

Estudio cinético de la digestión anaerobia de alpechín, procedente de la extracción de aceite utilizando olivex, previamente biotratado con *Geotrichum Candidum*.

Por R. Borja Padilla¹, J. Alba Mendoza¹ y A. González Becerra²

¹ Instituto de la Grasa y sus Derivados (C.S.I.C.)

Avda. Padre García Tejero, 4 - 41012 Sevilla

² Centro de Investigaciones Biológicas (C.S.I.C.)

Velázquez, 144 - 28006 Madrid

RESUMEN

Estudio cinético de la digestión anaerobia de alpechín, procedente de la extracción de aceite utilizando olivex, previamente biotratado con *Geotrichum Candidum*

Se ha efectuado un estudio cinético del proceso de digestión anaerobia de un alpechín obtenido con el coadyuvante tecnológico "Olivex" en comparación con un testigo obtenido sin este enzima, que previamente han sido tratados de forma aerobia con *Geotrichum candidum* para eliminar la mayor parte de los compuestos fenólicos responsables de su poder inhibitorio. El proceso anaerobio se ha realizado en biorreactores con microorganismos inmovilizados en dos soportes micronizados arcillosos, Sepiolita y Bentonita.

Admitiendo que globalmente el proceso de digestión anaerobia sigue una cinética de primer orden, se obtienen las constantes específicas de velocidad, K_0 , para cada caso estudiado usando la ecuación de Roediger. A diferencia de lo que ocurre con ambos alpechines sin pretratar, la constante cinética se mantiene prácticamente constante al aumentar la concentración de sustrato, dentro del intervalo DQO (demanda química de oxígeno) estudiado, no apreciándose fenómenos de inhibición. El valor medio de este parámetro cinético para el alpechín obtenido con Olivex es más del 40% superior que el correspondiente al alpechín testigo en los dos digestores utilizados. El soporte Sepiolita favorece la cinética y aumenta el coeficiente de rendimiento respecto a la Bentonita.

PALABRAS-CLAVE: Alpechín - Cinética - Digestión anaerobia - *Geotrichum candidum* - Olivex - Pretratamiento aerobio.

SUMMARY

Kinetic study of the anaerobic digestion of olive mill wastewater, from the oil extraction using olivex, previously biotreated with *Geotrichum candidum*

A kinetic study of the anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMW) which was obtained with the technological helper "Olivex", was carried out. An identical wastewater, obtained without this enzyme was also used. Both OMW were pre-treated aerobically with *Geotrichum candidum* to eliminate the greater part of the phenolic compounds responsible for inhibition. The anaerobic process was carried out in bioreactors with microorganisms immobilized on two micronized clay supports, Sepiolite and Bentonite.

Assuming that the overall anaerobic digestion process conforms to a first-order kinetic, specific rate constants, K_0 , were obtained by using the Roediger's equation in each case. In contrast to what takes place with both OMW without pretreatment, kinetic constant was observed virtually constant when the substrate concentration was increased, in the range of COD (chemical oxygen demand) studied. The mean value of this kinetic parameter was a 40% larger for the OMW obtained with Olivex compared to the reference OMW, in the two digesters used. Sepiolite favoured the kinetic and increased the yield coefficient compared to Bentonite.

KEY-WORDS: Aerobically pretreatment - Anaerobic digestion - *Geotrichum candidum* - Kinetics - Olive mill wastewater - Olivex.

1. INTRODUCCION

Las aceitunas que dan lugar a los aceites de oliva vírgenes de calidad, se obtienen generalmente a lo largo de las dos primeras épocas de recolección de la campaña y siempre que el tiempo transcurrido antes de su elaboración no sea excesivo (Camera, 1978 y Montedoro, 1984).

Estas aceitunas suelen presentar dificultades de comportamiento en el proceso de elaboración, dando lugar a "pastas fluentes" debido generalmente a la formación de emulsiones, a la presencia de sólidos finos y a la falta de textura que dificulta su operatividad (Alba, 1982).

Recientemente se han efectuado estudios encaminados a mejorar la tecnología de las aceitunas productoras de pastas fluentes, con el fin de optimizar los procesos de elaboración y obtener un aumento del rendimiento en aceite y de la calidad del mismo. De esta forma, se ha puesto de manifiesto el efecto que se consigue con la utilización de coadyuvantes tecnológicos en elaiotecnia (Montedoro, 1987; Alba, 1987a; Alba, 1987b; Alba, 1987c; Giovacchino, 1991). Entre los distintos coadyuvantes, la formulación enzimática "Olivex" es de los más utilizados.

Sin embargo, la utilización de coadyuvantes da lugar a alpechines con un mayor contenido en materia orgánica en general y por tanto con una mayor proporción en compuestos fenólicos, que se caracterizan por su marcado efecto antibacteriano, siendo los responsables de su poder inhibitorio y de sus dificultades de cara a la depuración. Experimentos recientes (Borja, 1991) revelan que un alpechín obtenido en presencia del coadyuvante Olivex da lugar a un retardo considerable en la cinética de depuración anaerobia respecto a uno testigo obtenido sin este enzima, llegando incluso a disminuir el coeficiente de rendimiento de producción de metano con respecto al de referencia. Por todo ello, es de gran interés la aplicación de un tratamiento previo al proceso anaerobio, con el que se consiga eliminar la mayor parte de los compuestos fenólicos existentes en este tipo de alpechines, para de esta manera acelerar el proceso de depuración anaerobia y mejorar el rendimiento y la eficiencia de eliminación de materia orgánica.

El objetivo de este trabajo es el estudio cinético del proceso de depuración anaerobia de un alpechín, obtenido con el coadyuvante Olivex, respecto a uno testigo o de referencia, que previamente se han sometido a un proceso aerobio con *Geotrichum candidum* para eliminar la mayor parte de sus compuestos fenólicos. El proceso de degradación anaerobia se realiza utilizando dos soportes arcillosos de diferentes características para la inmovilización de los microorganismos responsables del mismo; de esta manera, se estudia la influencia del soporte sobre las constantes biocinéticas del proceso.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Productos

Las aceitunas utilizadas en los ensayos fueron de la variedad "Carrasqueña" procedentes del Valle del Jerte (Cáceres) con índice de maduración de 4,2 (Frias, 1975). Su humedad y riqueza grasa fueron 48,3% y 17,2% respectivamente.

Como coadyuvante tecnológico se empleó la formulación enzimática denominada comercialmente "Olivex", autorizada por el Ministerio de Sanidad y Consumo en el B.O.E. n.º 301, del 16 de diciembre de 1989, de la firma Novo Nordisk, S.A.

Los ensayos se realizaron con unas dosis de 200 g/t de "Olivex" diluidos en 8 litros de agua a temperatura ambiente (18-20°C), agregándose esta solución durante el batido por medio de una bomba dosificadora, en función del caudal de trabajo de la planta.

También se obtuvo un alpechín "testigo" (sin coadyuvante), con un lote idéntico de aceitunas de la misma variedad.

Las características del alpechín obtenido con el coadyuvante "Olivex" y del testigo se resumen en la Tabla I.

Tabla I
Características del alpechín obtenido con Olivex y del testigo obtenido sin coadyuvante

	Con "Olivex"	Testigo
pH	4,7	4,8
Demanda Química de Oxígeno (g/l)	80	70
Acidez Volátil (mg/l)	550	300
Fenoles Totales (ac. cafeico, mg/ml)	1,705	1,480
Orto-difenoles (ac. cafeico, mg/ml)	0,165	0,135
Azúcares totales (%)	5,1	2,4
Nitrógeno total (%)	2,3	1,6
Sólidos Suspensión Totales (g/l)	49,1	40,9
Sólidos Suspensión Minerales (g/l)	4,0	2,6
Sólidos Suspensión Volátiles (g/l)	45,1	38,3

2.2. Equipos

a) Planta Industrial

Las operaciones de extracción se realizaron en la Almazara Experimental del Instituto de la Grasa, con una

planta continua de centrifugación de la marca Perialisi, modelo SC-45, constituida por un triturador metálico de crucetas, tres termobatidoras horizontales superpuestas, un decantador centrífugo horizontal (decanter) modelo M-2 de tres fases de separación, un tamiz vibratorio con chapa perforada de 1 mm. de diámetro y dos separadoras centrífugas verticales.

b) Equipo de tratamiento aerobio

El proceso de tratamiento aerobio con *Geotrichum candidum* se realiza en fermentadores de un litro de volumen en régimen discontinuo durante tres días, a la temperatura de 25°C, utilizando un caudal de aire de 1 litro/hora por litro de alpechín, suministrado a través de difusores cerámicos. Como inóculo se utiliza un cultivo puro de esta especie fúngica, procedente de la colección existente en el Centro de Investigaciones Biológicas (C.S.I.C.) de Madrid (Referencia IJFMA).

c) Equipo de digestión anaerobia

El equipo usado consiste en dos unidades de digestión anaerobia agitadas magnéticamente, de 1 litro de capacidad sumergidas en un baño de agua a 35°C. Las características y detalles de este equipo están recogidas en un trabajo precedente (Borja, 1990).

Para llevar a cabo este proceso, los microorganismos responsables se inmovilizan en el interior de los reactores utilizando Sepiolita y Bentonita, silicatos de tamaño micronizado que permiten la fijación de las bacterias metanogénicas, con objeto de evitar su pérdida en los efluentes del proceso y con ello una posible disminución de la velocidad del mismo.

2.3. Procedimiento experimental

Previamente al proceso de digestión anaerobia, los dos alpechines utilizados se someten a un proceso de tratamiento aerobio con *Geotrichum candidum*, en las condiciones anteriormente citadas. En la Tabla II se resumen las características del alpechín obtenido con Olivex y del testigo tras este proceso de biotratamiento.

Tabla II
Características del alpechín obtenido con Olivex y del testigo tras el proceso de pretratamiento aerobio con *Geotrichum candidum*

	Con "Olivex"	Testigo
pH	5,8	5,9
Demanda Química de Oxígeno (g/l)	40	35
Acidez Volátil (mg/l en ac. acético)	250	150
Fenoles totales (mg/ml en ac. cafeico)	0,19	0,19
Orto-difenoles (mg/ml en ac. cafeico)	0,006	0,007
Azúcares totales (%)	2,1	1,1

El procedimiento experimental utilizado para el arranque y puesta a punto de los digestores anaerobios está descrito en un trabajo precedente (Borja et al., 1990). Tras un período de aclimatación de tres meses se reali-

zan una serie de experimentos en régimen discontinuo, añadiendo por un lado, volúmenes de 20, 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 320 y 360 ml. de alpechín obtenido con Olivex, previamente tratado con *Geotrichum*. Por otra parte, tras finalizar esta serie de experimentos, se realizan otros similares añadiendo las mismas cargas volumétricas anteriores del alpechín testigo biotratado.

En todos los experimentos, las cargas se añaden después de retirar el mismo volumen de líquido de biorreactor, tras decantar durante dos horas para evitar pérdidas de biomasa.

En cada experimento se mide el volumen de metano producido diariamente, así como la DQO inicial y final. La duración de cada experimento se corresponde con el tiempo necesario para la biometanización completa de cada carga. Todos los experimentos se realizan por duplicado.

Los análisis de los parámetros de caracterización de los distintos efluentes residuales (Tablas I y II) se realizan de acuerdo con el "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (American Public Health Association, 1985).

3. RESULTADOS EXPERIMENTALES

En las Tablas III, IV, V y VI se exponen los valores del volumen de metano acumulado (ml) en función del tiempo (días), para los distintos volúmenes de alimentación utilizados de alpechín biotratado obtenido con Olivex (III y IV) y testigo (V y VI) respectivamente, en los reactores con soporte Sepiolita y Bentonita.

Tabla III
Volumen de metano acumulado en función del tiempo (días) para los distintos volúmenes de alimentación de alpechín obtenido con Olivex biotratado. Reactor con soporte Sepiolita.

Volumen Aliment. (ml)	Tiempo (días)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20	165	225	248	257	258	259	260	—	—
40	325	445	490	505	512	515	515	—	—
80	660	905	990	1.025	1.039	1.043	1.045	—	—
120	1.010	1.370	1.505	1.550	1.570	1.577	1.580	—	—
160	1.315	1.810	1.995	2.065	2.090	2.100	2.103	2.105	—
200	1.630	2.225	2.445	2.530	2.560	2.570	2.573	2.575	—
240	1.960	2.670	2.935	3.025	3.060	3.075	3.078	3.080	—
280	2.290	3.155	3.475	3.590	3.630	3.662	3.668	3.670	—
320	2.660	3.645	4.010	4.130	4.182	4.205	4.207	4.209	4.210
360	3.010	4.095	4.490	4.635	4.690	4.710	4.718	4.719	4.720

Tabla IV
Volumen de metano acumulado en función del tiempo (días) para los distintos volúmenes de alimentación de alpechín obtenido con Olivex biotratado. Reactor con soporte Bentonita.

Volumen Aliment. (ml.)	Tiempo (días)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20	150	212	235	245	247	249	250	—	—
40	295	425	474	495	504	510	510	—	—
80	590	830	925	965	980	989	990	—	—
120	895	1.270	1.420	1.485	1.509	1.518	1.520	—	—
160	1.185	1.660	1.855	1.935	1.965	1.980	1.983	1.985	—
200	1.485	2.105	2.360	2.465	2.510	2.528	2.538	2.540	—
240	1.775	2.495	2.780	2.895	2.945	2.964	2.973	2.975	—
280	2.100	2.960	3.315	3.460	3.520	3.545	3.557	3.560	—
320	2.350	3.310	3.695	3.860	3.920	3.949	3.960	3.963	3.965
360	2.705	3.795	4.230	4.406	4.475	4.505	4.518	4.524	4.525

Tabla V

Volumen de metano acumulado en función del tiempo (días) para los distintos volúmenes de alimentación de alpechín testigo biotratado. Reactor con soporte Sepiolita.

Volumen Aliment. (ml)	Tiempo (días)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20	95	153	182	197	205	212	215	215	–	–
40	185	285	342	375	390	418	427	430	–	–
80	400	615	735	800	845	864	877	880	–	–
120	585	905	1.080	1.175	1.235	1.262	1.283	1.285	–	–
160	775	1.205	1.445	1.575	1.640	1.685	1.712	1.727	1.730	–
200	950	1.485	1.785	1.955	2.050	2.105	2.143	2.157	2.160	–
240	1.180	1.830	2.185	2.380	2.485	2.545	2.578	2.601	2.605	–
280	1.390	2.145	2.550	2.770	2.895	2.955	2.995	3.019	3.025	–
320	1.610	2.465	2.935	3.190	3.320	3.395	3.430	3.449	3.462	3.465
360	1.760	2.715	3.245	3.535	3.695	3.780	3.835	3.859	3.876	3.880

Tabla VI

Volumen de metano acumulado en función del tiempo (días) para los distintos volúmenes de alimentación de alpechín testigo biotratado. Reactor con soporte Bentonita

Volumen Aliment. (ml)	Tiempo (días)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20	85	134	165	183	195	202	208	210	–	–
40	170	265	330	365	390	405	413	415	–	–
80	340	545	670	745	790	822	857	860	–	–
120	485	790	975	1.085	1.160	1.205	1.258	1.260	–	–
160	675	1.085	1.335	1.480	1.575	1.630	1.674	1.702	1.705	–
200	805	1.295	1.605	1.795	1.910	1.995	2.045	2.087	2.090	–
240	1.010	1.625	1.985	2.205	2.335	2.415	2.485	2.521	2.525	–
280	1.225	1.945	2.375	2.630	2.780	2.860	2.925	2.975	2.980	–
320	1.305	2.095	2.590	2.870	3.075	3.185	3.250	3.295	3.335	3.340
360	1.505	2.405	2.965	3.290	3.495	3.615	3.695	3.745	3.787	3.790

En la Tabla VII aparecen los valores de la DQO (g/l) al inicio de cada experimento en todos los casos estudiados.

Tabla VII

Valores de la DQO (g/l) al inicio de cada experimento

Volumen (ml)	Olivex Sepiolita	Olivex Bentonita	Testigo Sepiolita	Testigo Bentonita
20	3,00	3,25	2,90	3,15
40	3,75	4,00	3,55	3,80
80	5,30	5,50	4,90	5,10
120	6,80	7,00	6,20	6,40
160	8,30	8,50	7,50	7,70
200	9,80	10,00	8,80	9,00
240	11,30	11,50	10,10	10,30
280	12,80	13,00	11,40	11,60
320	14,35	14,50	12,70	12,90
360	15,85	16,00	14,05	14,20

4. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

A partir de los valores puntuales del volumen de metano acumulado en función del tiempo y admitiendo que globalmente el proceso de fermentación anaerobia sigue una cinética de primer orden (Grujer, 1983; Winkler, 1983), se obtienen las constantes específicas de velocidad para cada experimento realizado, mediante la ecuación de Roediger (Edeline, 1980):

$$G = G_m [1 - \exp(-K_o t)]$$

Siendo:

G = volumen de metano acumulado en función del tiempo (ml)

G_m = volumen máximo de metano acumulado (ml) considerando un tiempo de digestión infinito.

K_o = constante específica de velocidad (días^{-1}).

t = tiempo de digestión (días).

Para poder aplicar a los resultados experimentales el modelo considerado se debe comprobar, en primer lugar, que los datos (G, t) se ajustan a la ecuación propuesta. A título de ejemplo en las figuras 1 y 2 se representan los valores de G (ml) en función del tiempo (días) para

algunos experimentos realizados con alpechín biotratado obtenido con Olivex y con el testigo biotratado respectivamente, en el reactor con Sepiolita. Idéntico comportamiento se observa en el reactor con Bentonita.

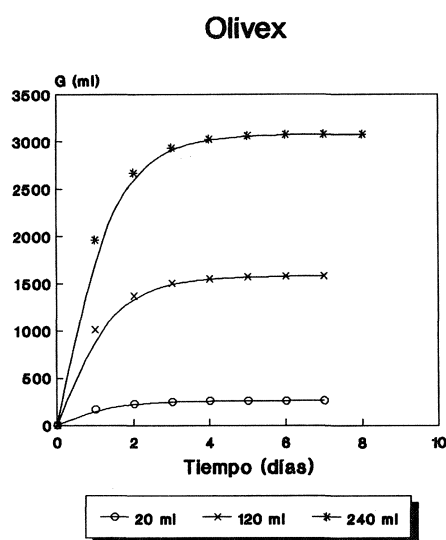


Figura 1

Volumen de metano acumulado, G (ml) en función del tiempo (días), para algunas cargas volumétricas de alpechín obtenido con Olivex biotratado (reactor con soporte Sepiolita).

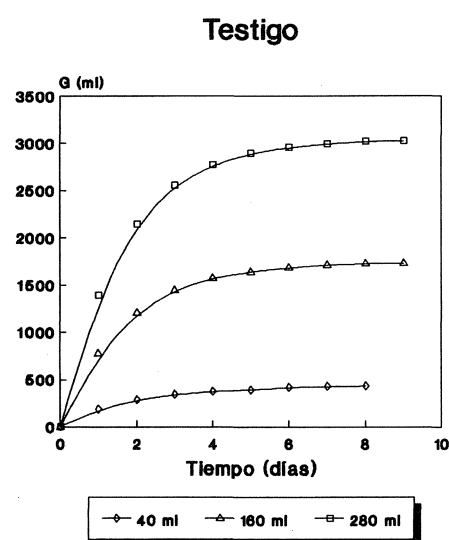


Figura 2

Volumen de metano acumulado, G (ml) en función del tiempo (días), para algunas cargas volumétricas de alpechín testigo biotratado (reactor con soporte Sepiolita).

Se comprueba en todos los casos, las curvas cinéticas cumplen las características exigibles a la ecuación propuesta. Así, para $t=0$, $G=0$ y cuando t tiende a infinito, $G=G_m$ —se alcanza una asíntota— lo que se observa en las gráficas; finalmente, la pendiente de las curvas, en cada caso, decrece al aumentar el tiempo y no se observan puntos singulares. Estas razones, justifican el ajuste de los datos experimentales al modelo propuesto.

La determinación de la constante específica de velocidad, K_o , se realiza numéricamente mediante ordenador utilizando el Software TSP Internacional versión 4.0D (Stanford CA, 94306 USA). En la Tabla VIII se resumen los valores de esta constante cinética junto con sus límites de confianza, considerando un intervalo de probabilidad del 95%.

Tabla VIII

Valores de la constante específica de velocidad, K_o (días⁻¹), con sus límites de confianza para cada reactor y experimento realizado

Volumen (ml)	Olivex Sepiolita	Olivex Bentonita	Testigo Sepiolita	Testigo Bentonita
20	1,00±0,01	0,92±0,02	0,59±0,02	0,49±0,02
40	0,99±0,01	0,87±0,02	0,54±0,02	0,49±0,02
80	0,99±0,02	0,90±0,01	0,59±0,03	0,48±0,02
120	1,02±0,02	0,89±0,01	0,59±0,02	0,47±0,03
160	0,98±0,01	0,91±0,02	0,59±0,01	0,49±0,02
200	0,99±0,01	0,88±0,02	0,57±0,01	0,48±0,02
240	1,01±0,02	0,90±0,01	0,59±0,01	0,50±0,02
280	0,98±0,01	0,89±0,01	0,61±0,02	0,52±0,01
320	1,00±0,01	0,89±0,01	0,62±0,02	0,49±0,01
360	1,01±0,01	0,91±0,01	0,60±0,02	0,50±0,01

En la Figura 3 se representan los valores de la constante específica de velocidad, K_o , en función de la DQO inicial para cada uno de los dos alpechines biotratados utilizados, en los dos digestores mencionados.

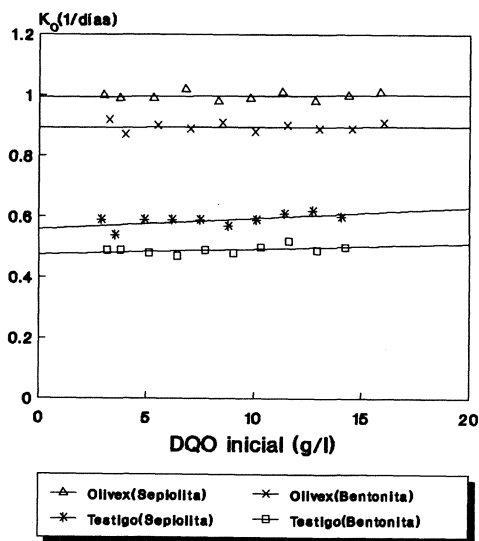


Figura 3

Variación de la constante específica de velocidad, K_o (días⁻¹), con la DQO inicial (g/l), en cada caso estudiado.

A diferencia de lo que ocurre con ambos alpechines sin pretratar, se observa una constancia en los valores de este parámetro cinético con la concentración de sustrato en todos los casos considerados; por otro lado, los valores del mismo son siempre superiores que los correspondientes a idénticas densidades de carga de ambos alpechines sin biotratados (Borja, 1991). Esto demuestra el interés de este tratamiento aerobio, preliminar al proceso de biometanización, con el que se consigue eliminar el 88,8% y 87,1% de los compuestos fenólicos totales existentes en el alpechín obtenido con Olivex y en el de referencia, respectivamente.

Los valores medios de la constante cinética son:

- alpechín con Olivex (reactor Sepiolita): $0,99 \pm 0,01$.
- alpechín con Olivex (reactor Bentonita): $0,89 \pm 0,02$
- alpechín testigo (reactor Sepiolita): $0,59 \pm 0,02$
- alpechín testigo (reactor Bentonita): $0,49 \pm 0,01$

Como se aprecia, el valor medio de la constante específica de velocidad llega casi a duplicarse en el alpechín obtenido con Olivex respecto al de referencia en los dos digestores utilizados. Este hecho puede explicarse teniendo en cuenta que los dos residuos biotratados tienen un escaso contenido en compuestos fenólicos con lo que desaparece su poder inhibitorio; sin embargo, el alpechín obtenido con Olivex contiene después del biotratamiento un mayor contenido que el de referencia en compuestos directamente fermentables

(ácidos volátiles y azúcares, fundamentalmente) que determinan que el proceso de degradación anaerobia posterior sea más rápido.

Por otra parte, los tiempos necesarios para la biometanización completa de estos alpechines desfenolizados son inferiores a 8 ó 9 días en todos los casos, a diferencia de lo que ocurre con ambos alpechines sin biotratados, para los que se requieren tiempos del orden de 20 días para análogas concentraciones de sustrato.

En relación con el comportamiento del soporte ensayado, se observa un valor de la DQO de los efluentes ligeramente más bajo en el reactor con soporte Sepiolita ($DQO = 2,25$ g/l) respecto al de Bentonita ($DQO = 2,50$ g/l). Por otra parte, el porcentaje de DQO biodegradado en el proceso anaerobio es superior al 92% en todos los casos estudiados.

Por último, el coeficiente de rendimiento de producción de metano, calculado según se detalla en un trabajo precedente (Borja, 1990), presenta los siguientes valores:

- Reactor con soporte Sepiolita:
 - alpechín con Olivex: 346 ± 3 ml CH_4 /g DQO.
 - alpechín testigo: 330 ± 2 ml CH_4 /g DQO.
- Reactor con soporte Bentonita:
 - alpechín con Olivex: 334 ± 4 ml CH_4 /g DQO.
 - alpechín con testigo: 323 ± 3 ml CH_4 /g DQO.

Según se aprecia, el valor correspondiente al alpechín con Olivex es algo mayor (3-5%) que el correspondiente al alpechín testigo.

5. CONCLUSIONES

1. A partir de los datos experimentales, volumen de metano acumulado (G), tiempo (t), mediante la ecuación de Roediger se obtienen las constantes específicas de velocidad, K_o , del proceso de degradación anaerobia de un alpechín obtenido con Olivex y de otro testigo sin este coadyuvante, que previamente han sido sometidos a un proceso de tratamiento aerobio con *Geotrichum candidum*; con este pretratamiento se eliminan entre el 87 y el 89% de los compuestos fenólicos existentes en ambos alpechines.

2. Las constantes específicas de velocidad, K_o , se mantienen prácticamente invariables al aumentar la concentración de sustrato para los dos alpechines biotratados estudiados, en ambos reactores. Esto confirma la inexistencia de procesos de inhibición.

3. El valor medio de la constante cinética correspondiente al alpechín obtenido con Olivex es del orden de un 40% mayor que el correspondiente al alpechín testigo, en los dos digestores utilizados. En todos los casos, para idénticas densidades de carga añadidas, el valor de este parámetro cinético es siempre superior al obtenido para ambos alpechines sin pretratar.

4. El soporte Sepiolita favorece la cinética y aumenta el coeficiente de rendimiento metánico respecto a la Bentonita, observándose este fenómeno en los dos alpechines estudiados.

AGRADECIMIENTOS

Queremos hacer constar nuestro agradecimiento a D.^a Carmen Sánchez González y a D. Francisco Cano Martín por su eficaz ayuda y colaboración.

BIBLIOGRAFIA

- Alba, J.; Muñoz, E.; Martínez, J.M. (1982).- "Obtención de aceite de oliva. Empleo de productos que facilitan su extracción".- *Alimentaria*, 25-55.
- Alba Mendoza, J. y Ruiz Gómez, A. (1987a).- "Estudios a nivel de laboratorio e industrial sobre la utilización enzimática en la obtención del aceite de oliva".-*Memorias del II World Congress of Food Technology IV*, 2.885-2.897.
- Alba Mendoza, J.; Ruiz Gómez, A. y Gutiérrez Rosales, F. (1987b).- "Eficacia de la formulación enzimática Röhament 0 en la tecnología del aceite de oliva. Composición y valoración organoléptica de los aceites obtenidos".- *Grasas y Aceites* **38**, 271-277.
- Alba Mendoza, J. y Ruiz Gómez, A. (1987c).- "Efecto de la formulación enzimática Olivex en el proceso de obtención de aceite de oliva".- *Actas del VII Congreso Nacional de Química. Química Agrícola y Alimentaria-2*, III, 297-304.
- American Public Health Association (1985).- *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (16th edn.).- APHA, Washington, D.C.
- Borja, R.; Martín, A. y Fiestas, J.A. (1990).- "Estudio cinético de la depuración anaerobia del alpechín en presencia de diversos soportes para la inmovilización de los microorganismos responsables del proceso".- *Grasas y Aceites* **41**, 347-356.
- Borja, R.; Alba, A. y Durán M.M. (1991).- "Influencia de los coadyuvantes tecnológicos utilizados en el proceso de elaboración del aceite de oliva sobre la cinética del proceso de digestión anaerobia del alpechín".- *Grasas y Aceites*.
- Camera, L.; Angerosa, F. and Cucarachi, A. (1978).- "Influenza dello stoccaggio delle olive sui costituenti della frazione sterolica dell'olio".- *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 107-112.
- Edeline, F. (1980).- "L'épuration biologique des eaux résiduaires. Théorie et Technologie".- Ed. Cebedoc.- Liege, Belgium.
- Frias, L.; García, A. y Ferreira, J. (1975).- "Composición en ácidos grasos del aceite de oliva en frutos con distinto grado de madurez".- *II Seminario Oleícola Internacional*. Córdoba.
- Giovacchino, L. (1991).- "Situation en Italie de la voie enzymatique pour la production d'huile d'olive: résultats des essais et perspectives".- *Rev. Fr. Corps. Gras*, 85-94.
- Grujer, W. and Zehnder, J.B. (1983).- "Conversion process in anaerobic digestion".- *Wat. Sci. Tech.* **15**, 127-167.
- Montedoro, G. and Garfolo, L. (1984).- "Caratteristiche qualitative degli oli virgini di oliva. Influenza di alcune variabili: Varietà, ambiente, conservazione, estrazione, condizionamento de prodotto finito".- *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 157-168.
- Montedoro, G.F. (1987).- "Impiego di preparati enzimatici e drenanti nell'estrazione meccanica di oli di oliva".- *La Riv. Ital. Sost. Grasse* **LXIV**, 415-421.
- TSP International versión 4.0D P.O. Box 61015, Station A. Palo Alto, CA 94306 USA.
- Winkler, M. (1983).- "Biological treatment of Waste-Water".- Elli Horwood Ltd, Publishers. Chapter 4.

(Recibido: Enero 1992)