T1: sample mid TRH; T2: sample last operational day.*