

## FORMACIÓN DE GRÁNULOS ANAEROBIOS SIN LODOS INOCULADOS EN UN REACTOR DE BIOPELÍCULA ANAEROBIA TIPO INTERCAMBIADOR DE CALOR (RBAIC)

## ANAEROBIC GRANULE FORMATION WITHOUT SEED SLUDGE IN A HEAT EXCHANGER TYPE ANAEROBIC BIOFILM REACTOR (HEABR)

Ramiro Escalera Vásquez Centro de Investigaciones en Procesos Industriales - CIPI Universidad Privada Boliviana recalera@upb.edu (Recibido el 29 de octubre 2012, aceptado para publicación el 21 de diciembre 2012)

## RESUMEN

Se ha estudiado experimentalmente el fenómeno de la formación de gránulos anaerobios en la puesta en marcha de un Reactor de Biopelícula Anaerobia Tipo Intercambiador de Calor (RBAIC), utilizado en el tratamiento de aguas residuales provenientes de una planta de procesamiento de melazas de baja concentración, 0,45 g-C L<sup>-1</sup>. El reactor fue operado en modo de flujo ascendente de un solo paso a bajas temperaturas promedio del líquido (15° C a 25° C) y tiempos de retención hidráulica (TRH) de 16 h y 6,1 h. La granulación puede proceder sin la inoculación de grandes cantidades iniciales de lodo biológico anaerobio. La granulación es posible aún con concentraciones iniciales muy pequeñas de microorganismos, siempre y cuando los mismos estén bien aclimatados al tipo de agua residual y las condiciones ambientales. Es posible tratar tasas de carga orgánica volumétrica entre 1,8 y 3,3 g-DQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> a temperaturas promedio menores a 25° C con concentraciones de biomasa tan pequeñas como 2 g-SSV L<sup>-1</sup>. En un RBAIC, se pueden formar gránulos de 0,5 – 2 mm de diámetro en tres meses a temperaturas promedio menores a 25° C.

## ABSTRACT

The anaerobic granule formation occurring during the start-up of a Heat Exchanger type Anaerobic Biofilm Reactor (HEABR) was experimentally studied. The reactor was utilized in the treatment of low concentration molasses wastewater, 0.45 g-C L<sup>-1</sup>, at low liquid bulk mean temperatures (15° C a 25° C), under one-pass upflow mode and hydraulic retention times (HRT) of 16 h and 6.1 h. Granule formation can occur without using initial large amounts of seed anaerobic sludge, provided that the microorganisms are well adapted to the type of wastewater and environmental conditions. Effective wastewater treatment was feasible at volumetric loading rates of 1.8 y 3.3 g-COD L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, average temperatures below 25° C and biomass concentrations as low as 2 g-VSS L<sup>-1</sup>. Granules of 0.5 – 2 mm diameter can be formed within three months at mean temperatures below 25° C.

**Palabras Clave:** Reactor de Biopelícula Anaerobia, Granulación, Tratamiento de Aguas Residuales de Melazas. **Keywords:** Anaerobic Biofilm Reactor, Granulation, Molasses Wastewater Treatment.

## 1. INTRODUCCIÓN

En anteriores estudios relacionados con un Reactor de Biopelícula Anaerobia Tipo Intercambiador de Calor (RBAIC) [1] observaron que, en las condiciones experimentales de baja velocidad lineal ascendente, la contribución de la biopelícula al desempeño del RBAIC se halla severamente limitada por la resistencia difusional de la capa laminar líquida a la transferencia de masa de los substratos limitantes y que, los buenos porcentajes de remoción logrados, se debían a la existencia de una suspensión de microorganismos acidogénicos y metanogénicos en la parte baja del reactor, los cuales degradan los contaminantes orgánicos hasta metano y dióxido de carbono.

Se ha reportado que en filtros anaerobios de flujo ascendente, cerca del 50% de los microorganismos retenidos en el reactor no se encuentran adheridos a la superficie de los soporte sólidos, sino que permanecen atrapados en los intersticios del filtro [2]. Young y McCarty [3], ya en 1967, observaron la formación de gránulos en lechos empacados anaerobios. En 1971, Lettinga [4] también observó que la degradación de compuestos orgánicos contenidos en aguas residuales de procesamiento de azúcar de remolacha, llevada a cabo en lechos empacados de flujo ascendente, se debía principalmente a la existencia de gránulos atrapados en los espacios intersticiales de la parte baja del reactor.

Harada [5] concluye que la formación de gránulos anaerobios sucede preferentemente bajo las siguientes condiciones:

- Velocidades ascendentes menores a 1 m/h
- Temperaturas de 37° C
- Valores de pH próximos a 7
- Aguas residuales fácilmente biodegradables (residuos industriales con alto contenido de carbohidratos)

- Bajas concentraciones de ácidos grasos volátiles, AGV, (menores a 100 mg-C L<sup>-1</sup>)
- Lodo inoculado denso

En los casos en los que el RBAIC se opera bajo condiciones de flujo ascendente apropiadas para la formación de gránulos, es posible que los microorganismos de la suspensión de microorganismos observada en la parte baja del reactor podría auto-aglomerarse si el reactor funciona durante tiempos prolongados En estos casos, el RBAIC (y otro tipo de reactores de película fija) se convierte en un sistema híbrido.

En este estudio experimental, se observa la formación espontánea de gránulos anaerobios, sin la inoculación de grandes cantidades de lodo semilla, dentro de un RBAIC, con el objeto de obtener datos experimentales útiles para el desarrollo de modelos de reactor que pueden utilizarse en el diseño y evaluación de desempeño de este tipo de reactores.

## 2. MÉTODOS EXPERIMENTALES

• Aparato experimental: El aparato experimental se presenta en la Figura 1.



Figura 1 - Esquema del reactor anaerobio de biopelícula tipo intercambiador de calor (RBAIC).

El reactor consiste en dos conductos de agua caliente (2,5 cm de ancho, 60 cm de alto y 20 cm de profundidad) separados a una distancia de 6 cm, que forman un canal de agua fría. Láminas de carbón poroso se adhirieron a las paredes de acero inoxidable para obtener una mejor adherencia microbiana inicial y un mejor crecimiento de la biopelícula, como sugieren Sakakibara *et al.* [6]. Se instalaron puntos de muestreo en el eje central del canal de agua fría, cada 10 cm desde el fondo. Los tubos de muestreo penetraron aproximadamente 5 cm en el canal. Para medir los perfiles de temperatura, se instalaron otros puntos de medición, tal como se observa en la figura. El fondo del reactor fue enfriado mediante un baño de agua fría mantenido a las temperaturas deseadas. Las soluciones de substrato y

nutrientes inorgánicos se enfriaron y mezclaron antes de la alimentación usando una bomba peristáltica. El pH se controló mediante la adición de una solución de NaHCO<sub>3</sub> hasta llevar la alimentación hasta un pH de 10,0.

## Puesta en marcha y formación de la biopelícula

El reactor fue inoculado con lodo obtenido de un reactor anaerobio de lecho empacado que trata aguas residuales de procesamiento de almidones de trigo, obteniéndose una concentración inicial 3500 mgL<sup>-1</sup> de sólidos suspendidos volátiles (SSV). El lodo fue recirculado sin la adición de sustrato por tres días, después de los cuales la concentración de lodo en la suspensión se redujo hasta 1000 mg-SSV L<sup>-1</sup>. Esto significa que cerca de 2/3 del lodo inicial se adhirió a las paredes de carbón de las placas paralelas.

Después de esta adherencia inicial, el reactor se operó en forma continua por 39 días, con la adición de aguas residuales de melazas, en las concentraciones citadas en la Tabla 1, recirculando la suspensión a 4,0 Lmin<sup>-1</sup>. El lodo remanente en la suspensión fue removido con el efluente en tres días, aproximadamente. Sin embargo, los microorganismos inmovilizados en la biopelícula fueron suficientemente capaces de tratar el agua residual, obteniéndose eficacias de remoción mayores al 90%.

Día	1 - 9	10 - 15	16 - 39
<ul> <li>Concentración de alimentación, (mg-C L<sup>-1</sup>)</li> </ul>	0,5	0,5	0,5
• TRH, (h)	38	24	16
<ul> <li>Carga orgánica, (g-C L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)</li> </ul>	0,31	0,5	0,75
<ul> <li>Eficacia de remoción, (-)</li> </ul>	0,94	0,93	0,94
<ul> <li>Concentración de biomasa en líquido recirculante, (g-C L<sup>-1</sup>)</li> </ul>	0,118	0,128	0,139

TABLA 1-DESEMPEÑO DEL RBAIC DURANTE LA PUESTA EN MARCHA

En el día 39 (que se denominará día 0, de aquí en adelante), se cortó la recirculación de la suspensión y se operó el reactor en modo de flujo ascendente de un solo paso. La concentración de melazas en la alimentación se mantuvo en  $0,45 \text{ g-C L}^{-1}$  y el tiempo de residencia hidráulica se varió desde 16 h hasta 6 h. la temperatura de entrada se mantuvo en 5° C y la temperatura de las paredes en 37° C, durante todo el estudio. La composición y concentración de la solución de sustrato y de la solución de nutrientes se muestran en la Tabla 2. Estas concentraciones fueron seleccionadas de acuerdo con lo recomendado por Speece [7] y Okada y Okubo [8].

# TABLA 2 - COMPOSICIÓN Y CONCENTRACIONES DE SUSTRATO, NUTRIENTES YMICRONUTRIENTES INORGÁNICOS EN LA ALIMENTACIÓN

Nutriente	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	
(a) Sustrato y buffer		
Agua residual de melazas (86% azúcares)	1 510	
NaHCO <sub>3</sub>	2 600	
(b) Nutrientes inorgánicos y trazas de metales	5	
$(NH_4)_2CO_3$	350	
$KH_2PO_4$	90	
$CaCl_2$	135	
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	11	
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,5	
ZnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,1	
HBO <sub>3</sub>	0,1	
$CuSO_4.5H_2O$	0,05	
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0,012	
NiSO <sub>4</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,026	

Se extrajeron muestras de la salida del reactor y de los puntos de muestreo en forma periódica. Se efectuaron mediciones de carbono orgánico total (COT), ácidos grasos volátiles (AGV), velocidad de producción de biogas, contenido de metano y la concentración de biomasa (como COT y SSV). Las muestras destinadas a la concentración de biomasa como SSV, fueron previamente disgregadas con ultrasonido y se analizaron alícuotas de estas muestras, de acuerdo con las normas estandarizadas japonesas (JIS). Las muestras para determinación de la biomasa como COT se dividieron en dos. Una muestra se analizó directamente sin ningún tratamiento y la otra fue centrifugada para quitar los

sólidos suspendidos antes de analizar el COT. La diferencia en la concentración de COT se consideró como la concentración de biomasa.

Las concentraciones de COT y la composición del gas se analizaron usando cromatografía de gases con detector de termo-conductividad, la concentración de los AGV usando un cromatógrafo de gases con generación de vapor y detector de ionización de llama (FID). Las eficiencias de remoción de DQO o COT se calcularon mediante la diferencia entre la concentración de COT del afluente y el efluente medido en la muestra de salida centrifugada; es decir, no se consideró la concentración de biomasa en el efluente.

La Figura 2 muestra la comparación entre las concentraciones de carbono contenido en la biomasa que fueron obtenidas experimentalmente como SSV y los valores calculados con la fórmula empírica  $C_5H_7NO_2$  [7], la cual arroja un contenido de 53,1% de carbono en peso. Se observa que existe una muy buena concordancia entre los valores experimentales y los calculados, lo cual implica que las concentraciones de biomasa pueden también expresarse como COT, *i.e.* las concentraciones de SSV se pueden calcular con exactitud a partir de las concentraciones de COT.



#### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 3 muestra el desempeño del reactor durante todo el periodo de experimentación en condiciones de flujo ascendente de un solo paso.



#### **ESCALERA**

Las concentraciones de AGV (las cuales fueron aproximadamente iguales a las concentraciones de COT), las eficacias de remoción de COT, las velocidades de producción de metano y las tasas de carga orgánica volumétrica se describen en la figura. Se observa que existe una ligera disminución de las eficacias de remoción cuando las tasas de carga aumentan (debido a la disminución de los tiempos de retención hidráulica, TRH). Si el reactor estuviera en estado estable y se mantuviera una concentración de biomasa constante, las eficacias de remoción deberían disminuir en mayor grado. Sin embargo, la biomasa existente en la suspensión no sufrió una remoción con el efluente y permaneció en la parte baja del reactor. Más aun, su concentración se incrementó, permitiendo mayores eficacias de remoción.

Los perfiles de concentración de AGV a lo largo del bioreactor, bajo diferentes tiempos de retención hidráulicos se muestran en la Figura 4. La descomposición consecutiva del sustrato y de los AGV ocurre principalmente en la parte baja del reactor y las concentraciones de los ácidos permanecen casi constantes a lo largo de la parte superior. La altura encima de la cual tales composiciones permanecen constantes se incrementa al disminuir los TRH, como se espera.



Figura 4 - Perfiles de concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en función de la altura en el reactor, para diferentes periodos de tiempo.

La Figura 5 muestra las concentraciones de biomasa medida como COT a diferentes alturas del reactor bajo diferentes TRH. No se observaron concentraciones significativas de biomasa por debajo del nivel de 3 cm hasta el día 60 indicando que el lecho de lodos estaba por debajo de este nivel a TRH de 15,6 y 12,8 h. En el día 60 (TRH = 8,9 h), pequeñas cantidades de biomasa (cerca de 1140 mg-SSV L<sup>-1</sup>) se detectaron a los niveles de 3 y 10 cm en la forma de pequeños gránulos y de ahí en adelante, las concentraciones de biomasa se incrementaron desde el día 60 hasta el día 90 incluso en el nivel de 10 cm, indicando que la altura del lecho de lodos se encontraba en algún valor entre 10 y 20 cm. En el día 109, bajo un TRH de 6,1 h, se midieron las concentraciones de biomasa cerca de 24 000 mg-SSV L<sup>-1</sup> entre las alturas de 10 y 20 cm.

Se debe notar que se determinaron concentraciones de AGV relativamente altas en los niveles en los que se encontraba el lecho y que estas concentraciones caían drásticamente en los niveles en los que no se detectaron concentraciones

#### FORMACIÓN DE GRÁNULOS ANAEROBIOS...

significativas de biomasa. Esto significa que los microorganismos metanogénicos crecieron en la parte alta del lecho granular (zona de concentraciones menores de biomasa). A primera vista, se podrían esperar concentraciones más pequeñas de AGV en el lecho granular, debido a las altas concentraciones de biomasa. Sin embargo, es también claro que tales concentraciones de partículas granulares reducen los TRH reales en el lecho. Por otra parte, las temperaturas en la parte baja del reactor son menores (15 - 25° C, Figura 6) disminuyen las velocidades de reacción de los microorganismos metanogénicos y heteroacetotróficos, causando mayores concentraciones de AGV.



Para verificar experimentalmente, la formación de gránulos anaerobios a partir de los microflóculos iniciales en el lecho de sólidos, muestras extraídas desde el fondo del reactor (a temperaturas de 4-6° C) en los días 15, 31, 39,60 y 94, se fotografiaron como se muestra en la Figura 7. Se observa que las partículas de biomasa desarrollaron en gránulos de 0,5 – 2 mm en el transcurso de 3 meses a temperaturas promedio menores a  $25^{\circ}$  C.

Las Figuras 8 y 9 muestran una comparación entre una los resultados obtenidos en este estudio y una evolución temporal típica de las concentraciones de biomasa y las velocidades de carga orgánica que ocurre en un reactor de mantos de lodos de flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés). De acuerdo con Harada [5], Figura 8, el periodo de puesta en marcha en un reactor UASB puede dividirse en tres fases. En la primera (cargas orgánicas < 2g-DQOL<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), el lecho de lodo se expande debido al flujo ascendente y la producción de gas, y los microorganismos dispersos contenidos en el lodo inoculado se decantan junto con el efluente. En la segunda fase (cargas orgánicas 2 – 5 g-DQOL<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), cuando se incrementa la carga orgánica y la velocidad de flujo ascendente (causando un incremento en la producción de gas), la selección de la composición del lodo procede progresivamente: los flóculos livianos se decantan y sólo los pesados permanecen dentro del lecho, causando una disminución en la concentración global de biomasa. En este periodo, la relación de masa de DQO sobre la masa de biomasa, llamada carga de lodo, se incrementa hasta 0,5 – 1

#### **ESCALERA**

g-DQO/(g-SSV-d) y el crecimiento bacteriano se concentra en las partículas pesadas. Finalmente, en la tercera fase, la velocidad de crecimiento de la biomasa excede la velocidad de lavado, las partículas de buena sedimentabilidad se acumulan en el lecho de lodo y, consecuentemente, la concentración de biomasa empieza a incrementarse, soportando mayores cargas orgánicas volumétricas (> 5 g-DQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>).



Figura 7 - Fotografías mostrando la granulación gradual (muestras extraídas en el fondo del reactor).



Figura 8 - Concentraciones de biomasa en un periodo típico de puesta en marcha en reactores UASB [5].

En este experimento, Figura 9, no se introdujo inóculo, y el lecho de lodo inicial existente en el fondo del reactor se originó en la sedimentación de los microorganismos existentes en el líquido recirculante y probablemente algo de los microorganismos metanogénicos provenientes de la disrupción de la biopelícula ocurrida en el cambio brusco de las

#### FORMACIÓN DE GRÁNULOS ANAEROBIOS...

velocidades de flujo ascendente. Como se muestra en la figura, en el primer periodo de 60 días, las muy pequeñas concentraciones globales de biomasa pudieron soportar cargas orgánicas de 1,9-3,3 g-DQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (cargas de lodo cercanas a7 g-DQO/g-SSV-d, que son 10 veces más altas que las observadas en reactores UASB). La razón de la diferencia podría ser que las bacterias en el RBAIC estuvieron muy bien adaptadas a las condiciones ambientales y el tipo de agua residual. Después del día 60, la concentración de la biomasa empezó a crecer progresivamente, debido al lavado mínimo de los microorganismos que ya estaban aglomerados en forma de gránulos. Este incremento prosiguió hasta el final del experimento (día 120). Concordantemente, las cargas de lodo disminuyeron a 0,6 g-DQO/g-SSV-d, que es similar a los valores normales observados en reactores UASB de escala industrial [5]. La razón para el lavado mínimo de microorganismos durante el transcurso del experimento es que el reactor se operó con velocidades muy pequeñas de flujo ascendente, que combinadas con el efecto de flotación del gas producido no fueron suficientes para sobrepasar las velocidades de sedimentación de las partículas de biomasa cada vez más grandes.



Entre los factores que son importantes para la granulación de lodos anaerobios, Harada[5] menciona los siguientes: las características del agua residual (concentración, composición, sólidos suspendidos, contenido de grasas, entre otros), las características del lodo (liviano o denso), la carga de lodos, las condiciones de operación y las condiciones ambientales (pH, temperatura, y trazas de minerales). Es decir, como concluyen Dolfing J.,*et al.* [9], es necesario mantener condiciones ambientales y operacionales apropiadas (bajas concentraciones de AGV) para favorecer el crecimiento de los microorganismos anaerobios, especialmente las bacterias metanogénicas acetotróficas (*Methanosaeta spp.* y *Methanosarcina spp.*) y las bacterias metanogénicas litotróficas que utilizan hidrógeno y dióxido de carbono, mencionadas por Dudley B.T., *et al.* [10] (*e.g. Methanobacterium ruminantium, Methanobacterium formicium y Methanobrevibacter spp.*). Por otra parte, Guiot S. R., *et al.* [11] han reportado que la concentración de polímeros extracelulares (PEC) en los gránulos, es importante para la estructura y el mantenimiento de los gránulos.

En este experimento, no se utilizó lodo para el inóculo, las cargas de lodo fueron 10 veces los valores conocidos para reactores UASB y, más aún, las temperaturas promedio fueron mucho más bajas que 37°C. Sin embargo, las condiciones operacionales y ambientales (un sustrato fácilmente biodegradable, concentraciones de minerales adecuadas, bajas velocidades de flujo ascendente, valores de pH entre 6,7 a 7,0; concentraciones de AGV menores a 100 mg-C L<sup>-1</sup>) fueron suficientemente apropiadas para mantener y favorecer el crecimiento de los citados microorganismos metanogénicos en los gránulos. Más aún, se observó una buena producción de PEC, de estructura gomosa (probablemente por la presencia importantes cantidades de azúcares neutros como la glucosa, ramnosa y manosa entre otros [9]) que contienen enzimas que hidrolizan los carbohidratos presentes en las melazas, juntamente con las partículas bacterianas en la parte baja del reactor, aspecto que favorece la formación y mantenimiento de los gránulos.

## 4. CONCLUSIONES

El fenómeno de formación espontánea de gránulos, que ocurre en un reactor de biopelícula anaerobia tipo intercambiador de calor (RBAIC), fue estudiado experimentalmente usando aguas residuales fácilmente biodegradables de baja concentración. Se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- La granulación puede proceder sin la inoculación de grandes cantidades iniciales de lodo biológico anaerobio. La
  granulación es posible aún con concentraciones iniciales muy pequeñas de microorganismos, siempre y cuando los
  mismos estén bien aclimatados al tipo de agua residual y las condiciones ambientales.
- Es posible tratar tasas de carga orgánica volumétrica entre 1,8 y 3,3 g-DQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> a temperaturas promedio menores a 25° C con concentraciones de biomasa tan pequeñas como 2 g-SSV L<sup>-1</sup>.
- En un RBAIC, se pueden formar gránulos de 0,5 2 mm de diámetro en tres meses a temperaturas promedio menores a 25° C.

# 5. REFERENCIAS

- [1] C. R. Escalera and S. Uchida. "The performance of a heat exchanger-type anaerobic biofilm reactor," in *Water Science & Technology*, vol. 24, no. 5, 1991, pp. 149-161.
- [2] I. J. Callander and J. P. Barford. "Recent advances in anaerobic digestion technology," in *Process Biochemistry*, vol. 18, 1983, p. 24
- [3] J. C. Young and P. L. McCarty. "The anaerobic filter for wastewater treatment," in *Proceedings of Purdue Industrial Waste Conference*, vol. 22, 1967, p. 559.
- [4] G. Lettinga et al. "Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment," in *Biotechnology and Bioengineering*, vol.22, 1980, p. 699.
- [5] H. Harada. "Trends and problems of wastewater treatment technology based on self-immobilization processes." *Journal of Water and Waste*, vol. 31, no. 1, 1989, p. 12. (En japonés)
- [6] Y. Sakakibara et al. "Analysis of acetate removal rates in methanogen attached biofilm reactors." *Doboku Gakkai Ronbunshi*, vol.375 (II-6), 1986, pp. 311-318. (En japonés)
- [7] R. E. Speece. "Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment." *Environmental Science and Technology*, vol. 17, 1983, p. 416A.
- [8] M. Okada and T. Okubo. "Effect of substrate on the purification characteristics of self-immobilization processes." *Journal of Water and Waste*, vol.31, no.1, 1989, p. 12. (En japonés)
- [9] J. Dolfing et al. "Chemical and bacteriological composition of granular methanogenic sludge." *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 31, 1985, pp.744-750. En J. E. Schmidt and B. K. Ahring. Review: Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 49, 1996, pp. 229-246.
- [10] B.T. Dudley et al. "Image analysis to quantify and measure UASB digester granules." *Biomass Bioenergy*, vol. 42, 1993, pp.279 283.En J. E. Schmidt and B. K. Ahring. Review: Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 49, 1996, pp. 229-246.
- [11] S. R. Guiot et al. "Extracellular polymeric substances in anaerobic granules," in Sixth international Symposium on Anaerobic Digestion (Poster papers. IAWPRC Sao Paulo, Brazil, 1991), p.12. En J. E. Schmidt and B. K. Ahring. Review: Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. Biotechnology and Bioengineering, vol. 49, 1996, pp. 229-246.