PROCESOS BIOLÓGICOS DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y MODELADO DE LA DIFUSIÓN DE OXÍGENO EN FLÓCULOS Y BIOGRÁNULOS DE REACTORES DISCONTINUOS SECUENCIALES

Paula Bucci^a, Juan C. Alzate Marin^{a,b}, Noemí Zaritzky^{a,b}, Alejandro Caravelli^a

^a Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). 47 y 116, La Plata. ^b Depto. de Ing. Química, Fac. de Ingeniería, UNLP. alejandrocaravelli@hotmail.com

Introducción

La descarga de efluentes con altas concentraciones de nitrógeno (N) genera eutrofización en cuerpos de agua receptores. La remoción biológica convencional de N consta de dos procesos, la nitrificación a través de la oxidación de amoníaco a nitrato por nitrificadores autótrofos en condiciones aeróbicas y la desnitrificación por conversión de nitrato a gas N por microorganismos heterótrofos anaeróbicos. Ambos procesos deben realizarse en tanques separados, lo que requiere grandes áreas y un alto costo económico.

La nitrificación-desnitrificación simultánea (NDS) ocurre en el mismo reactor en condiciones aeróbicas, requiriendo la coexistencia de zonas aeróbicas y anóxicas dentro del lodo floculento (Meng y col., 2013). La NDS depende de factores como la concentración de oxígeno disuelto (OD), el tamaño del flóculo, etc. (Guo y col., 2009). La concentración de OD debe ser suficientemente baja para evitar la inhibición de las bacterias desnitrificantes por oxígeno; sin embargo, la nitrificación puede fallar bajo condiciones limitadas en oxígeno.

Los flóculos grandes y los gránulos aeróbicos suelen presentar una capa superficial aeróbica, en la cual tiene lugar la nitrificación. En el centro de los gránulos, las bacterias heterótrofas pueden almacenar anóxicamente carbono orgánico como polihidroxibutirato (PHB). En la zona anóxica interna puede ocurrir desnitrificación utilizando el PHB almacenado. La concentración de oxígeno disminuye desde la superficie hacia el centro de los agregados microbianos. Esta estratificación permite la remoción de C y N (Figueroa y col., 2009). La NDS es operativa en gránulos grandes (Nancharaiah y col., 2018). El modelo matemático propuesto por Layer y col. (2020) sugirió que gránulos más grandes y concentraciones de OD más bajas permiten el desarrollo de zonas anóxicas de mayor extensión durante períodos más largos, favoreciendo el proceso NDS. NDS también puede ocurrir en flóculos/gránulos pequeños siempre que OD sea óptimo (<1.0 mgO₂/L) (Third y col., 2003); sin embargo, la concentración óptima depende del tamaño de los agregados microbianos, el cual es dependiente de la composición del efluente, la carga orgánica etc. (Layer y col., 2020). Si bien es posible seleccionar el tamaño granular deseado, se requiere controlar la aireación mediante OD o el potencial óxido-reducción, lo que permite generar períodos con diferente OD o aireación intermitente, favoreciendo la NDS. Sin embargo, concentraciones variables de OD pueden generar diferentes problemas: crecimiento de microorganismos filamentosos, desintegración de gránulos, acumulación de nitrito favorable para la producción del gas invernadero óxido nitroso (Layer y col., 2020). La desnitrificación aeróbica (DA) es un proceso ventajoso pues no requiere control de aireación y se evitan los problemas causados por bajo OD. La alternancia de condiciones anaeróbicas y aeróbicas puede conducir al crecimiento de desnitrificantes aeróbicos, muchos de ellos pueden nitrificar y son denominados nitrificantes heterótrofos-desnitrificantes aeróbicos NHDA (Lei y col., 2019).

El objetivo general del presente estudio fue evaluar los procesos de remoción de N y la eficiencia de reactores discontinuos secuenciales (SBR) basados en: (i) flóculos de lodos activados (LA) y (ii) gránulos aeróbicos (GA). Se plantearon dos hipótesis: 1) En SBR con LA (SBR_L) y alternancia de períodos anóxico y aeróbico con alto OD se desarrollarán flóculos completamente aeróbicos y probablemente tendrá lugar la DA; 2) En SBR granular aeróbico (SBR_G) se espera que ocurra el proceso NDS, con desnitrificación anóxica y/o aeróbica dependiendo de la difusión de oxígeno dentro de los gránulos. Para corroborar las

hipótesis se propusieron los siguientes objetivos específicos: (i) Evaluar las capacidades nitrificantes y desnitrificantes de los sistemas mediante balances de masa de N; (ii) proponer un modelo de difusión de O₂ para determinar los perfiles de oxígeno en flóculos de LA y en GA; (iii) Determinar los procesos biológicos potenciales de remoción de N en cada sistema a partir de las simulaciones del modelo de difusión propuesto y los resultados experimentales.

Parte experimental

El SBR_L se operó bajo condiciones anóxicas/aeróbicas para favorecer la acumulación anóxica de reservas intracelulares de carbono y energía (glucógeno y/o PHA), las cuales pueden ser utilizadas como poder reductor en la desnitrificación en etapa aeróbica. El SBRL (volumen de trabajo V= 1.2 L) se operó con ciclos (12 h): fase anóxica (3.66 h), fase aeróbica (7.33 h), sedimentación de biomasa (50 min), extracción de sobrenadante. El SBRL se mezcló (100 rpm) en etapas anóxica y aeróbica. En fase aeróbica, el OD fue controlado en 5.5 mg O₂/L. El SBR_L se operó a pH= 7.5±0.1, 25±0.1°C, con tiempo de residencia celular (TRC) e hidráulico (TRH) de 10 días y 43.6 h respectivamente. Se trabajó con relación DQO/N (C/N) baja (100:10) y alta (100:7.5), denominadas SBR_{L(B-C/N)} y SBR_{L(A-C/N)} respectivamente. El SBR_G se operó con una única etapa aeróbica (7.5 mg O₂/L) y ciclo de 24 h con el fin de asegurar condiciones de disponibilidad de carbono e inanición ("feast/famine"), favorables para la acumulación de PHA y/o glucógeno. El SBR_G consistió en una columna (V= 4.6 L), con alta relación altura: diámetro= 9.2 y velocidad de aire ascendente de 2.3 cm/seg para favorecer la granulación. Los ciclos operativos presentaron las siguientes fases: aeróbica (23.9 h), sedimentación (5 min), extracción de sobrenadante. Se operó a pH= 7.5±0,1, 18±2°C, TRC= 20 días y TRH= 2 días. Se trabajó con relación DQO/N (C/N) baja (100:15) y alta (100:10), SBR_{G(B-C/N)} y SBR_{G(A-C/N)} respectivamente.

Los SBRs se alimentaron al inicio de cada ciclo con efluente sintético (acetato, amonio, fosfato). Se propuso un modelo de difusión de O_2 para evaluar los perfiles de O_2 en los agregados microbianos determinando el aporte de la DA en la remoción de N.

Los SBRs se monitorearon mediante los siguientes parámetros: amonio (NH4⁺-N, mg/L), nitrito (NO2⁻-N, mg/L), nitrato (NO3⁻-N, mg/L), sustrato orgánico como demanda química de oxígeno (DQO) soluble (DQOs, mg/L) y concentración de biomasa como sólidos totales (ST, mg/L) y DQO (DQO_B, mg/L). DQO_B correspondió a la diferencia entre DQO total (DQO_T), del licor mixto, y DQO_S. NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N y DQO_S fueron determinadas en muestras filtradas (0,45 µm) por espectrofotometría. La velocidad de consumo de oxígeno se determinó mediante respirometría cerrada (OUR, mg O2/(L.h)). El tamaño de los flóculos de LA se determinó mediante análisis de imágenes (Image-Pro Plus 6.0). La distribución del tamaño de partícula del lodo granular de SBR_G se determinó utilizando Mastersizer 2000 E. Los gránulos de PHA se detectaron mediante tinción (Sudan Black). La extracción y cuantificación de PHA a partir de biomasa de SBR_G se realizó siguiendo el método propuesto por Venkateswar Reddy y col. (2012). Para SBRL, la concentración de PHA se estimó utilizando el coeficiente estequiométrico Y_{PHB/Ac}= 0.52 C-mol PHB/C-mol Ac para condiciones anóxicas. Para ambos reactores, PHB se expresó como DQO utilizando factores de conversión: 21.5 g PHB/C-mol PHB y 1.125 mol O₂/C-mol PHB. La concentración de carbohidratos totales (CT) en la biomasa se determinó por el método de Antrona. El glucógeno (mg glucosa/L) se expresó como DQO utilizando los siguientes factores: 27 g/C-mol Glu y 1 mol O₂/C-mol Glu.

Se realizaron balances de masa de N para estimar la asimilación de N, nitrificación y desnitrificación. El gas N (N_G, mg N/L) producido por desnitrificación se estimó mediante:

$$N_{g} = \Delta \left(NH_{3} - N \right) - \Delta \left(NO_{\chi} - N \right) - \Delta \left(NH_{3} - N \right)_{\chi}$$
(1)

 $\Delta(NO_X-N) = N$ oxidado generado por nitrificación ($\Delta(NO_X-N) = \Delta(NO_2^2-N) + \Delta(NO_3^2-N)$, mg N/L); $\Delta(NH_3-N)_X = N$ amoniacal utilizado para crecimiento heterótrofo (mg N/L);

 Δ (NH₃-N)= N amoniacal consumido (mg N/L), siendo:

$$\Delta(NH_{3} - N) = \Delta(NH_{3} - N)_{X} + \Delta(NH_{3} - N)_{N}$$
⁽²⁾

. . .

 $\Delta(NH_3-N)_N = N$ amoniacal oxidado por actividad nitrificante (mg N/L) en cada ciclo operativo.

 $\Delta(NH_3-N)_X$ es equivalente a la cantidad de N de la biomasa eliminada del reactor, en condiciones estables, a través de la purga de lodos:

$$\Delta \left(NH_{3} - N \right)_{X} = \left(\frac{1}{a} y_{NX} b X_{A} PV \right) / V$$
(3)

 X_A (biomasa activa, mg X_A/L)= Sólidos suspendidos volátiles (mg/L) – Reservas (PHA + glucógeno, mg/L) al final de la fase de reacción; a= 24.6 mg X_A/C -mmol (Fórmula elemental de la biomasa= CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2}); $y_{N/X}$ = coeficiente estequiométrico que relaciona el contenido de N y C de la biomasa (0.2 mmol N/C-mmol X_A); b= 14 mg N/mmol N; PV= volumen de purga de lodos (L) por ciclo, V= volumen de trabajo (L) de cada reactor.

La remoción de N por NDS (%NDS), la remoción de amoníaco (%NH₃-N_R) y la remoción de N inorgánico (%Ni_R) se estimaron de la siguiente manera:

$$\text{% NDS} = \left(\frac{\Delta(NH_{3}-N)_{N} - \Delta(NO_{X}-N)}{\Delta(NH_{3}-N)_{N}}\right) 100 \qquad \text{(4)} \qquad \text{% NH}_{3} - N_{R} = \left(\frac{(NH_{3}-N)_{O} - (NH_{3}-N)_{F}}{(NH_{3}-N)_{O}}\right) 100 \qquad \text{(5)}$$

$$\text{% Ni}_{R} = \left(\frac{Ni_{O} - Ni_{F}}{Ni_{O}}\right) 100 \qquad \text{(6)}$$

 $(NH_3-N)_0$ y $(NH_3-N)_F$ = N amoniacal (mg NH₃-N/L) al inicio y final del ciclo respectivamente; Ni₀ y Ni_F= N inorgánico (Ni, mg N/L) al inicio del ciclo y en el efluente de los SBR (Ni= NH₃-N + NO₂⁻-N + NO₃⁻-N).

Resultados y discusión Remoción de N y C en reactores. Balances de masa y eficiencia de remoción de N

En el SBR_L, de lodos activados la nitrificación comenzó al inicio de la fase aeróbica. El nitrato producido comenzó a eliminarse por desnitrificación, después que se eliminó el 100% del amonio, utilizando PHB (sintetizado en fase anóxica). El nitrato final fue 4.0 mg NO₃-N/L (Fig. 1A). La concentración de biomasa fue 2080 mg DQO_B/L. En fase anóxica, la tasa de transferencia de O₂ (TTO, mg O₂/(L.h)) se estimó en ausencia de biomasa:

$$TTO = \frac{dCOD}{dt} = k_L a \left(COD^* - COD \right)$$
⁽⁷⁾

COD*= concentración de saturación de O₂ en agua (mg O₂/L) a 25°C (8.11 mg O₂/L), COD= concentración (mg O₂/L) en el tiempo t. Se estimó k_La = 2.63/h en el reactor (25°C, 100 rpm, sin aireación). Para COD= 0 (fase anóxica) se obtuvo TTO= 21.3 mgO₂/(L.h) (ec. (7)).

En presencia de biomasa, se debe cumplir el equilibrio dCOD/dt= TTO-OUR. Durante fase anóxica, con valores de OD de cero, resulta OUR= TTO= $21.3 \text{ mg O}_2/(\text{L.h})$).

En fase aeróbica, OUR aumentó rápidamente, lo cual se atribuyó a la nitrificación y a la degradación de PHB para crecimiento heterótrofo. Luego, OUR disminuyó (Fig. 1 A).

En SBR_{G(A-C/N)} granular, la nitrificación comenzó al inicio del ciclo. Nitrato comenzó a acumularse después de 2-3 hs desde el inicio de la fase de inanición y aumentó hasta 35 mg NO₃⁻-N/L (Fig. 1B). La concentración de biomasa fue 1.9 g ST/L. OUR aumentó gradualmente desde el comienzo del ciclo hasta 2.5 hs, atribuido a la actividad heterótrofa y nitritación (oxidación de amoníaco a nitrito). Luego, OUR disminuyó hasta el final del ciclo (Fig. 1 B). En el SBR_L, la fracción de N nitrificado fue mayor a la fracción asimilada para una baja relación DQO/N (SBR_{L(B-C/N)}). En SBR_G, la mayor parte del N fue nitrificado para ambas condiciones. La reserva de C intracelular, generada en feast, por masa de N oxidado (PHB/NH₃-N_{OX}) para SBR_L fue significativamente mayor al valor correspondiente a SBR_G (PHB/NH₃-N_{OX} + Glu/NH₃-N_{OX}). En el SBR_G ocurrió NDS, lo que permitió optimizar las reservas de C intracelular para la desnitrificación. En el SBR_L, la desnitrificación ocurrió luego de la nitrificación y se logró remoción de Ni mayor a la obtenida en SBR_G (Tabla1).



Fig. 1: DQO_s, N, OUR y ORP a lo largo de un ciclo de los SBR en estabilidad. A) SBR_{L(A-C/N)}, B) SBR_{G(A-C/N)}. DQOs (\bullet), NH₃-N (\circ), NO₃⁻-N/L (\Box), NO₂⁻-N/L (\blacktriangle), OUR (Δ), ORP (X)

Γabla 1: Parámetros operativos	y eficiencia de remoción de N de SBRs
--------------------------------	---------------------------------------

Parámetros	SBR _{L(B-C/N)} 100:10	SBR _{L(A-C/N)} 100:7.5	SBR _{G(B-C/N)} 100:15	SBR _{G(A-C/N)} 100:10
Carga DQO (mg DQO/(L.día))	440	585	600	600
Carga N (mg N/(L.día))	44	44	90	60
Remoción amonio (%)	99 ± 1ª	99 ± 1ª	100 ^a	100 ^a
Asimilación (%)	24.9 ± 2.4^{a}	53.5 ± 1.0^{b}	20.2 ± 5.6^{a}	25.0 ± 5.5^{a}
Nitrificación (%)	75.1 ± 2.4ª	46.5 ± 1.0 ^b	79.8 ± 8.6^{a}	75.0 ± 5.6^{a}
PHB/NH ₃ -N _{ox} (mg DQO/mg NH ₃ -N _{ox})	10.6	24,0	0.7	1,9
Glu/NH ₃ -N _{ox} (mg DQO/mg NH ₃ -N _{ox})			1.8	1,5
Ng (mg/L)	6.6 ± 0.4^{a}	3.9 ± 0.2^{b}	$38.8 \pm 7.7^{\circ}$	25.9 ± 3.3°
NDS (%)	0.0 ^b	0,0 ^b	53.8 ± 5.0ª	55.6 ± 3.2ª
Denitrificación (%)	54.4 ± 1.5ª	49.3 ± 1.2^{a}	0.0 ^b	0.0 ^b
Remoción de N inorgánico (%)	67 ± 2ª	70 ± 4^{a}	48.5 ± 0.9^{b}	51.6 ± 4.8^{b}

Modelo de difusión de oxígeno y procesos biológicos potenciales de remoción de N

Se propuso un modelo de estado estacionario de difusión de O_2 para flóculos de LA y GA para determinar los perfiles de oxígeno. Se aplicó la segunda ley de Fick asumiendo: i) geometría esférica (radio= R) para flóculos y gránulos en reactores de estado estacionario, ii) consumo microbiano de oxígeno (q_{O2}, mg $O_2/(cm^3.h)$) de orden cero. Se propuso la siguiente ecuación diferencial:

$$DO_2 \frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dC}{dr} \right) = q_{02}$$
(8)

donde D_{O2} es el coeficiente de difusión de oxígeno (m²/s), r es la coordenada dentro de la partícula (flóculo o gránulo, mm), C es la concentración de oxígeno (mg O₂/cm³). Derivando en la ec. (8) se obtuvo la siguiente expresión:

$$DO_{2}\left(\left(\frac{d^{2}C}{dr^{2}}\right) + \left(\frac{dC}{dr}\frac{2}{r}\right)\right) = q_{02}$$
(9)

Se consideraron las siguientes condiciones de contorno: condición de simetría en el centro (r=0) del flóculo y del gránulo (Ec. 10) y concentración de oxígeno en la superficie tanto del flóculo como del gránulo coincidente con la de la solución "bulk" (Ec. 11):

$$\frac{dC}{dr} = 0 \text{ en } r = 0 \qquad (10) \qquad C_s = C_B \text{ en } r = R \text{ (interfase líquido-partícula)} \qquad (11)$$

donde C_B es la concentración de O₂ en la superficie de la partícula siendo C_B= 5.5×10^{-3} mg O₂/cm³ para el reactor de LA y 7.5×10^{-3} mg O₂/cm³ para el reactor granular.

Resolviendo la ecuación diferencial Ec. 9 se obtuvo la siguiente expresión:

$$C = C_{B} - \frac{q_{02}(R^{2} - r^{2})}{6 DO_{2}}$$
(12)

La Ec. (12) permite determinar las concentraciones del perfil de oxígeno en flóculos y gránulos esféricos en condiciones de estado estacionario. q_{O2} se determinó experimentalmente (mg O₂/(g SSV.h)) y se convirtió a mg O₂/(cm³.h). Para bioflóculos y gránulos se utilizó una densidad de biomasa= 50 mg/cm³ y un coeficiente de difusión de oxígeno D_{O2}= 1.1863×10⁻⁹ m²/s. Se determinaron que los radios de los flóculos y gránulos aerobios se encontraban en los siguientes rangos: 9-172 µm (SBR_{L(A-C/N)}), 8-800 µm (SBR_{G(B-C/N)}) y 5-475 µm (SBR_{G(A-C/N)}) con radio medio de 38.7, 600 y 200 µm respectivamente.

Se realizaron simulaciones considerando el tamaño mínimo, máximo y promedio de flóculos y gránulos. Se simularon perfiles de O_2 considerando dos condiciones del ciclo: i) q_{02} máxima, ii) q_{02} promedio para el período con desnitrificación (Fig. 2).

En SBR_{L(A-C/N)}, los perfiles de oxígeno mostraron condiciones aeróbicas desde la superficie del flóculo hasta el centro (Fig. 2 A, B), lo cual implica baja probabilidad de ocurrencia de zona anóxica dentro del flóculo. En los SBRs granulares, se desarrollaron zonas anóxicas internas en 80% de los gránulos aerobios en SBR_{G(B-C/N)} y 18% en SBR_{G(A-} $_{C(N)}$. La Fig. 3 (A,B) muestra las predicciones de concentración de O₂ en el centro de flóculos y gránulos. En el sistema granular, para q₀₂ baja, la concentración de O₂ en el centro de los gránulos disminuve gradualmente a medida que aumenta el tamaño granular; se observa una marcada disminución a valores más altos de q₀₂. Esto implica que el impacto del tamaño granular en la profundidad de penetración del O₂ es mucho mayor con actividades respiratorias específicas altas que con valores bajos de q₀₂. Este comportamiento también se observó en el reactor con flóculos pero de forma menos pronunciada. En SBR_{G(A-C/N)}, 82% de la biomasa no desarrolló zona anóxica a lo largo del ciclo según el modelo de difusión (Fig. 2 E,F). Algunos de los organismos potencialmente funcionales detectados por análisis genómico fueron: Zoogloea (43.2%), Dechloromonas (8.1%), Diaphorobacter (4.2%), Thauera (3.8%) y Flavobacterium (1.9%). Los nitrificadores autótrofos mostraron baja abundancia (<0.8%). La oxidación de amonio puede haber sido realizada por nitrificantes heterótrofos Diaphorobacter, Thauera y Flavobacterium en zonas aeróbicas de los gránulos. DA probablemente fue impulsada por Zoogloea, Thauera e Hydrogenophaga. Zoogloea y Thauera también pueden estar presentes en la pequeña zona anóxica de los GA, junto con Dechloromonas y Diaphorobacter, reduciendo nitrito/nitrato. La NHDA fue probablemente el principal proceso responsable de la remoción de N.

En el SBR_{G(B-C/N)}, 80% de los gránulos desarrollaron una zona anóxica interna a lo largo del ciclo operativo (Fig. 2 C,D). Se puede inferir que en el SBR_{G(B-C/N)}, el mayor desarrollo de la zona anóxica en gránulos más grandes podría explicar la mayor actividad desnitrificante para igual carga orgánica (N_G 50% mayor respecto a SBR_{G(A-C/N)}, Tabla 1), con prevalencia de desnitrificación anóxica sobre DA, lo que permitió tratar un efluente con relación DQO:N más baja obteniendo similar remoción de Ni.

El SBR_L anóxico/aeróbico, para la misma relación DQO:N (100:10), logró mayor remoción de Ni que el SBR_G (Tabla 1). La fase anóxica inicial favoreció el almacenamiento de PHA intracelular para la posterior desnitrificación aeróbica en flóculos de LA totalmente aeróbicos.



Fig. 2: Perfiles de O₂ simulados en función del radio adimensional en flóculos LA del SBR_{L(A-C/N)} (A y B); en gránulos del SBR_{G(B-C/N)} (C y D); en gránulos del SBR_{G(A-C/N)} (E y F) con diferentes tamaños y q_{O2} (mg O₂/(g SSV.h)): máximos (A, C y E) y promedios (B, D y F).



Fig. 3: Superficie 3D para la concentración de oxígeno (O₂, mg O₂/L) en el centro de flóculos y gránulos en función del radio del agregado microbiano (μm) y la tasa específica de consumo de oxígeno (q₀₂, mg O₂/(g SSV.h)). A) Flóculos de lodos activados; B) Gránulos.

Conclusiones

En SBR granular, el desarrollo de gránulos grandes y alta actividad respiratoria específica conducen al desarrollo de grandes zonas anóxicas dentro de los gránulos, lo cual favorece la desnitrificación anóxica permitiendo el tratamiento de una mayor carga de N (DQO/N= 100:15) con eliminación de N inorgánico (Ni) de 50%. En SBR de lodo activado (SBR_L), se requiere una etapa anóxica inicial para acumular PHB, utilizado como poder reductor en la desnitrificación en la etapa aeróbica final con flóculos completamente aeróbicos. El SBR_L con igual relación DQO:N (100:10) logró mayor remoción de Ni (67%) que SBR_G (51,6%).

Bibliografía

- Meng F, Wang Y, Huang LN, Li J, Jiang F, Li S y col. (2013) A novel nonwoven hybrid bioreactor (NWHBR) for enhancing simultaneous nitrification and denitrification. Biotechnol Bioeng 110:1903–1912.

- Guo J, Peng Y, Wang S, Zheng Y, Huang H, Wang Z. (2009) Long-term effect of dissolved oxygen on partial nitrification performance and microbial community structure. Bioresour Technol 100:2796–2802.

- Figueroa M, Val del Río A, Morales N, Campos JL, Mosquera-Corral A, Méndez R (2009) Nitrogen removal in aerobic granular systems (Capítulo XIII), en Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution, editados por Cervantes FJ. IWA Publishing, London, UK, pp. 373–401 (2009).

- Nancharaiah YV, Reddy GKK (2018) Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. Bioresour. Technol. 247:1128–1143.

- Layer M, Garcia Villodres M, Hernandez A, Reynaert E, Morgenroth E, Derlon N (2020) Limited simultaneous nitrification-denitrification (SND) in aerobic granular sludge systems treating municipal wastewater: mechanisms and practical implications. Water Res X 7:100048.

- Third KA, Burnett N, Cord-Ruwisch R. (2003). Simultaneous nitrification and denitrification using stored substrate (PHB) as the electron donor in an SBR. Biotechnol Bioeng 83:706–720.

- Lei X, Jia Y, Chen Y, Hu Y (2019) Simultaneous nitrification and denitrification without nitrite accumulation by a novel isolated *Ochrobactrum anthropic* LJ81. Bioresour Technol 272:442–450.

- Venkateswar Reddy M, Nikhil GN, Venkata Mohan S, Swamy YV, Sarma PN (2012) *Pseudomonas otitidis* as a potential biocatalyst for polyhydroxyalkanoates (PHA) synthesis using synthetic wastewater and acidogenic effluents. Bioresour Technol 123:471–479.