



Pengaruh Penambahan Zeolit Alam Termodifikasi sebagai Media Imobilisasi Bakteri terhadap Dekomposisi Material Organik secara Anaerob

Melly Mellyanawaty¹, Chandra Wahyu Purnomo² dan Wiratni Budhijanto^{2,*}

¹Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Tasikmalaya
Jl. Tamansari Km. 2,5, Mulyasari, Tasikmalaya 46196

²Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada
Jl. Grafika No. 2 Kampus UGM, Yogyakarta, 55283

*Alamat korespondensi: wiratni@ugm.ac.id

Submisi: 23 Juni 2017; Penerimaan: 10 Juli 2017

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of modified natural zeolite as microbial immobilization medium for anaerobic decomposition of organic materials. The modification was Fe^{2+} impregnation into the ring-shaped zeolite. Three different concentrations of Fe^{2+} solution were used to impregnate the zeolite, i.e. 10 mg/L, 100 mg/L and 2000 mg/L. The wet impregnation process was conducted. Four variations of Fe^{2+} concentration deposited into zeolite were prepared, i.e. 0 mg Fe^{2+} /gZeo (as control), 0.0016 mg Fe^{2+} /gZeo, 0.0156 mg Fe^{2+} /gZeo and 0.3125 mg Fe^{2+} /gZeo. The modified zeolite was added to the batch anaerobic reactor, which filled with the volume ratio of liquid substrate and zeolite of 1:1 for all variations of media. Distillery spent wash was used as the substrate in this study. The soluble Chemical Oxygen Demand (sCOD) value of the substrate was homogenized at 10000 mg/L. Effluent digester of cow manure bio digester was added as inoculum. The volume ratio of distillery spent wash to the inoculum was 2:1. The anaerobic process was conducted for 28 days. The performance of four media in the anaerobic digestion of distillation spent wash was measured in terms of sCOD, total solid (TS), and volatile solid (VS). The comparison among media was more accurately and conclusively represented by sCOD value. The visual analysis of sCOD trend during 28 days indicated that zeolite with 0.0156 mgFe/gZeo resulted in the highest sCOD removal of 66.73%. Meanwhile, zeolite with 0.3125 mgFe/gZeo increased the production of biogas by the highest percentage of 43% to be compared to control. Generally speaking, the addition of Fe^{2+} into zeolit led to higher removal of sCOD and produced more biogas than control.

Keywords: anaerobic digestion, distillery spent wash, iron impregnation, zeolite, immobilization medium.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan zeolit alam termodifikasi sebagai media imobilisasi terhadap dekomposisi material organik pada proses peruraian anaerobik. Modifikasi yang dilakukan adalah dengan cara mengimpregnasi ion besi (Fe^{2+}) ke dalam zeolit yang telah dibentuk menjadi cincin *Raschig*. Impregnasi yang dilakukan adalah impregnasi basah. Penelitian ini menggunakan 3 variasi konsentrasi larutan Fe^{2+} yang berbeda yaitu 10 mg/L, 100 mg/L dan 2000 mg/L. Dari hasil impregnasi zeolit menggunakan ketiga konsentrasi tersebut, kadar Fe^{2+} yang terdeposit ke dalam zeolit berturut-turut adalah 0.0016 mg Fe^{2+} /gZeo, 0.0156 mg Fe^{2+} /gZeo, 0.3125 mg Fe^{2+} /gZeo. Kadar 0 mg Fe^{2+} /gZeo digunakan sebagai kontrol. Zeolit termodifikasi Fe^{2+} kemudian ditambahkan ke dalam reaktor anaerobik yang dijalankan secara *batch*. Perbandingan volume media zeolit dan cairan adalah 1:1. Substrat yang digunakan berupa campuran limbah *distillery spent wash* dengan konsentrasi *soluble Chemical Oxygen Demand* (sCOD) 10000 mg/L dan keluaran dari *digester* aktif kotoran sapi sebagai inokulum. Perbandingan volume *distillery spent wash* terhadap inokulum sebesar 2:1. Proses anaerobik dijalankan selama 28 hari. Jika dibandingkan dengan data *Total Solid* (TS) dan *Volatile Solid* (VS), hasil percobaan menunjukkan bahwa data analisis sCOD memberikan data yang lebih akurat dan konklusif untuk mengukur perubahan material organik dalam proses peruraian anaerobik menggunakan media imobilisasi. Dari keempat variasi kadar Fe^{2+} yang digunakan dalam penelitian ini, Fe^{2+} dengan kadar 0.0156 mg Fe^{2+} /gZeo memberikan efisiensi penurunan material organik (sCOD) tertinggi yaitu 66.73%. Sedangkan Fe^{2+} dengan kadar 0.3125 mg Fe^{2+} /gZeo mampu meningkatkan produksi biogas sebesar 43%. Namun secara keseluruhan proses peruraian anaerobik yang menggunakan zeolit termodifikasi Fe^{2+} menghasilkan biogas lebih banyak daripada kontrol (zeolit tanpa Fe^{2+}).

Kata kunci: *anaerobic digestion*, *distillery spent wash*, impregnasi Fe, media imobilisasi, zeolit.

1. Pendahuluan

Peruraian anaerobik merupakan proses peruraian atau dekomposisi material organik oleh mikroorganisme dalam kondisi tanpa oksigen. Proses peruraian anaerobik terdiri dari 3 tahapan proses yang melibatkan beberapa kelompok bakteri berbeda yaitu : tahap peruraian atau hidrolisis material organik yang tidak larut seperti karbohidrat, protein, dan lemak; tahap asidogenesis dan tahap metanogenesis (Ziemiński dan Fraç, 2012).

Keuntungan proses peruraian anaerobik ini adalah menghasilkan sedikit lumpur biomassa, biaya operasional relatif lebih rendah daripada proses aerob, dan menghasilkan energi dalam bentuk gas metana. Namun di sisi lain, pertumbuhan bakteri anaerob yang berjalan lambat menyebabkan proses ini memerlukan waktu lebih lama sehingga diperlukan volume

reaktor yang lebih besar. Selain itu, pada laju alir tinggi mikroorganisme dapat terbawa keluar bersama aliran limbah (*washout*).

Penambahan media imobilisasi ke dalam reaktor dapat dilakukan untuk mengatasi masalah yang dihadapi pada proses peruraian anaerobik. Keberadaan media imobilisasi dapat mencegah bakteri *washout* sehingga reaktor diharapkan dapat dioperasikan pada kecepatan aliran yang lebih tinggi dengan volume reaktor yang lebih kecil.

Media imobilisasi akan membatasi gerak bakteri, dengan demikian bakteri akan saling berdekatan dan menyebabkan mekanisme saling melindungi. Hal ini dapat mengakselerasi pertumbuhan bakteri yang memiliki laju pertumbuhan lambat secara individual. Selain itu, imobilisasi mikroorganisme juga dapat meningkatkan waktu tinggal lumpur atau *sludge retention time* (SRT) yang digunakan sebagai

indikator waktu tinggal mikroorganisme di dalam reaktor (Bitton 2005). Pertumbuhan bakteri yang lebih cepat menyebabkan konsentrasi sel di dalam reaktor meningkat sehingga memperpendek waktu proses peruraian organik (Shuler dan Kargi 2002, Anderson dkk, 2003). Dengan demikian, penambahan media imobilisasi diharapkan dapat menurunkan waktu tinggal substrat sehingga memperkecil volume reaktor.

Zeolit sebagai media imobilisasi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan penjerap (adsorben) dengan kemampuan tinggi karena sifatnya memiliki banyak pori dan luas permukaan yang cukup tinggi serta kemampuan tukar kation yang baik. Sifat ini dapat dimanfaatkan untuk menyimpan kation-kation yang disukai mikroorganisme di dalam zeolit.

Salah satu kation yang sangat diperlukan sebagai mikronutrien mikroorganisme adalah Fe^{2+} (Deublein dan Steinhäuser 2008). Melalui mekanisme pertukaran atau penambahan kation Fe^{2+} pada zeolit diharapkan akan tersedia mikronutrien Fe^{2+} yang diperlukan bakteri, sehingga bakteri asidogen dan metanogen cenderung lebih tertarik untuk menempel (terimobilisasi).

Dalam penelitian ini, media zeolit yang telah dimodifikasi dengan penambahan kation Fe^{2+} diaplikasikan ke dalam *digester* dengan substrat *distillery spent wash*. *Distillery spent wash* atau disebut juga *stillage* merupakan limbah cair berwarna coklat yang dihasilkan dari proses distilasi bioetanol. Setiap satu liter bioetanol yang diproduksi menghasilkan sekitar 15 liter *distillery spent wash*. Limbah ini bersifat asam dengan pH sekitar 3–4 dan kandungan organik yang sangat tinggi dengan nilai *Chemical Oxygen Demand* (COD) 100000–120000 mg/L (Chavan dkk, 2006; Pant dan Adholeya 2007; Prakash dkk, 2014)

Proses peruraian anaerobik pada *distillery spent wash* tidak mudah karena limbah ini mengandung inhibitor yang dapat mengganggu selama proses. Beberapa inhibitor yang terdapat dalam *distillery spent wash* adalah amonia, sulfida, dan senyawa organik. Sejumlah senyawa organik seperti fenol juga merupakan inhibitor yang dapat menghambat proses anaerobik.

Polutan ini mengikat dan merusak membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel tidak mampu melakukan metabolisme. Pertumbuhan sel pun terhambat dan dapat mengakibatkan kematian. Setelah bakteri melewati masa adaptasi, beberapa polutan organik dapat dipecah oleh bakteri dalam proses anaerobik (Schnürer dan Jarvis, 2010).

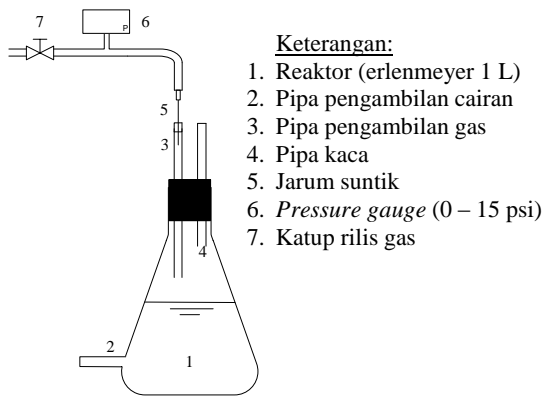
Akibat keberadaan inhibitor tersebut, pertumbuhan bakteri menjadi lebih lambat sehingga penambahan media imobilisasi untuk mengakselerasi pertumbuhan bakteri dan menciptakan perlindungan bagi bakteri menjadi sangat relevan dalam kasus ini. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kation Fe^{2+} pada zeolit terhadap dekomposisi material organik dalam proses peruraian anaerobik limbah *distillery spent wash*.

2. Metodologi Penelitian

2.1. Alat dan Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *distillery spent wash* yang diperoleh dari PT. Energi Agro Nusantara yang berlokasi di Desa Gempolkrep, Kecamatan Gedeg, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur. *Distillery spent wash* segar ini memiliki kadar sCOD sebesar 100000-150000 mg/L; pH 5; konsentrasi *volatile fatty acid* (VFA) sebesar 5749.4 mg asam asetat/L; kadar Fe^{2+} berkisar antara 14–32 mg/L dan kandungan fenol 26 mg/L atau 0.50%. Lumpur dari keluaran *digester* aktif kotoran sapi digunakan sebagai inokulum. Inokulum diperoleh dari instalasi reaktor biogas Pusat Inovasi Agro Teknologi (PIAT) UGM di Berbah, Sleman, Yogyakarta. Zeolit alam yang digunakan merupakan zeolit komersial yang dijual untuk keperluan campuran pupuk dengan kandungan sebagian besar struktur mordenite dan sedikit klinoptilolite.

Reaktor *batch* anaerobik yang digunakan dalam penelitian ini berupa erlenmeyer 1 liter. Erlenmeyer dimodifikasi dengan sumbat karet dan pipa kaca pada bagian atas untuk mengukur tekanan, sedangkan bagian bawah diberi pipa kaca sebagai titik pengambilan sampel. Skema alat yang digunakan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Reaktor Peruraian Anaerobik

2.2 Pembuatan Media Imobilisasi

Pembuatan media imobilisasi zeolit dilakukan dengan mencampur zeolit:bentonit (1:1) dan air lalu diaduk hingga terbentuk adonan yang bisa dicetak. Selanjutnya adonan dibentuk cincin silinder (*raschig ring*) menggunakan mesin pencetak di Laboratorium Teknologi Keramik dan Komposit, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada. Cincin yang terbentuk dikeringkan pada suhu ruang selama 24-48 jam, lalu dipanaskan pada suhu 60°C selama 12 jam menggunakan oven. Selanjutnya media berbentuk cincin ini dikalsinasi menggunakan *chamber furnace* Carbalite RHF 1600 pada suhu 700°C selama 1 jam.

Tabel 1. Fe²⁺ Terdeposit dalam Zeolit pada Berbagai Konsentrasi FeCl₂ (awal)

Konsentrasi FeCl ₂ (awal) (mg/L)	Fe ²⁺ terdeposit (mg Fe/g Zeo)
10	0.0016
100	0.0156
2000	0.3125

Impregnasi kation Fe²⁺ pada zeolit dilakukan dengan terlebih dahulu merendam zeolit yang telah dikalsinasi ke dalam larutan NaCl 1M selama 24 jam untuk membentuk homo-ion. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan cara merendam zeolit ke dalam aqua bidestilata selama 24 jam. Setelah melalui proses pencucian, media zeolit direndam di dalam larutan FeCl₂ dengan variasi konsentrasi 10, 100, dan 2000 mg/L selama 24 jam. Zeolit hasil impregnasi larutan FeCl₂, dihitung kadar kation Fe²⁺ yang

terimpregnasi pada zeolit dengan mengukur konsentrasi awal dan akhir larutan FeCl₂ dengan alat analisis ICP Perkin Elmer Optima 8300. Jumlah Fe²⁺ yang terdeposit dalam setiap gram zeolit hasil impregnasi pada berbagai konsentrasi larutan FeCl₂ ditunjukkan Tabel 1.

2.3 Proses Peruraian Anaerobik

Substrat yang digunakan adalah campuran *distillery spent wash* dan *effluent* digester aktif dengan perbandingan volume 2:1. Jumlah media zeolit yang digunakan didasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Halim (2015), yaitu perbandingan volume media dan cairan terbaik adalah 1:1. Untuk mencapai perbandingan volume ini digunakan media zeolit sebanyak 225 gram yang mengisi volume reaktor kurang lebih 400 mL dan substrat sebanyak kurang lebih 400 mL sehingga volume total mencapai 800 mL. Ketiga variasi kadar Fe²⁺ dalam zeolit seperti yang ditunjukkan Tabel. 1 dan zeolit tanpa Fe²⁺ sebagai kontrol, diaplikasikan ke dalam reaktor peruraian anaerobik dengan konsentrasi sCOD *distillery spent wash* sebesar 10000 mg/L.

2.4. Metode Eksperimen

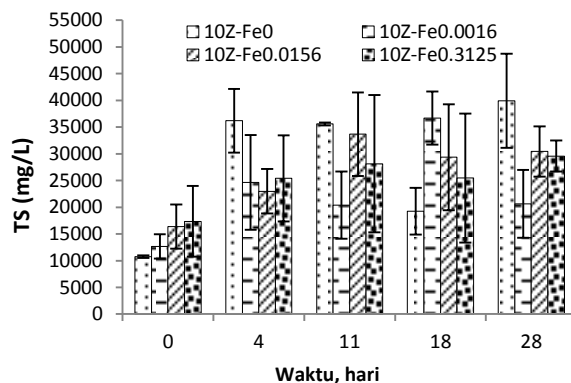
Pengamatan yang dilakukan selama eksperimen adalah pengukuran kadar TS, VS dan sCOD (APHA 1998), sebanyak satu kali dalam seminggu selama proses berlangsung. Sebelum dilakukan analisis sCOD, terlebih dahulu sampel disentrifugasi selama kurang lebih 10 menit atau hingga partikel padat terendapkan semua. Pengukuran biogas menggunakan *pressure gauge* (Wiebrock dengan skala 1 kg/cm²) lalu dihitung dan dikonversi ke dalam suhu ruang dan tekanan atmosfer.

Pada penelitian ini penamaan reaktor berdasarkan konsentrasi sCOD awal yang digunakan yaitu 10000 mg/L (diberi kode 10 pada awal penamaan) diikuti dengan kadar Fe²⁺ yang terdeposit pada zeolit. Sebagai contoh 10Z-Fe0 untuk reaktor kontrol, sedangkan untuk kadar 0.0016, 0.0156 dan 0.3125 mgFe/gZeo berturut-turut adalah 10Z-Fe0.0016; 10Z-Fe0.0156 dan 10Z-Fe0.3125.

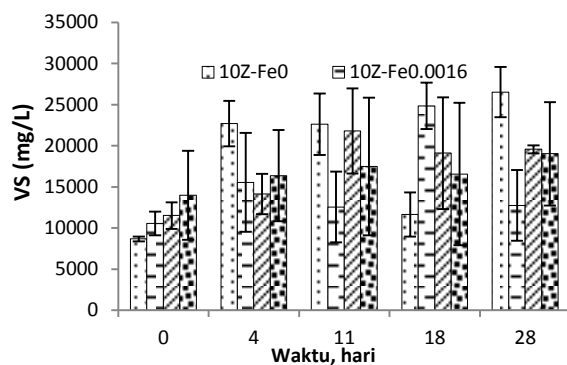
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengaruh Penambahan Fe^{2+} pada Zeolit terhadap Perubahan Konsentrasi TS dan VS

Menurut Schnürer & Jarvis (2010), *Total Solids* (TS) merupakan jumlah material organik dan anorganik yang terkandung di dalam limbah atau substrat. Sedangkan *Volatile Solids* (VS) merupakan jumlah material organik di dalam substrat yang dikonversi menjadi biogas. Pembentukan biogas dipengaruhi oleh konsentrasi TS dan VS selama proses fermentasi berlangsung. Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan profil perubahan konsentrasi TS dan VS selama proses peruraian anaerobik. Dari kedua gambar tersebut tampak perubahan konsentrasi TS dan VS memiliki profil yang hampir sama yaitu mengalami kenaikan setelah hari ke-7.

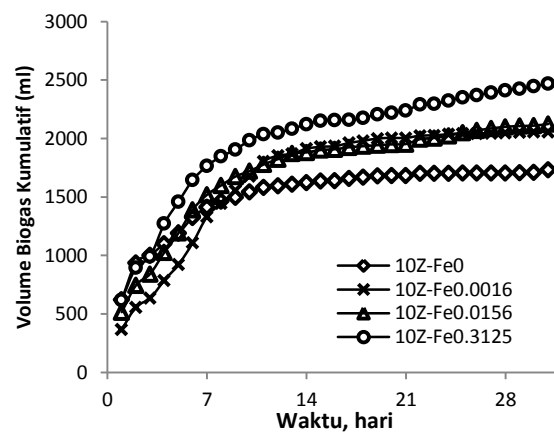


Gambar 2. Konsentrasi *Total Solid* selama Proses Peruraian Anaerobik Limbah *Distillery Spent Wash*



Gambar 3. Konsentrasi *Volatile Solid* selama Proses Peruraian Anaerobik Limbah *Distillery Spent Wash*

Konsentrasi TS dan VS di dalam reaktor cukup tinggi yaitu berkisar antara 25000 mg/L–35000 mg/L. Sedangkan pada tujuh hari pertama, konsentrasi TS dan VS berada pada level 10000 mg/L–15000 mg/L dan merupakan konsentrasi terendah selama proses berlangsung. Ini menunjukkan bahwa proses pembentukan biogas telah berlangsung sejak tujuh hari pertama. Hal ini diperkuat dengan volume biogas yang mengalami peningkatan cukup signifikan pada minggu pertama (Gambar. 4).



Gambar 4. Volume Kumulatif Biogas dalam Proses Peruraian Anaerobik Limbah *Distillery Spent Wash* pada Suhu Ruang dan Tekanan Atmosfer

Namun setelah hari ke-7, konsentrasi TS dan VS di seluruh reaktor cenderung mengalami peningkatan. Kemudian konsentrasi TS dan VS relatif konstan hingga hari ke-28 dan berada pada kisaran 20000 mg/L–40000 mg/L. Peningkatan konsentrasi TS dan VS ini diduga kinerja mikroorganisme dalam proses dekomposisi material organik mulai menurun dikarenakan kandungan organik di dalam substrat relatif tinggi yaitu berada di atas 10000 mg/L sehingga bisa jadi memberikan efek inhibisi pada mikroorganisme. Meskipun batasan konsentrasi senyawa organik sebagai inhibitor tergantung pada beberapa faktor seperti kandungan ineren substrat, temperatur proses dan frekuensi *loading*, namun beberapa material organik bersifat sulit larut di dalam air (Chen dkk, 2008). Material organik jenis ini akan berikatan satu sama lain dan melekat pada permukaan padatan lalu terakumulasi menyebabkan peningkatan

konsentrasi di dalam reaktor. Polutan jenis ini mampu berikatan dan merusak membran sel menyebabkan sel tidak mampu melakukan metabolisme. Pertumbuhan mikroorganisme menjadi terhambat bahkan bisa mati dan terjadi lisis.

Peningkatan konsentrasi sebagai akibat material organik yang berikatan satu sama lain dan jasad mikroorganisme yang mati akan terbaca sebagai konsentrasi TS dan VS sehingga menyebabkan konsentrasi TS/VS meningkat. Sedangkan konsentrasi TS dan VS yang konstan kemungkinan disebabkan karena aktivitas bakteri metanogen mulai terganggu sehingga tidak terjadi pembentukan biogas yang signifikan. Hal ini dikonfirmasi dengan volume kumulatif biogas setelah hari ke-7 yang tidak menunjukkan peningkatan secara signifikan (Gambar 4). Pada periode tersebut kemungkinan aktivitas bakteri asidogen masih berlangsung namun terbaca sebagai TS dan VS. Dengan demikian data TS dan VS menjadi kurang akurat dan sulit disimpulkan jika digunakan untuk mengetahui perubahan atau penurunan kandungan organik selama proses peruraian anaerobik yang menggunakan media imobilisasi.

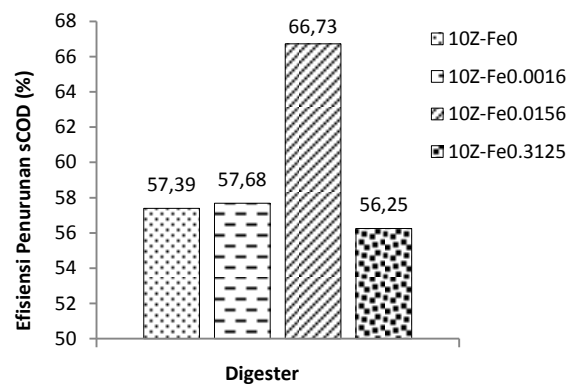
3.2 Pengaruh Penambahan Fe²⁺ pada Zeolit terhadap Efisiensi Penurunan sCOD

Efisiensi penurunan sCOD selama proses peruraian anaerobik ini berada pada kisaran 56–67% (Gambar 5). Efisiensi penurunan sCOD tertinggi diperoleh dari reaktor 10Z-Fe0.0156.

Meskipun reaktor 10Z-Fe0.0156 memiliki efisiensi penurunan sCOD tertinggi (66.73%) namun produksi biogas yang dihasilkan lebih rendah dari reaktor 10Z-Fe0.3125 yang memiliki efisiensi penurunan sCOD 56.25%. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kadar Fe²⁺ pada reaktor 10Z-Fe0.0156 belum cukup untuk menstimulasi aktivitas bakteri metanogen secara maksimal. Namun secara umum, reaktor dengan zeolit terimpregnasi Fe²⁺ menghasilkan biogas yang lebih banyak daripada reaktor kontrol. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa keberadaan Fe²⁺ dalam proses peruraian anaerobik mampu menstimulasi dan meningkatkan aktivitas bakteri metanogen

(Jackson-Moss dan Duncan, 1990; Anderson dkk, 2003).

Berdasarkan data yang ditunjukkan pada Gambar 2, Gambar 3 dan Gambar 5, data konsentrasi sCOD (Gambar 5) memberikan hasil yang lebih konklusif daripada data TS (Gambar 2) dan VS (Gambar 3). Hal ini disebabkan karena pada analisis sCOD yang diukur adalah zat organik terlarut yang benar-benar dikonsumsi oleh mikroorganisme. Pada analisis TS dan VS, zat organik diukur secara keseluruhan dan terdapat kemungkinan jasad mikroorganisme yang mati atau lisis terukur di dalamnya. Hal ini dapat mengganggu data yang diperoleh sehingga menjadi sulit untuk disimpulkan jika digunakan untuk mengetahui proses penurunan material organik pada proses peruraian anaerobik yang menggunakan media imobilisasi.



Gambar 5. Efisiensi Penurunan sCOD dalam Proses Peruraian Anaerobik Limbah *Distillery Spent Wash*

4. Kesimpulan

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil analisis TS, VS dan sCOD dapat disimpulkan bahwa data sCOD lebih akurat dan konklusif untuk mengukur perubahan material organik pada proses peruraian anaerobik menggunakan media imobilisasi. Dari variasi kadar Fe²⁺ terimpregnasi dalam zeolit yang digunakan dalam penelitian ini, Fe²⁺ dengan kadar 0.0156 mgFe/gZeo memberikan efisiensi penurunan material organik (sCOD) tertinggi yaitu 66.73%. Sedangkan Fe²⁺ dengan kadar 0.3125 mgFe/gZeo mampu meningkatkan produksi biogas sebesar 43%. Namun secara keseluruhan proses peruraian anaerobik yang menggunakan zeolit

termodifikasi Fe^{2+} menghasilkan biogas lebih banyak daripada kontrol (zeolit tanpa Fe^{2+}).

5. Daftar Pustaka

- Anderson, K., Sallis, P. & Uyanik, S., 2003. Anaerobic Treatment Processes. In *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*, Elsevier, Turkey, pp. 391–426.
- APHA, 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition*, APHA American Public Health Association.
- Bitton, G., 2005. *Wastewater Microbiology* 3rd ed., A John Wiley & Sons, Inc., Publication, New Jersey.
- Chavan, M.N. et al., 2006. Microbial degradation of melanoidins in distillery spent wash by an indigenous isolate. *Indian Journal of Biotechnology*, 5(July), pp.416–421.
- Chen, Y., Cheng, J.J. & Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), pp.4044–4064.
- Deublein, D. & Steinhauser, A., 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany.
- Halim, L., 2015. *Peningkatan Produksi Biogas dari Stillage dengan Imobilisasi Bakteri Anaerobik pada Media Padatan Berpori*, Thesis, Universitas Gadjah Mada.
- Jackson-Moss, C.A. & Duncan, J.R., 1990. The effect of iron on anaerobic digestion. *Biotechnology letters*, 154(2), pp.149–154.
- Pant, D. & Adholeya, A., 2007. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. *Bioresource Technology*, 98(12), pp.2321–2334.
- Prakash, N.B., Sockan, V. & Raju, V.S., 2014. Anaerobic Digestion of Distillery Spent Wash. *ARPJN Journal of Science and Technology*, 4(3), pp.134–140.
- Schnürer, A. & Jarvis, Å., 2010. *Microbiological Handbook for Biogas Plants*, Swedish.
- Shuler, M.L. & Kargi, F., 2002. *Bioprocess Engineering* 2nd ed., Prentice-Hall, Inc, USA.
- Ziemiński, K. & Frąć, M., 2012. Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: Transformations, stages and microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 11(18), pp.4127–4139.