

Obtención de un inóculo termofílico a partir de un lodo mesofílico de EDAR

M^{re} Ángeles DE LA RUBIA ROMERO

Montserrat PÉREZ GARCÍA

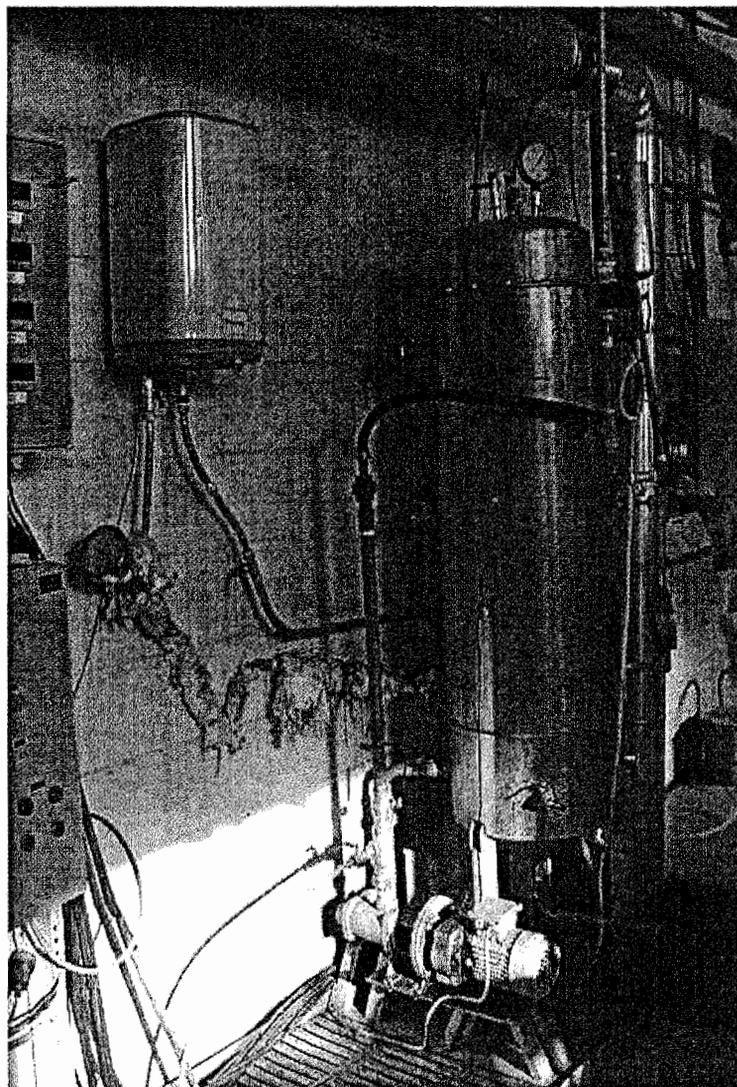
Luis I. ROMERO GARCÍA

Diego SALES MÁRQUEZ

Dpto. de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente

Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ



Digestor piloto utilizado en el estudio.

El objetivo de este artículo es cambiar la temperatura de un digestor anaerobio de lodos desde condiciones mesofílicas (35 °C) hasta termofílicas (55 °C) dado que se ha demostrado que la digestión anaerobia termofílica de lodos de depuradora presenta ventajas significativas frente a su homóloga en condiciones mesofílicas: alta velocidad de crecimiento bacteriano, elevado grado de eliminación de patógenos, baja generación de fango, etc. Aunque, actualmente, la tecnología mesofílica es la más consolidada a escala industrial, diversos estudios bibliográficos muestran la existencia de importantes ventajas operativas de la tecnología termofílica. Asimismo, la experiencia demuestra que la digestión anaerobia termofílica no es menos estable que la mesofílica. La estrategia de transformación seleccionada en el presente estudio de investigación para alcanzar el cambio de temperatura fue realizar un aumento gradual de la misma, siguiendo una modificación del plan de trabajo empleado por Rimkus en Chicago (1982) y por Peddie en Vancouver (1996).

Introducción

Los tratamientos de depuración anaerobia se fundamentan en la oxidación biológica de la materia orgánica contenida en el lodo mediante la actuación de microorganismos específicos y en ausencia de oxígeno molecular. Como consecuencia de este proceso la materia orgánica se transforma en biogas (fundamentalmente metano y dióxido de carbono) de considerable potencial energético. Este biogas se utiliza, generalmente, para el calentamiento de los digestores, aunque también se usa en la obtención de energía eléctrica y en el secado de los lodos.

La importancia de la degradación anaerobia ha aumentado, especialmente durante las dos últimas décadas gracias al desarrollo de tecnologías aplicables a una gran variedad de residuos que van desde las aguas residuales urbanas, hasta efluentes industriales y residuos sólidos (Verstraete, 1999). La mayoría de las aplicaciones se han realizado bajo condiciones mesofílicas de temperatura (Fang, 1999), ya que durante mucho tiempo se ha considerado que el proceso bajo condiciones termofílicas era poco estable. Sin embargo, gran cantidad de estudios a escala de laboratorio han mostrado el importante potencial del proceso de degradación anaerobia para el tratamiento de residuos orgánicos (van Lier, 1993; Ahring, 1994; Pérez, 1995; García, 1996; Solera, 1999). También existen estudios a escala piloto para el tratamiento de aguas residuales industriales (Rintala, 1997) y lodos de EDAR (de la Rubia, 2000) y a escala industrial (Garber, 1975; Rimkus, 1982; Ahring, 1994; Peddie, 1996; Zabranska, 2000).

Los procesos de biodegradación están fuertemente afectados por la temperatura de operación ya que ésta afecta a la actividad de las bacterias tanto a nivel interno celular como a nivel externo. Así, los aspectos termodinámicos de la conversión de compuestos dependen de la temperatura: la mayoría de las reacciones de biodegradación requieren menores energías a altas temperaturas, lo cual implica un proceso de digestión más rápido. En la *tabla 1* se presenta un resumen comparativo de diferentes reacciones implicadas en el proceso de la degradación anaerobia de la materia orgánica a 35 y 55°C (van Lier, 1993).

Si bien la digestión anaerobia termofílica no es menos estable que la mesofílica (Ahring, 1994), el periodo de arranque del proceso es más largo, más de un año, hasta alcanzar un funcionamiento estable del sistema y una producción de biogas aceptable. El principal problema encontrado duran-

Reacción	ΔG^0 (kJ) a 35 °C	$\Delta G'$ (kJ) a 55 °C
Acetato + H ₂ O → CH ₄ + HCO ₃ ⁻	-31	-34
Acetato + 4H ₂ O → 2 HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 4 H ₂	+104,2	+89,8
HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + H ⁺ → CH ₄ + 3 H ₂ O	-135,6	-122,5
Propionato + 3 H ₂ O → HCO ₃ ⁻ + Acetato ⁻ + H ⁺ + 3 H ₂	+76,1	+62,3
Butirato + 2 H ₂ O → 2 Acetato ⁻ + H ⁺ + 2 H ₂	+48,1	+37,9

Tabla 1. Reacciones implicadas en la degradación anaerobia de la materia orgánica.

te el arranque de los reactores termofílicos ha sido la selección de un inóculo termofílico adecuado al proceso en cuestión. Los microorganismos de más lento crecimiento, metanógenas acetotróficas o microorganismos que degradan los ácidos volátiles como el butirato o el propionato, necesitan periodos de tiempo muy elevados para desarrollar una población adecuada en comparación con bacterias tales como las hidrolíticas y fermentativas, que producen los ácidos volátiles e hidrógeno. Este problema, la baja población termofílica, puede ser resuelto utilizando un inóculo procedente de otra planta que opere en rango termofílico. Si no se dispone de inóculo termofílico, la estrategia de arranque para el desarrollo del inóculo puede ser de extrema importancia para el proceso.

En principio, el procedimiento de obtención de un inóculo termofílico a partir de un lodo mesofílico implica, bien un aumento secuencial y gradual de la temperatura, bien un cambio brusco de la temperatura desde 35 °C a 55 °C que coinciden con los óptimos de temperatura para los rangos mesofílico y termofílico, respectivamente.

Al someter al digestor a un cambio de temperatura se varía uno de los parámetros fundamentales de operación de la digestión anaerobia. Así, pequeñas oscilaciones de temperatura del orden de 2 °C pueden ocasionar el desequilibrio de las velocidades de producción y de utilización de un determinado producto, conduciendo a grandes distorsiones en el proceso depurativo. No obstante, los lodos más sensibles a cam-

bios de temperatura son aquellos que han sido adaptados rápidamente a altas temperaturas (Van Lier, 1993), siendo especialmente sensible la población metanogénica del lodo cuando éste es llevado bruscamente desde condiciones mesofílicas hasta condiciones termofílicas de temperatura. Sin embargo, si el proceso de incremento de temperatura se realiza muy lentamente, la estabilidad de la metanogénesis es mucho mayor.

Materiales y métodos

El objetivo fundamental del presente artículo es establecer un protocolo válido de transición de temperatura desde condiciones mesofílicas hasta condiciones termofílicas de temperatura para, más tarde, estudiar la aplicabilidad de la degradación anaerobia termofílica a los lodos de una depuradora urbana convencional de aguas residuales urbanas que cuenta, en la actualidad, con tratamiento anaerobio de lodos en condiciones mesofílicas.

Condiciones de operación y equipos

El digestor piloto utilizado en el presente estudio está construido en acero inoxidable con una capacidad total de 175 litros y un volumen útil de 150 litros.

La alimentación utilizada en el estudio está compuesta por una mezcla de los lodos primarios y secundarios, generados en la EDAR Guadalete de Jerez de la Frontera (Cádiz), donde se ha llevado a cabo el estudio, si bien la carga orgánica de alimentación es variable dependiendo del porcentaje de cada tipo de lodos en el

fango de alimentación. Esta es la sistemática de alimentación a la que estaba sometido el digestor antes del inicio del proceso de aumento de temperatura.

Para mantener el sistema homogeneizado se bombéaba el lodo en sentido descendente mediante una bomba mono helicoidal de velocidad regulable.

Procedimiento experimental

El desarrollo experimental del estudio abordado se puede desglosar en cinco etapas secuenciales en las que, o bien se mantiene el tiempo hidráulico de retención (THR), o bien se mantiene la temperatura. Los periodos se distribuyen según el siguiente esquema:

- * aumento de temperatura desde 35 a 43,5 °C, con THR de 27 días,
- * mantenimiento de la temperatura en 45 °C, con THR variable,
- * aumento de temperatura desde 45 a 50 °C, sin alimentación,
- * mantenimiento de la temperatura en el intervalo 50-52 °C, con THR variable, y
- * mantenimiento de la temperatura en 55 °C, con THR variable.

El estudio se llevó a cabo partiendo de un sistema que operaba de forma estable en la digestión anaerobia de lodos bajo condiciones mesofílicas de temperatura (de la Rubia et al, 2002). En el momento de inicio del ensayo el digestor presentaba los parámetros de funcionamiento que aparecen en la *tabla 2*. Tras su estabilización en condiciones mesofílicas (35 °C) se procedió a aumentar gradual y secuencialmente la temperatura del mismo hasta alcanzar 55 °C, óptimo en condiciones termofílicas de temperatura.

Para evaluar el proceso de biodegradación se analizaron los siguientes parámetros: sólidos totales (ST) y volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), y pH del influente y del efluente, así como los ácidos grasos volátiles (AGV), y la alcalinidad del efluente y el volumen y composición del biogas generado

Parámetro	Valor medio
Temperatura	34,5 °C
THR	27 días
Sólidos Totales (ST)	31,56 g/L
Sólidos Volátiles (SV)	15,31 g/L
Acidez volátil	675 mg ácido acético/L
Alcalinidad	12.700 mg Ca CO ₃ /L
pH	7,58

Tabla 2. Parámetros de funcionamiento del digestor previos al aumento de temperatura.

(CH₄ y CO₂). Las determinaciones de ST, SV, DQO, pH y alcalinidad se realizan de acuerdo con los métodos estandarizados (APHA, AWWA, WPCF 1992). La composición de biogas y AGV se analizan mediante cromatografía gaseosa.

La determinación de ácidos grasos volátiles se efectuó sobre muestras de efluentes. Se determinaron cuantitativamente las concentraciones de nueve ácidos grasos de cadena corta: ácido acético (Ach), ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido isovalérico, ácido valérico, ácido isocaproico, ácido caproico y ácido heptanoico. La técnica de análisis utilizada es la cromatografía gaseosa (de la Rubia, 2002).

Para la determinación de la composición de biogas (porcentajes de hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono y metano) se utilizó un cromatógrafo modelo SHIMADZU GC-14 B (de la Rubia, 2002).

Resultados y discusión

Tras la estabilización del sistema en condiciones mesofílicas (35 °C) se procedió a un aumento gradual de la temperatura según se recoge en la *figura 1*.

Durante el periodo en que se aumentó la temperatura desde 35 hasta 43,5 °C se aplicó un tiempo de retención de 27 días (similar al de la fase de estabilización); sin embargo, al alcanzar los 45 °C se disminuyó gradualmente la carga aplicada al sistema hasta eliminarla. Durante el aumento desde 45 hasta 50 °C se mantuvo la ausencia de alimentación, hasta alcanzar la fase de aumento de 50 hasta 55 °C en la que se volvió a aumentar la carga orgánica aplicada al reactor.

En la *tabla 3* se recogen los valores medios y finales de los parámetros más destacables de la biodegradación y operación del reactor durante los distintos periodos mencionados. Así, junto al periodo estudiado aparecen los valores medios y finales de la temperatura, del THR, la velocidad de carga orgánica alimentada y consumida VCO₀ y VCO_c y el porcentaje de eliminación de Sólidos Volátiles %SV_c, la producción de biogas, el pH, así como la acidez total y, finalmente, la relación acidez/alcalinidad.

Para realizar un estudio cuantitativo de la evolución del proceso se han considerado los valores medios de temperatura de cada uno de los periodos estudiados. En la *figuras 2 a 4* se representan, mediante histo-

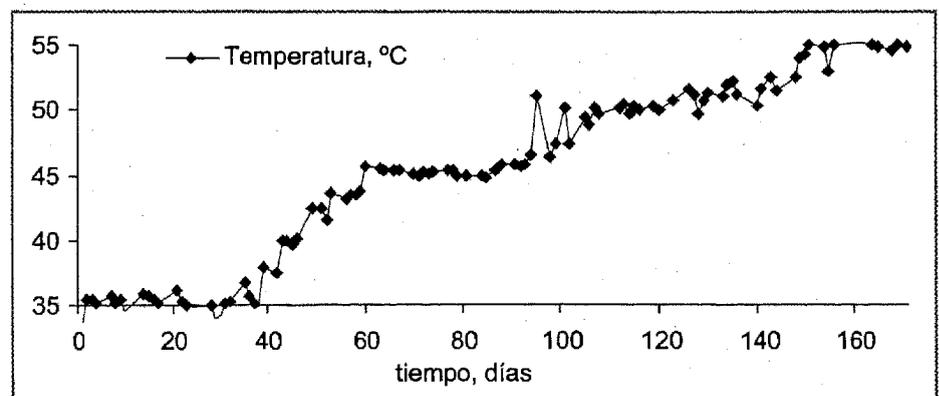


Figura 1. Evolución del aumento de temperatura desde condiciones mesofílicas hasta condiciones termofílicas de temperatura.

Período	valor	T °C	THR días	VCO ₀ gSV/L-d	VCO _c gSV/L-d	%SV _c	biogas L/Ldig.d	pH	Acidez total mg Ach/L	Relación acidez/alcalinidad
Operación a 35 °C	Valor medio	35,2	27	1,26	0,69	54,3	0,38	7,5	788	0,05
	Valor final	35,2	27	1,15	0,60	58,0	0,36	7,5	660	0,05
Aumento de 35 a 43,5 °C	Valor medio	41,4	27	1,30	0,75	56,57	0,11	7,5	2.483	0,23
	Valor final	43,7	27	1,17	0,58	49,24	0,12	7,2	4.812	0,46
Operación a 45 °C	Valor medio	45,3	92,5	1,06	0,57	54,64	0,06	7,3	5.823	0,46
	Valor final	45,8	150	-	-	-	0,07	7,7	5.850	0,46
Aumento de 45 a 50 °C	Valor medio	48,3	150	-	-	-	0,12	7,9	9.440	0,44
	Valor final	49,5	150	-	-	-	0,16	7,7	7.243	0,42
Operación a 50-52 °C	Valor medio	51,4	65,2	0,58	0,36	62,66	0,11	7,7	3.826	0,20
	Valor final	52,5	52	0,81	0,61	74,95	0,10	7,7	4.503	0,30
Operación a 55 °C	Valor medio	54,7	54,4	0,70	0,36	53,75	0,14	7,6	5.240	0,39
	Valor final	54,9	52	0,69	0,37	56,31	0,16	7,7	6.583	0,45

Tabla 3. Valores medios y finales de los parámetros más destacables de biodegradación y operación del reactor obtenidos en los distintos ensayos realizados.

gramas, los valores medios de los parámetros de interés obtenidos en cada periodo estudiado.

En cualquier caso, durante toda la experimentación desarrollada se mantiene un porcentaje de eliminación de sólidos volátiles aceptable, siempre superior al 50% aunque la carga orgánica alimentada varíe notablemente de unos periodos a otros.

Durante el primer periodo, es decir, durante la fase de aumento de temperatura desde 35 hasta 43,5 °C se comprueba una alta eficacia depurativa (eliminación de volátiles entre 50 y 60%). El au-

mento de temperatura provoca un desequilibrio del sistema, puesto que este parámetro de operación afecta a la actividad de las distintas poblaciones bacterianas implicadas en el proceso de digestión y, especialmente, a los microorganismos metanogénicos. Un parámetro representativo de esta distorsión es la concentración total de ácidos en el medio, que multiplica su valor por cinco en dos semanas. En esta situación, aunque se está produciendo un consumo considerable de sustrato, según revelan los valores de eficacia, no se está generando metano (además la produc-

ción de biogas es claramente decreciente). Esto se explica considerando que se produce un desfase entre el consumo de materia orgánica y la generación de producto final. Por tanto, se puede afirmar que el aumento de temperatura conlleva un desequilibrio metabólico entre las distintas familias bacterianas que constituyen la microbiota anaerobia, provocando una acumulación de ácidos en el medio y una disminución de la generación de biogas del sistema.

Al alcanzar los 45 °C de temperatura el sistema entra en crisis (Hobson & Wheatley, 1993). En este periodo se alcanzan los mayores valores de acidez y los más bajos caudales de biogas dado que nos encontramos a una temperatura crítica que no resulta favorable ni para los organismos mesofílicos ni para los termofílicos. El choque térmico provoca un aumento en la relación carga orgánica/actividad microbiana, pudiendo llegar a bloquear todas las etapas del proceso (Soto, 1993). Aún sigue existiendo una eliminación neta de sólidos volátiles, aunque realmente esta eliminación de materia orgánica es ficticia y, en realidad, se trata sólo de una dilución de alimentación (para poder afirmar que existe eliminación debe operarse un tiempo suficiente para alcanzar la estabilidad, lo que no ocurre en este caso).

La siguiente etapa de aumento de temperatura desde 45 a 50 °C requirió la ausencia total de alimentación en el sistema para conseguir que éste volviera a una situación de equilibrio. En estas condiciones se produjo una disminución notable de la acidez total y un aumento significativo en la producción de biogas, ya que, probablemente, se esté activando la población termofílica.

Tras superar los 50 °C, el digestor se vuelve a alimentar con velocidades de carga crecientes. En estas condiciones se observa una disminución del caudal de biogas al bajar el THR. Durante este periodo, la contribución de ácidos tales como el propiónico o el iso-valérico empieza a ser relevante

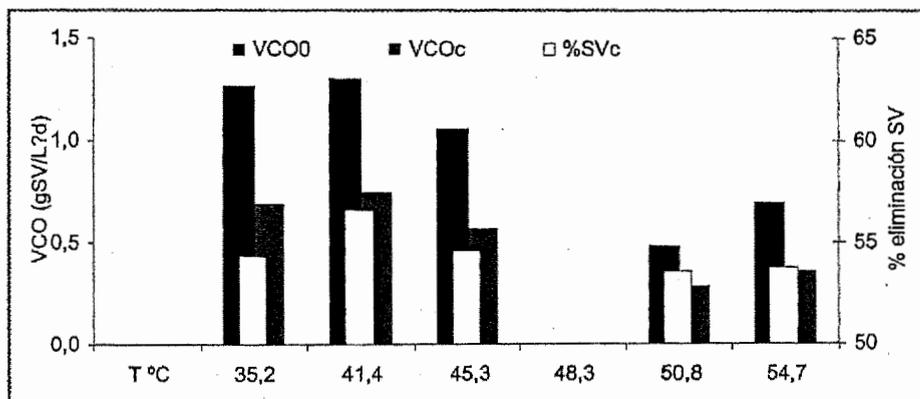


Figura 2. Evolución de la VCO₀, VCO_c y porcentaje de eliminación de sólidos volátiles con el aumento de temperatura.

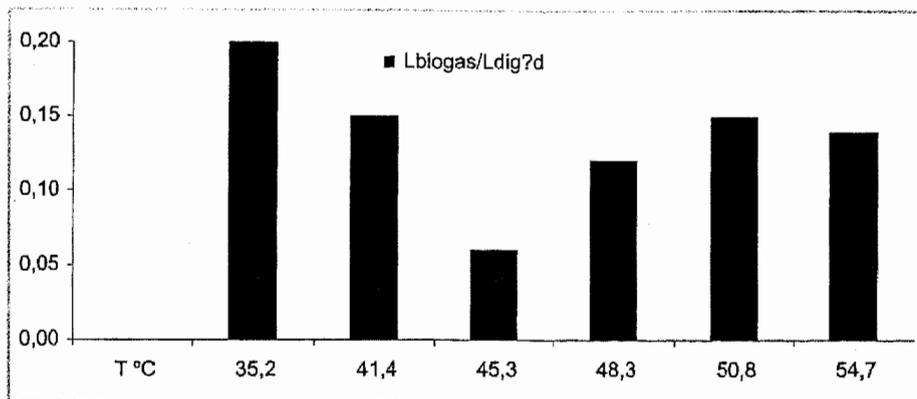


Figura 3. Evolución de la producción de biogas, expresado como Lbiogas/Ldíg·d, con el aumento de temperatura.

en el valor de acidez total del sistema, siendo ácidos de difícil degradación que pueden llegar a inhibir el proceso degradativo (Jia, 1999).

Al alcanzar los 55 °C el sistema sigue una evolución análoga a la observada en el periodo anterior. Así, se consigue una alta eliminación de sólidos volátiles con bajas producciones de biogas y unos altos valores de acidez total (no obstante, disminuye la concentración de propiónico). La alcalinidad del sistema sigue siendo baja con respecto a otros periodos y el valor del pH se mantiene constante gracias a la adición de sosa.

Así pues, el aumento de temperatura desde 35 hasta 55 °C (transformación de condiciones mesofílicas a termofílicas) implica:

- * Mantenimiento de la eficacia del sistema (eliminación de sólidos volátiles) en valores aceptables, si bien esta eliminación no supone una generación estequiométrica de biogas. El aumento de temperatura conlleva un desequilibrio metabólico entre las distintas familias bacterianas que constituyen la microbiota anaerobia, con la consiguiente acumulación de ácidos y disminución en la generación de biogas.
- * Aumento continuado de la acidez total del medio, excepto cuando se elimina la alimentación del reactor o cuando se superan los 45 °C de temperatura. No obstante, con el aumento de temperatura se incrementa la concentración de ácido propiónico, indicativo de

un cierto grado de inhibición del sistema.

- * El pH se ve fuertemente afectado por la concentración de ácidos en el medio alcanzando valores cercanos a 7. Esta "acidificación" se corrige fácilmente con la adición de pequeñas cantidades de hidróxido sódico 7N.
- * La temperatura de 45 °C resulta ser crítica para el proceso y el sistema presenta los más bajos rendimientos depurativos de todo el ensayo. El aumento de temperatura hasta los 50 °C supone una reactivación del proceso. Asimismo, se establece una clara relación entre el aumento de temperatura y la producción de biogas.

Por tanto, un digestor de lodos de depuradora de 150 litros, operando en condiciones mesofílicas de temperatura (35 °C), puede alcanzar un funcionamiento adecuado en rango termofílico (55 °C) en 135 días de operación, incrementando gradualmente la temperatura de operación y modificando el tiempo de retención del sistema adecuadamente.

Conclusiones

El protocolo propuesto para efectuar la transición de un digestor anaerobio de lodos desde condiciones mesofílicas hasta condiciones termofílicas de temperatura consiste en aumentar la temperatura según se recoge a continuación:

- * Aumentar la temperatura desde 35 hasta 43,5 °C de forma

gradual, en incrementos máximos de 2,5 °C y manteniendo la nueva temperatura durante, al menos, 4 días, operando con la misma velocidad de carga orgánica suministrada que para la operación en el óptimo mesofílico a 35 °C.

- * Elevar la temperatura directamente desde 43,5 °C hasta 50 °C, en ausencia de alimentación del sistema, hasta observar actividad degradativa en el mismo. Imponer y estabilizar el funcionamiento del sistema para la misma velocidad de carga orgánica del caso anterior.
- * Aumentar, nuevamente, la temperatura de operación en incrementos máximos de 2,5 °C, dejando que el sistema se estabilice tras cada nuevo cambio, hasta alcanzar los 55 °C, utilizando la misma velocidad de carga orgánica que en las etapas precedentes.

Los hechos más relevantes que se producen al modificar las condiciones de temperatura en el reactor son las siguientes:

- * La eficacia de eliminación de materia orgánica suele mantenerse constante durante el proceso de transición a condiciones termofílicas previamente mencionado pero, tras cada modificación de temperatura se observa una disminución de la cantidad de biogas y de metano producidos por gramo de materia orgánica consumida. Esto puede ser debido a la utilización de una mayor fracción de la materia orgánica en procesos anabólicos de síntesis celular.
- * Se observa una disminución del pH del medio que debe ser corregida, necesariamente, mediante la adición de un agente tamponador. Esta disminución del pH está acoplada con un aumento de la concentración de ácidos grasos volátiles, como consecuencia del desequilibrio entre las velocidades metabólicas de los distintos grupos bacterianos implicados en la degradación anaerobia de la materia orgánica.

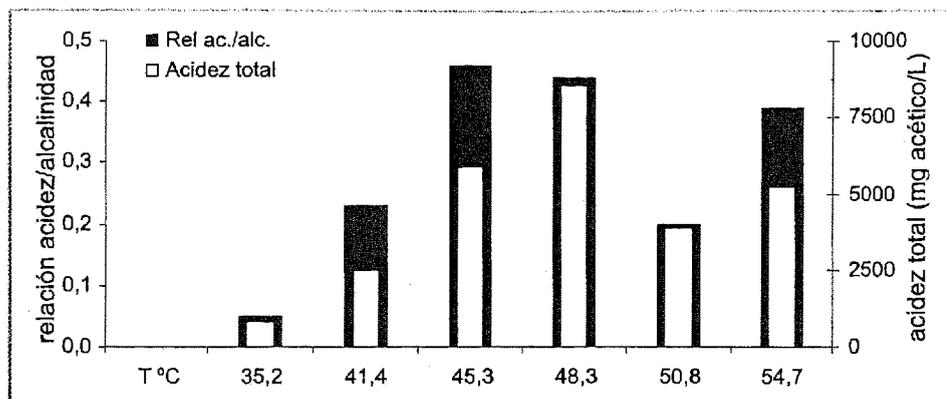


Figura 4. Evolución de la acidez volátil total, expresada como mg de ácido acético/L y de la relación acidez/alcalinidad, expresada como mg ácido acético/mg CaCO_3 .

Las concentraciones de los distintos ácidos grasos volátiles son muy superiores a las observadas en reactores mesofílicos estables, destacando los altos valores de la concentración de ácido propiónico.

Agradecimientos

El presente estudio forma parte del plan experimental del Proyecto de Investigación denominado "Implantación de la degradación anaerobia termofílica para el tratamiento de lodos de una depuradora urbana convencional (95-0208-OP)", financiado por la CICYT en una convocatoria de proyectos PETRI.

Los autores quieren agradecer a las empresas Aguas de Jerez Empresa Municipal S.A. y Prosein, su cooperación para el desarrollo de este trabajo en la Estación Depuradora de Aguas Residuales Guadalete de Jerez de la Frontera, Cádiz.

Referencias

Ahring, B. K. 1994. *Status on science and application of Thermophilic anaerobic digestion*. Wat. Sci. Tech. 30 (12) 241-249.

APHA, AWWA, WPCF. 1989. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Editorial Días De Santos, S.A. Edición en Español (1992).

de la Rubia, M. A. 2000. *Viabilidad técnica de la implantación de la digestión anaerobia termofílica de lodos de EDAR*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Cádiz.

de la Rubia, M. A.; Pérez, M.; Martínez, A.; Andrades, J. A.; Romero, L. I.; Sales, D. 2002. *Puesta en marcha y operación de un digestor anaerobio mesofílico de lodos*. Tecnología del Agua, 220:53-57

Fang, H. H. P.; Wai-Chung Chung, D. 1999. *Anaerobic treatment of proteinaceous wastewater under meso- and thermophilic conditions*. Wat. Sci. Tech. 40(1), 77-84.

Garber, W.; Ohara, G.; Colbauch, J.; Raksit, S. 1975. *Thermophilic digestion at the Hyperion Treatment Plant*. Journal WPCF, 47(5), 950-961.

García Morales, J. L. 1996. *Dinámica de colonización de la biopelícula bacteriana en reactores anaerobios termofílicos*. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz. ISBN: 84-7786-494-2.

Hobson, P. N. and Wheatley, A. D. 1993. *Anaerobic digestion. modern theory and practice*. Elsevier Applied Science, London, New York.

Jia, X. S. and Fang, H. H. P. 1999. *Substrate degradation of propionate-utilizing sludge*. Environ. Tech., 20 1103-1108.

Peddie, C. C.; Tailford, J.; Hoffman, D. 1996. *Thermophilic anaerobic sludge digestion-taking a new look at an old process*. Annual Residuals Biosolids Management Conference, 10th, 1/39-1/46. Water Environment Federation: Alexandria.

Pérez, M. 1995. *Utilización de biorreactores avanzados en la depuración anaerobia de vertidos residuales de alta carga orgánica*. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz. ISBN: 84-7786-293-1.

Rimkus, R.; Ryan, J.; Cook, E. 1982. *Full scale thermophilic digestion at the west-southwest sewage treatment works, Chicago, Illinois*. Journal WPCF, 54(11), 1447-1457.

Rintala, J. A. and Lepisto, S. S. 1997. *Pilot-scale thermophilic anaerobic treatment of wastewaters from seasonal vegetable processing industry*. Wat. Sci. Tech. 36(2-3) 279-85.

Smart, J.; Boyko, B. I. 1978. *Full scale studies on the thermophilic anaerobic process*. Research program for the abatement of municipal pollution under the provisions of the Canada-Ontario. Project nº 73-129.

Solera del Río, R. 1999. *Cuantificación de los microorganismos responsables de la degradación anaerobia. Aplicación al análisis del funcionamiento de reactores anaerobios*. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz. ISBN: 84-7786-579-5

Soto, M.; Méndez, R.; Lema, J.M. 1993. *Operación y control de digestores anaerobios*. V Seminario de depuración anaerobia de aguas residuales, Valladolid.

Van Lier, J.; Hulsbeek J.; Stams, A.; Lettinga, G. 1993. *Temperature susceptibility of thermophilic methanogenic sludge: implications for reactor start-up and operation*. Biores. Tech. 43, 227-235.

Vázquez Borges, E.; Mejía Sánchez, G. M. 1996. *Producción de fangos en la depuración anaerobia*. Tecnología del Agua. 148 137-141.

Verstraete, W.; Vandeviver, P. 1999. *New and broader applications of anaerobic digestion*. Crit. Rev. Environ. Technol, 29 151-73.

Zabranska J.; Dohanyis M.; Jenicek P.; Kutil J. 2000. *Thermophilic process and enhancement of excess activated sludge degradability two ways of intensification of sludge treatment in Prague central wastewater treatment plant*. Wat. Sci. Technol. 41 (9), 265-272.