



Interciencia

ISSN: 0378-1844

interciencia@ivic.ve

Asociación Interciencia

Venezuela

Rodríguez, Suyén; Pérez, Rosa M.; Fernández, Maikel  
Estudio de la biodegradabilidad anaerobia de las aguas residuales del beneficio húmedo del café  
Interciencia, vol. 25, núm. 8, noviembre, 2000, pp. 386-390  
Asociación Interciencia  
Caracas, Venezuela

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33905005>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

---

**ESTUDIO DE LA BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA  
DE LAS AGUAS RESIDUALES DEL BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ**

---

Suyén Rodríguez Pérez, Rosa M. Pérez Silva y Maikel Fernández Boizán

**RESUMEN**

*La determinación de la biodegradabilidad anaerobia de un agua residual permite estimar la fracción de DQO que puede ser eliminada por medio de la digestión anaerobia. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la biodegradabilidad de las aguas residuales producidas durante el beneficio húmedo del café: aguas de despulpe, utilizadas para la remoción de la pulpa del grano, y aguas de lavado, utilizadas durante la fermentación del grano. Los experimentos se realizaron en tandas, utilizando un método de desplazamiento líquido para cuantificar el metano producido y se probaron diferentes concentraciones de*

*esta agua (sin dilución y dilución 1:2). Pudo comprobarse que con el agua de despulpe se logra una mayor producción de metano ( $\text{CH}_4$ ), siendo esto último más eficiente cuando se diluye la carga (1:2). Los valores de remoción de la DQO no superan el 40% para el tiempo de digestión ensayado. Se probaron dos fuentes de inóculo: estiércol vacuno y lodos de laguna de estabilización. El lodo presentó una mejor actividad siendo en todos los casos superiores a  $0,12 \text{ g DQO}_{\text{CH}_4}/\text{gSSV}^*\text{d}$ , demostrando que tiene una mayor adaptación a las características de los residuos tratados.*

**Introducción**

En la zona oriental de Cuba se encuentra la mayor región productora de café del país, y en la mayoría de los casos el producto es beneficiado por vía húmeda. Con la aplicación de este proceso se generan grandes cantidades de residuales como pulpa, mucí-

lago y pergamino, además de los volúmenes de aguas residuales. Ello ocasiona una elevada contaminación en los cuerpos receptores (Bello, 1995). Las aguas residuales generadas en el proceso de beneficiado del café son de dos tipos: de despulpe (utilizada para la remoción de la pulpa del grano) y de lavado

(utilizada durante la fermentación del grano), y ambas son altamente contaminantes. El beneficio de 1 kg de café produce una contaminación equivalente a la de 45,5 l de aguas residuales domésticas (Bermúdez *et al.*, 1999).

Las características químico-físicas de las aguas residuales, y su contaminación orgá-

nica con un buen grado de biodegradabilidad y presente en forma disuelta, señalan a los métodos biológicos como los más apropiados para su tratamiento. Varios ensayos realizados en Latinoamérica para tratar estos efluentes, utilizando métodos físico-químicos, químicos y biológicos han demostrado que los últi-

---

**PALABRAS CLAVES / Digestión Anaerobia / Biodegradabilidad Anaerobia / Agua de Despulpe / Agua de Lavado /**

---

Suyén Rodríguez Pérez. Licenciada en Bioquímica. Maestría en Biotecnología. Miembro Docente del Área Ambiental del Centro de Estudios de Biotecnología Ambiental, Universidad de Oriente, Cuba. Di-

rección: Patricio Lumumba s/n, Santiago de Cuba, C.P. 90500, Cuba.  
e-mail: suyen@cebi.uo.edu.cu

Rosa María Pérez Silva. Licenciada en Química. Docente y responsable del Grupo Analítica, Centro de Estudios de Biotecnología Ambiental, Universidad de Oriente, Cuba.  
e-mail: rmaria@cebi.uo.edu.cu

Maikel Fernández Boizán. Estudiante de Licenciatura, Centro de Estudios de Biotecnología Ambiental, Universidad de Oriente, Cuba.

## SUMMARY

The determination of the anaerobic biodegradability of wastewater allows an estimate of the COD fraction that can be eliminated by means of anaerobic digestion. We evaluated the biodegradability of the wastewaters produced during coffee processing with the wet technique: depulping waters (from the removal of the pulp from the coffee-bean) and wash water (from the coffee-bean fermentation). The experiments were carried out in batch and different concentrations of the wastewaters were tested (undiluted and with 1:2 dilution). The results showed that

a larger methane ( $\text{CH}_4$ ) production is achieved, being more efficient when the load is diluted (1:2); and the values of removal of the COD do not surpass 40% for the time of digestion proved. Two inoculum sources were also tested: bovine manure and sludge from the stabilization lagoon. The sludge presented a better activity being in all cases higher than 0.12g DQO- $\text{CH}_4$ /gSSV\*d, showing a better adaptation to the characteristics of the wastewaters treated.

## RESUMO

A determinação da biodegradabilidade anaeróbia de uma água residual permite estimar a fração de DQO que pode ser eliminada por meio da digestão anaeróbia. O objetivo de nosso trabalho foi avaliar a biodegradabilidade das águas residuais produzidas durante o benefício úmido do café: águas de despulpa, utilizadas para a remoção da polpa do grão, e águas de lavagem, utilizadas durante a fermentação do grão. Os experimentos foram realizados em batch, utilizando um método de movimento líquido para quantificar o metano produzido e foram provados diferentes concentrações desta água (sem diluição e

com diluição 1:2). Pode ser comprovado que com a água de despulpa é conseguida uma maior produção de metano ( $\text{CH}_4$ ), sendo este último mais eficiente quando a carga é diluída (1:2). Os valores de remoção da DQO não superam o 40% para o tempo de digestão ensaiado. Foram testadas duas fontes de inóculo: estiercol vacuno e lodos de lagoa de estabilização. O lodo apresentou uma melhor atividade sendo em todos os casos superiores a 0,12g DQO- $\text{CH}_4$ /gSSV\*d, demonstrando que tem uma maior adaptação às características dos resíduos tratados.

mos son los más adecuados, y que de ellos, la digestión anaerobia, es el de mayor perspectiva (Bailly *et al.* 1992; Bello y Castillo, 1994). La digestión anaerobia resulta ser particularmente ventajosa en la reducción de la carga orgánica contaminante de aguas residuales debido a su bajo costo de instalación, la baja producción de lodos residuales y la producción de biogás (Speece, 1996), que es un valioso subproducto que puede ser usado en diversas actividades en las comunidades cafetaleras donde están enclavados los centros de beneficio. No obstante, estas aguas residuales presentan en su composición sustancias como fenoles, taninos y otros, cuyas características estructurales los hacen ser recalcitrantes a procesos de tratamientos biológicos y en especial la biodegradación anaerobia.

Habitualmente la caracterización de los efluentes se basa exclusivamente en la determinación de algunos parámetros físico-químicos y pocas veces se consideran factores relacionados con la actividad microbiana, a excepción de la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Entre los ensayos más

útiles y necesarios se encuentran los de biodegradabilidad en condiciones anaerobias y de toxicidad, aspectos que resultan fundamentales en la caracterización previa de un agua residual. Estos ensayos pueden aplicarse a la determinación de la actividad metanogénica de un lodo seleccionado como inóculo o el lodo de un digestor en funcionamiento, lo cual es de gran utilidad para seleccionar, realizar la puesta en marcha y optimizar el funcionamiento de un digestor anaerobio (Soto *et al.*, 1993).

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar la biodegradabilidad de las aguas residuales del beneficio húmedo del café, así como seleccionar un inóculo que sea adecuado para llevar a cabo este proceso y que a su vez sea de fácil adquisición en las comunidades montañosas donde se encuentran ubicados los centros de beneficio.

### Materiales y Métodos

#### Localización y características del beneficiado

El estudio se realizó tomando como centro de beneficio

la despulpadora "Madrugón", ubicada en uno de los municipios de mayor actividad cafetalera de la provincia Santiago de Cuba. En esta provincia el proceso de beneficio húmedo del café se efectúa mayoritariamente en despulpadoras de cilindro, seguido de una fermentación natural y posterior lavado del grano para la eliminación del mucílago. En este proceso, por cada tonelada de café cereza se generan aproximadamente 400kg de desechos sólidos (pulpa de café) y unos 14.000 l de aguas residuales, correspondiente a las etapas de despulpado (4.000 l) y lavado (10.000 l).

#### Caracterización del residual

Se procedió a caracterizar las aguas de despulpe y de lavado teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

- pH, Ácidos grasos volátiles (AGV), alcalinidad, sólidos totales disueltos (STD), según recomendaciones del Standard Methods (APHA, 1995).
- Demanda química de oxígeno (DQO), utilizando un micrométodo rápido (Conde *et al.*, 1978).
- Carbohidratos totales, por el

método espectrofotométrico fenol-sulfúrico (Dubois, 1950).

- Azúcares reductores, por el método espectrofotométrico DNS (Miller, 1959).

- Cafeína, por extracción con cloroformo en medio fuertemente alcalino y cuantificación espectrofotométrica a 275 nm (Shufen, 1990).

- Fenoles y taninos, por el método espectrofotométrico Folin – Denis (AOAC, 1975).

Se realizaron tres muestreos para cada tipo de agua residual en un periodo de tiempo de 3 meses (los de mayor estabilidad en el despulpado de café). Los valores reportados son el promedio de las tres lecturas y su coeficiente de variación fue menor de 10%.

#### Ensayos de Biodegradabilidad

Para la realización de estos ensayos se utilizaron como residuales el agua de despulpe y el agua de lavado por separado. También se procedió a ensayar dos inóculos (estiercol vacuno y lodos de las lagunas de estabilización) que son los más accesibles en las regiones montañosas donde se ubican las despulpadoras.

Como digestores se usaron frascos de 1l de capacidad, a

los que se les añadió el inóculo y el agua residual según se refiere en la Tabla I. Se acopló a cada uno un sistema de desplazamiento líquido para la medición del metano producido (Figura 1). Frascos llenos con una solución de NaOH (10%) se usaron para burbujear el biogás y remover el CO<sub>2</sub>. Los datos reportados son el promedio de tres réplicas para cada variante, cuyos coeficientes de variación fueron menores del 10%.

Se monitoreó la producción diaria de metano, y a partir de los datos obtenidos de ésta se calcularon las actividades metanogénicas de los inóculos para cada tratamiento según la siguiente ecuación:

$$AM = (dCH_4/dt) \cdot (1/(V_r \cdot f \cdot SSV))$$

donde, V<sub>r</sub>: Volumen útil del reactor; f: Factor de conversión (en este caso se considera 1/340 ml CH<sub>4</sub>/g de DQO); SSV: Sólidos suspendidos volátiles del lodo inoculado.

También se determinaron los porcentajes de remoción (% r) de la carga orgánica (DQO) con las que fueron alimentadas.

## Resultados y Discusión

Las aguas residuales analizadas (de despulpe y de lavado) se caracterizan por un pH ácido, contaminación orgánica alta (DQO) y contaminación principalmente disuelta; además de buena biodegradabilidad desde el punto de vista de relación DQO/DBO (relación entre 1.5 y 2). Teniendo en cuenta la caracterización realizada (Tabla II) se seleccionó la digestión anaerobia como el proceso a través del cual reducir la contaminación presente en estas aguas residuales. Esta selección de proceso también partió del criterio de que al tener la contaminación principalmente en forma disuelta, la separación física podría ser más difícil y costosa.

Al analizar el comportamiento del estiércol (E) y del lodo de laguna (L) como inóculos, se obtuvieron los si-

guientes resultados. En las cinéticas de producción de metano (Figura 2) se observó una mayor producción en los tratamientos que fueron inoculados con el lodo, cuyos valores sobrepasaron los 400 ml (excepto el control); siendo el doble o más, si se compara con los valores obtenidos en los tratamientos con estiércol. Este comportamiento coincide con los resultados obtenidos del cálculo de la actividad metanogénica (Figura 3) la cual para este inóculo se encontró, en todos los casos, por encima de 0,12g DQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SSV·d, siendo superiores a 0,03g DQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SSV·d referido por Monroy (1997) para lodos de lagunas anaerobias de café. Además hay que tener en cuenta que aunque este lodo estuvo expuesto a estos residuales, por la descargada a la laguna, no tuvo lugar una adaptación dirigida a degradar los componentes más recalcitrantes de los mismos. Se puede señalar que en el caso del estiércol, los valores de actividad metanogénica específica obtenidos en estos ensayos (mayores de 0,09) también superan los valores tradicionalmente reportados (Monroy, 1997) para estiércoles digeridos (0,02 – 0,08), evidenciándose las potencialidades de estos inóculos para ser usados en el arranque de reactores.

Al comparar la biodegradabilidad de las aguas de

TABLA I.  
DISEÑO EXPERIMENTAL EMPLEADO

TRATAMIENTOS	AGUA RESIDUAL Dilución		INOCULO
	1:1	1:2	
Lodo de laguna + agua de despulpe (L + d)	400 ml	200 ml + 200 ml MC	100 ml
Lodo de laguna + agua de lavado (L + l)	400 ml	200 ml + 200 ml MC	100ml
Estiércol + agua de despulpe (E + d)	400 ml	200 ml + 200 ml MC	100 ml
Estiércol + agua de lavado (E + l)	400 ml	200 ml + 200 ml MC	100ml
Control de inóculos (L + MC) y (E + MC)	400 ml MC	—	100 ml

MC: Medio de cultivo usado para preparar el control (400ml) y para diluir residuales (dil 1:2); contiene nutrientes minerales y elementos trazas. Los residuales fueron llevados a pH 7 con buffer fosfato y a los controles se le añadieron 5,5 g/l de glucosa.

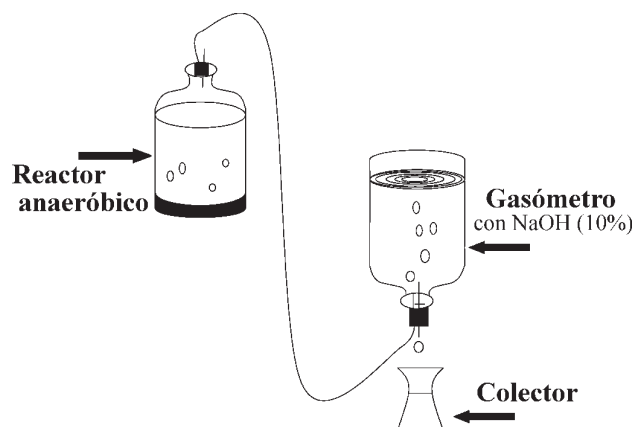


Figura 1. Montaje experimental utilizado para los ensayos de biodegradabilidad.

despulpe (d) y las de lavado (l), se evidencia que las primeras sufrieron mayor biodegradación; pues existió una

mayor producción de metano tanto para los tratamientos con estiércol, como con lodo (Figura 2) durante el tiempo

TABLA II  
CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS AGUAS RESIDUALES DEL BENEFICIO HÚMEDO DE CAFÉ

Parámetros	Agua de Depulpe	Agua de Lavado
pH	4,6	4,6
Carbohidratos Totales (g/l)	0,83	0,72
Azúcares red. (g/l)	0,94	0,12
Taninos (mg/l)	0,16	0,05
Fenoles (mg/l)	80,0	10,0
Cafeína (mg/l)	23,0	10,0
DQO (mg/l)	2532,32	2904,72
AGV (mg HAc/l)	6,96	50,37
Alcalinidad. (mg CaCO <sub>3</sub> /l)	15,0	10,0
STD (mg/l)	3660,0	2287,0

El agua de lavado se analizó a las 24 h

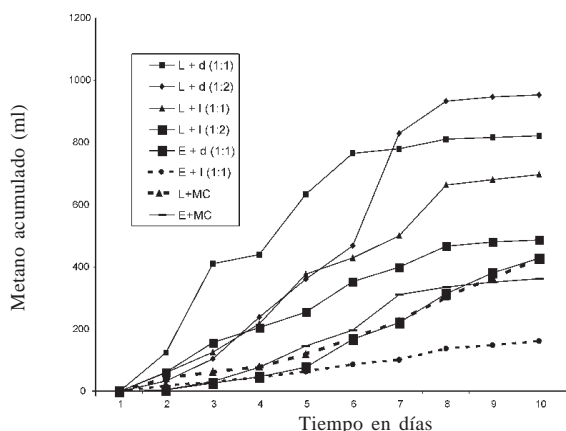


Figura 2. Producción de metano por los diferentes tratamientos. L: lodo de laguna de estabilización. E: estiércol vacuno. I: agua de lavado. d: agua de despulpe. MC: medio de cultivo.

de experimentación. La disminución de la biodegradabilidad de las aguas de lavado se puede relacionar con la inhibición que producen en la metanogénesis la acumulación de AGV, si tenemos en cuenta que esta agua residual esta parcialmente acidificada de forma natural, por los valores de ácidos volátiles que presentó al comienzo de la experimentación (Tabla II), lo que concuerda con otros trabajos (James *et al.* 1990). El tratamiento donde se observó la mayor inhibición es agua de lavado con estiércol (Figura 2), siendo los valores de producción de  $\text{CH}_4$  y de remoción (162 ml y 7%) los más bajos obtenidos, incluso por debajo del control (362 ml y 35%). Al efecto producido por la acumulación de los AGV, se une el considerarse éste como un inóculo cuyas actividades no son las mejores frente al residual. El agua de lavado contiene ácidos orgánicos simples de pectina y azúcares fácilmente fermentables por la microbiota natural, por lo que durante las primeras etapas del proceso de digestión anaerobia (hidrólisis y acidogénesis) se incrementan los valores de ácidos volátiles y con ello su efecto inhibitorio, por acumulación, sobre las bacterias acidogénicas y metanogénicas. Fields (1987) demostró que el 40% de la DQO de estas aguas de

lavado correspondían a AGV y que a estos bajos pH (cerca de 4) la mayor parte de los AGV son C3 y C4 (propiónico y butírico) y no C2 (acético). Además, la acumulación de ácido propiónico produce inhibición en la producción de  $\text{CH}_4$  (Speece, 1996; van Lier *et al.*, 1996).

Los componentes fundamentales de la DQO del agua de despulpe son azúcares, proteínas y pequeñas cantidades de cafeína y fenoles (taninos y ácido clorogénico). La cafeína, el ácido clorogénico y los taninos son toxinas potenciales para el proceso de digestión anaerobia por sus características estructurales. Analizando la incidencia que puedan tener estos compuestos en el proceso anaerobio, se ha demostrado que un inóculo puede adaptarse y biodegradar compuestos fenólicos (Buitrón y Ortíz, 1997; Sosa *et al.*, 1997) si se sigue una estrategia adecuada de aclimatación del mismo. No se puede obviar que el lodo ha estado expuesto por temporadas a estos residuales además de estarlo a la pulpa, por la forma en que son dispuestos estos residuos en los beneficios y los errores de construcción que se presentan en las lagunas de estabilización.

La concentración que inhibe el 50% de la metanogénesis (Fields, 1987), es alre-

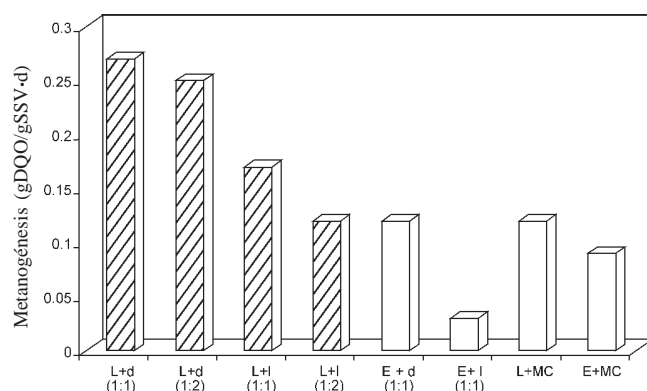


Figura 3. Actividad metanogénica de los inóculos frente a los residuales probados. L: lodo de laguna de estabilización. E: estiércol vacuno. I: agua de lavado. d: agua de despulpe. MC: medio de cultivo.

dedor de los 600-800 mg DQO/l. Es por eso que suponiendo que los taninos contribuyen con un 10% de la DQO del agua de despulpe (Soto *et al.*, 1992), sólo una concentración en esta agua por encima de 7g DQO/l puede comenzar a tener efecto inhibitorio. Según la caracterización hecha (Tabla II), la concentración de esta agua se encontró por debajo de este valor mínimo inhibitorio, como ocurre en la mayoría de los casos con aguas obtenidas en beneficios húmedos. Se ha probado que a concentración de cafeína de 1g/l no existe inhibición metanogénica, por lo que se descarta que a las concentraciones presentes (Tabla II) exista inhibición por

este compuesto. Se ha evidenciado toxicidad del agua de despulpe (Calzada *et al.*, 1981) pero en aguas con cargas de 50g DQO/l. La toxicidad del ácido clorogénico puede ser apreciable, aunque la inhibición no es grave, pero este compuesto es también biodegradable en la medida en que el inóculo se adapte.

El agua de despulpe diluida (1:2) presentó una mayor producción de metano, por lo que aunque estos compuestos no llegan a ser inhibitorios, pueden tener cierto efecto tóxico en el agua concentrada. Este efecto es rebasado en la medida que el inóculo se adapte y aclimate para su biodegradación, especialmente en

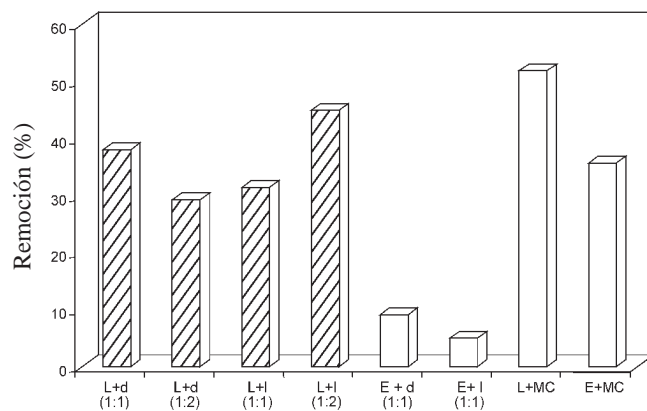


Figura 4. Valores de remoción de la Demanda Química de Oxígeno. L: lodo de laguna de estabilización. E: estiércol vacuno. I: agua de lavado. d: agua de despulpe. MC: medio de cultivo.



el caso del ácido clorogénico. Se ha reportado (Fields, 1987) que a medida que el ácido clorogénico se biodegrada, promueve la formación de AGV y por tanto la acidificación, por lo que ésta puede ser la causa del “acostamiento de la curva” (Figura 2) con agua de despulpe (1:1) pues su acumulación afecta su conversión en  $\text{CH}_4$ , debido a que la metanogénesis es el paso más lento.

En cuanto a la remoción (Figura 4) se obtuvieron valores en 10 días para el lodo, alrededor de 30 – 50%. Los valores más altos (46%) se obtuvieron por este inóculo expuesto al agua de lavado diluida. Es necesario señalar que las aguas de lavado presentan compuestos fácilmente fermentables, los cuales pueden ser utilizados de forma eficiente por los microorganismos para su crecimiento y conversión a intermediarios metabólicos. En el caso del agua de despulpe hay que valorar que esta presenta componentes estructurales que permanecen refractarios a la biodegradación, lo que puede afectar la remoción de la carga contaminante, siendo este comportamiento menos evidente en los tratamientos con lodos.

## Conclusiones

1. Los lodos de lagunas de estabilización de los propios

centros de beneficio presentan buena actividad frente a estas aguas residuales, por lo que se puede lograr la biodegradabilidad por digestión anaerobia empleándolos como inóculos.

2. La mayor inhibición de estas aguas residuales se produce por la acumulación de ácidos grasos volátiles y su efecto inhibitorio por los bajos pH que presentan las mismas. Se sugiere tener en cuenta la separación de las fases (acidogénesis y metanogénesis) en los ensayos en continuo.

3. Existe un% de DQO no biodegradable para estos lodos no adaptados, por la presencia de compuestos refractarios en estas condiciones (cafeína y fenoles), pero que no llegan a ser inhibitorios o tóxicos al proceso.

## REFERENCIAS

- AOAC (1975). *Métodos oficiales*. 13ª Edición, USA. Pp. 80-110.
- APHA (1995) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters*, 19th Edition. Washington D.C, USA. pp. 5-10.
- Bailly H, Sallée B, Gracia S (1992) Proyecto de tratamiento de aguas residuales de beneficios húmedos (I). *Café, Cacao, Thé*, 36(2): 129-136.
- Bello R, Castillo M (1994) Anaerobic Digestion of Wastewaters from Coffee Processing Plants. A Review of the Process Implementation at an Industrial Level. *Biogas Forum* 3(58): 4-11.
- Bello R (1995) *Potencial de aplicación de la digestión anaerobia en el tratamiento de las aguas residuales del beneficio del café*. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Tapachula, México.
- Bermúdez RC, Díaz EE, Pérez RM, Martínez MC, Rodríguez S, Valdés W, Terry A (1999) *Tecnología Integral de tratamiento Anaeróbico de los residuales del beneficio de café para la obtención de biogás*. Informe Técnico de Proyecto Nacional de Energía. Universidad de Oriente, Cuba.
- Buitrón G, Ortiz J (1997) Biodegradación de compuestos fenólicos usando un sistema SBR empacado usando material volcánico poroso. *Memorias del II Simposio Internacional sobre Ingeniería de Bioprocesos*. Mazatlán, México.
- Calzada JF, León OR, Arriola MC, Micheo F, Rolz C, Menchu JF (1981). Biogas from coffee pulp. *Biotech. Lett.*, 3(12): 713-716.
- Conde J, Bartos J, Reyes A (1978) Determinación rápida de la Demanda Química de Oxígeno (DQO). *Rev. sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. ICIDCA, 12 (3): 21-31.
- Dubois M (1950) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350.
- Fields J (1987) Aguas residuales de café. *Curso-Seminario de Tratamiento Anaerobio de Residuos*, Cali, Colombia. pp. 1-5.
- James A, Chernicharo C, Campos C (1990) The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. *Wat. Res.* 24 (7): 813-825.
- Miller GL (1959) Use of D.N.S. Acid reagent for determinations of reducing sugars. *Analytical Chemistry*. 31(3): 426-428.
- Monroy O (1997) Control del arranque de operación de digestores anaerobios. *II Simposio Internacional sobre Ingeniería de Bioprocesos*, Curso Pre – Congreso, Mazatlán, México. pp. 38-39.
- Shufen LI, Berger J, Hartland S (1990) UV spectrometric determination of theobromine and caffeine in cocoa beans. *Analytic Chimia Acta* 232: 409-412.
- Sosa G, Garza Y, Rodríguez J (1997). Biotransformación de fenol de las aguas residuales de la industria textil. *Memorias del II Simposio Internacional sobre Ingeniería de Bioprocesos*. Mazatlán, México.
- Soto M, Méndez R, Lema J (1992) Determinación de toxicidad y biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales. *Tecnología del agua*, No. 92: 70-80.
- Soto M, Méndez R, Lema J (1993). Methanogenic and non methanogenic activity tests: theoretical basis and experimental set up. *Wat. Res.* 27: 1361-1376.
- Speece RE (1996) *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Archæ Press Publisher. Tennessee, USA. pp. 3-6.
- Van Lier JB, Martin JLS, Lettinga G (1996) Effects of Temperature on the Anaerobic Thermophilic Conversion of Volatile Fatty Acids by Dispersed and Granular Sludge. *Wat. Res.* 30: 199-207.