

REMOCIÓN SIMULTÁNEA DE NITRÓGENO Y CARBONO ORGÁNICO UTILIZANDO UN SBR GRANULAR AERÓBICO

Bucci Paula¹, Caravelli Alejandro¹, Zaritzky Noemí^{1,2}

¹ CIDCA, CONICET, CIC, Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Exactas.

² Facultad de Ingeniería, Univ. Nacional de la Plata. buccipaula@hotmail.com.

INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales (AR) industriales presentan una gran cantidad de contaminantes que tienen una acción muy compleja sobre el medio ambiente, afectando el desarrollo natural de los ecosistemas. La descarga de efluentes en cuerpos de agua receptores puede generar alteraciones físicas (temperatura, color, densidad, suspensiones, radiactividad, etc.), químicas (composición, sustancias disueltas, etc.), o biológicas, afectando negativamente su calidad ecológica. La descarga de efluentes con elevadas concentraciones de nitrógeno es indeseable, ya que causa excesiva demanda de oxígeno en cuerpos de agua receptores, tiene un efecto tóxico sobre peces y otros organismos, causa eutrofización en ríos y lagos e incrementa la formación de nitrosaminas, un compuesto carcinogénico (Dapena et al., 2006). Esta problemática presenta una gran relevancia a nivel mundial. Como consecuencia de este gran problema, se han propuesto métodos de tratamiento de aguas residuales que involucran microorganismos nitrificantes, debido a que estos son económicos, eficientes y no generan subproductos contaminantes (López et al., 2008). La remoción biológica de nitrógeno básicamente implica la conversión aerobia de amonio a nitrato (nitrificación) y la conversión anóxica de nitrato en gas nitrógeno (desnitrificación). La nitrificación se realiza por bacterias nitrificantes autótrofas, las cuales son aerobias obligadas (*Nitrosomonas* y *Nitrobacter*) (Liu y Tay, 2006).

Numerosas industrias generan efluentes conteniendo compuestos altamente tóxicos como por ejemplo fenol, además de altas concentraciones de nitrógeno, entre ellas se destacan las petroquímicas, refinerías de petróleo, producción de resinas (Britto et al., 2008), farmacéuticas (Ramos et al., 2007) y producción de coque (In et al., 2014), entre otras. Por lo tanto, se requiere el desarrollo de comunidades microbianas mixtas con autótrofos y heterótrofos para la remoción conjunta de nitrógeno y compuestos orgánicos. El sistema de lodos activados constituye la solución más atractiva para el tratamiento de aguas residuales (Cozma et al., 2012), sin embargo, diferentes tóxicos producen inhibición sobre la nitrificación aún a bajas concentraciones (Amor et al., 2005). Asimismo, los flóculos formados son ligeros con gran proporción de microorganismos filamentosos, por ende, la separación de biomasa resulta poco eficiente y la descarga del efluente puede proveer también lodo activado causando un efluente turbio (McSwain et al., 2004). Una estrategia para evitar estas problemáticas consiste en el desarrollo de gránulos híbridos (bacterias heterótrofas y nitrificantes) firmes y estables utilizando una fuente de carbono fácilmente asimilable como el acetato, además de nitrógeno inorgánico, para luego alimentar el reactor de manera gradual con el efluente problema (tóxico y complejo). Por ende, estos sistemas basados en gránulos híbridos aeróbicos constituyen una buena alternativa para la remoción conjunta de múltiples contaminantes tóxicos (Adav et al., 2008) debido a que son considerados agregados microbianos esféricos, densos y compactos (Liu y Tay, 2004).

La granulación aeróbica es un proceso de auto-inmovilización microbiana sin soporte alguno, gradual que implica la progresión desde el lodo utilizado como inóculo hasta agregados compactos, lodo granular y finalmente gránulos maduros (Tay y Liu, 2001). Comparado con el lodo activado convencional (flóculos), los biogránulos aeróbicos presentan ciertas características entre las que se destacan su buena sedimentabilidad, su estructura microbiana densa y fuerte, su capacidad de remoción de múltiples contaminantes tóxicos, mayor resistencia a la toxicidad, la producción de efluentes de mejor calidad, entre otras (Liu y Tay, 2004).

Las bacterias no son propensas a agregarse naturalmente debido a las fuerzas electrostáticas de repulsión e interacciones de hidratación que existen entre ellas (Yang et al., 2004). Por este motivo, para lograr la formación de gránulos estables se requiere operar el reactor bajo determinadas condiciones operativas tales como: régimen hidráulico, que provea elevada fuerza de corte, tiempo de sedimentación corto y una etapa de inanición.

La configuración del reactor influye sobre el patrón de flujo líquido y agregados microbianos. En la mayoría de los casos informados, los gránulos aeróbicos fueron producidos en reactores tipo columna con flujo circular relativamente homogéneo, a lo largo del eje del reactor, y los agregados microbianos quedan sujetos a un constante rozamiento hidráulico. Este tipo de reactor en columna permite crear un flujo circular, producido por un elevado caudal de aire que fuerza a los agregados microbianos a adoptar una forma granular regular donde tengan en la superficie una mínima energía libre (Liu et al., 2002). A medida que se incrementa la relación altura/diámetro (H/D) existe una trayectoria de flujo circular más larga haciendo más efectivo los fenómenos de roce (Yu et al., 2004) y por ende el agregado microbiano. Las condiciones de inanición incrementan la hidrofobicidad celular facilitando la adhesión microbiana. Dichas condiciones pueden lograrse utilizando un reactor discontinuo secuencial (SBR, sequencing batch reactor) con una etapa feast/famine (alimentación /inanición) (Adav et al., 2008). Debido a que la descarga de efluentes con elevadas concentraciones de nitrógeno es indeseable, y presenta una problemática de gran relevancia a nivel mundial, en este trabajo se propone una alternativa para el tratamiento de aguas residuales que involucra microorganismos nitrificantes. El objetivo fue analizar la performance de un reactor biológico secuencial (SBR) con biomasa granular para la remoción conjunta de carbono y nitrógeno, como así también comparar la efectividad del proceso bajo dos condiciones de operación definidas por la carga volumétrica de nitrógeno. Para el estudio del SBR en ambas condiciones de operación se llevó a cabo la medición de los siguientes parámetros: concentración de biomasa, velocidad de consumo de oxígeno, eficiencia de remoción de amonio, velocidad de producción y consumo de protones, tamaño granular e índice de sedimentación volumétrica.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Reactor y condiciones operativas: El reactor discontinuo secuencial (SBR) a escala de laboratorio utilizado en este estudio, consistió en una columna de burbujeo construido en acrílico con una altura de 100 cm, un diámetro interno de 10,86 cm y un volumen total de 9,5 L. El volumen de trabajo fue de 4,6 L. El oxígeno (aire) se suministró mediante tres aireadores. El aire se distribuyó a través de seis difusores ubicados en el fondo del reactor, con el fin de garantizar un flujo helicoidal que favorezca la granulación, una mezcla completa entre el influente y los microorganismos y lograr suficiente nivel de oxígeno para que se desarrollen de forma adecuada los procesos de oxidación biológica. Se empleó un caudal de aire de $10,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Se trabajó con un medio de cultivo sintético rico en sulfato de amonio como fuente de nitrógeno, fosfato de potasio y una fuente de carbono orgánica (acetato de sodio) para favorecer el crecimiento de bacterias nitrificantes y heterótrofas. Se trabajó con condiciones de pH óptimas para el crecimiento de nitrificantes (pH= 7,5) utilizando un sistema de control automático de pH. Se redujo progresivamente el tiempo de sedimentación de los lodos, desde 20 hasta 5 minutos, favoreciendo la selección de aquellos gránulos y flóculos de alta densidad que sedimentaban rápidamente, con el objetivo de enriquecer el sistema con gránulos híbridos.

Se estudiaron dos condiciones experimentales. Inicialmente se utilizó una carga volumétrica de nitrógeno inorgánico de $60 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{día})^{-1}$, sugerida en literatura, y una relación DQO:N:P de 100:10:2 (Condición 1). Posteriormente se aumentó la carga de nitrógeno, desde $60 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{día})^{-1}$ hasta $90 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{día})^{-1}$, manteniendo iguales las concentraciones de los demás componentes, resultando una relación DQO:N:P de 100:15:2 con el objetivo de favorecer el proceso de nitrificación (Condición 2). Para ambas condiciones de trabajo el tiempo de retención celular (TRC) fue de 20 días mientras el tiempo de retención hidráulico (TRH) utilizado correspondió a 2,79 días durante todo el período de operación.

Para cada ensayo se evaluó el funcionamiento del reactor una vez alcanzadas las condiciones de estabilidad, las cuales estuvieron determinadas por medición del tamaño granular y el índice de sedimentación volumétrica. El funcionamiento del SBR se evaluó mediante la determinación de los siguientes parámetros: concentración de biomasa, velocidad de consumo de oxígeno, velocidad de consumo de amonio, eficiencia de remoción de amonio, velocidad de producción y consumo de protones, tamaño granular e índice de sedimentación volumétrica.

Métodos analíticos: determinaciones de demanda química de oxígeno. La demanda química de oxígeno soluble (DQOs) fue determinada para muestras filtradas ($< 0,45 \mu\text{m}$). DQOs fue utilizada como medida de la concentración de sustrato orgánico presente en cada sistema. La DQO correspondiente a la biomasa (DQOb) se obtuvo a partir de la diferencia entre DQO total (licor de mezcla sin filtrar) y DQOs. Las determinaciones de DQO se llevaron a cabo empleando un kit comercial (HACH, método 8000), el cual se encuentra aprobado por la USEPA para el análisis de aguas residuales. Éste método presenta un rango de medida comprendido entre 0 y 1500 mg.L^{-1} DQO y una desviación estándar de $2,7 \text{ mg.L}^{-1}$.

Determinación de biomasa: La concentración de biomasa (X) presente en el SBR fue también determinada como sólidos totales (ST). Para ello, en primer lugar, se tomó un volumen (V_M , mL) del licor de mezcla del reactor y fue colocado en tubos de vidrio de peso conocido (m_0 , g), y centrifugados (10 minutos a 3000 rpm). Luego que se descartó el sobrenadante, el pellet fue resuspendido en agua destilada y centrifugado nuevamente. Este proceso de lavado fue realizado dos veces. Posteriormente, los tubos conteniendo el pellet se colocaron en estufa ($105 \text{ }^\circ\text{C}$) durante un período de 24 horas con el fin de eliminar el agua remanente. Finalmente, se pesaron los tubos con las muestras (m_1 , g) y la concentración de biomasa (X, g ST.L^{-1}) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$X = \frac{m_1 - m_0}{V_M} \quad (1)$$

Los valores de biomasa obtenidos como ST fueron correlacionados con las medidas de DQOb.

Determinación de nitrógeno amoniacal, nitrógeno como nitrato y nitrógeno como nitrito: Las diferentes formas de nitrógeno inorgánico ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ y $\text{NO}_2^-\text{-N}$) del SBR se determinaron utilizando muestras de licor de mezcla previamente filtradas ($< 0,45 \mu\text{m}$). El $\text{NH}_4^+\text{-N}$ fue determinado mediante el método de Nessler, a partir del método HACH N° 8038. El $\text{NO}_3^-\text{-N}$ fue cuantificado por el método de la reducción por cadmio, utilizándose el método HACH N° 8039. La cuantificación de $\text{NO}_2^-\text{-N}$ fue determinada por el método de sulfato ferroso por el método HACH N° 8153.

Índice de sedimentabilidad volumétrica (ISV) y tamaño: El ISV (mL. gST^{-1}) se midió luego de un período de sedimentación del licor de mezcla de 30 minutos utilizando una probeta de 100 mL. Se determinó a partir del cociente entre el volumen ocupado por la biomasa sedimentada (V_{30} , mL.100 mL^{-1}) y la concentración de biomasa (ST, gST.100 mL^{-1}). Según bibliografía el ISV debe ser menor a 90 mL.gST^{-1} para considerar una excelente sedimentabilidad de los gránulos (Liu y Tay, 2006).

La distribución de tamaño de la biomasa (gránulos) del reactor se determinó utilizando un equipo Mastersizer E 20003.14. Este análisis se realizó a diferentes tiempos de operación determinados por el número TRC transcurridos.

Parámetros cinéticos: Las velocidades volumétricas de consumo de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ($r_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$) y consumo de DQOs (r_{DQOs}) fueron determinadas a partir de la pendiente de las curvas de decaimiento de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ y DQOs en el intervalo de tiempo 4-6 hs. Luego se calcularon las velocidades específicas de consumo de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ($q_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$) y de consumo de DQOs (q_{DQOs}) a

partir del cociente entre las velocidades volumétricas obtenidas y la concentración de biomasa (ST) del reactor. Todos los parámetros fueron determinados a diferentes TRC.

Consumo y producción de protones (H^+): La técnica de consumo y producción de protones (H^+) se implementó en el SBR con un monitoreo preciso de la dosificación de ácido (H_2SO_4) y base (NaOH) al sistema para controlar el pH en un valor determinado de 7,5. Es así como la producción/consumo de protones (HP, $mmolH^+$) pudo calcularse de acuerdo con la siguiente ecuación (2) (Guisasola et al., 2007): $HP = V_{base}C_{base} - V_{ácido}C_{ácido}$ (2), donde V_{base} y $V_{ácido}$ representan los volúmenes consumidos de las soluciones de base y ácido utilizadas (mL) y C_{base} y $C_{ácido}$ representan sus concentraciones respectivamente (M). Los valores de HP fueron determinados para intervalos de 15 minutos y expresados por unidad de volumen del reactor ($HP, mmolH^+.L^{-1}$).

Respirometría: Para determinar la velocidad de consumo microbiano de oxígeno se utilizó un respirómetro (reactor, 250 ml) conteniendo un electrodo de oxígeno, YSI Modelo 58, calibrado previamente en aire saturado de vapor de agua, un aireador y constante agitación magnética. Las medidas de oxígeno disuelto (OD) registradas por el electrodo fueron almacenadas a razón de 1dato/10segundos. Se tomaron muestras del SBR, se colocaron en el respirómetro y se aireó durante 3 minutos. Luego se detuvo la aireación y se registró el descenso de la concentración de OD en función del tiempo. La pendiente de la recta obtenida corresponde a la velocidad de respiración total ($RT, mgO_2.L^{-1}.h^{-1}$).

RESULTADOS

La biomasa obtenida en el SBR para las condiciones experimentales estudiadas fue de $2 g.L^{-1}$, la cual se mantuvo constante durante todos los TRC estudiados. El perfil de nitrificación se evaluó luego de haberse agotado el 95% del sustrato orgánico (4 horas para la Condición 1 y 6 horas para la Condición 2), debido a que la nitrificación está fuertemente influenciada por la competencia por los diferentes factores de crecimiento entre microorganismos nitrificantes y heterótrofos. En la figura 1 se puede observar que el NH_4^+-N fue completamente removido en 24 hs en la condición 1 (Figura 1a), obteniéndose una remoción del NH_4^+-N del 100%, mientras que en la condición 2 (Figura 1b) se logró una remoción del 80% del NH_4^+-N (Tabla 1).

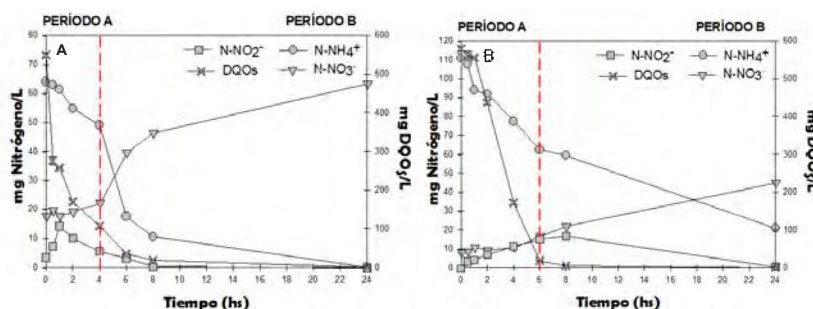


Figura 1: Perfil del $N-NH_4^+$ (•), $N-NO_3^-$ (▼), $N-NO_2^-$ (■), DQOs (x) a lo largo de un ciclo de operación. A) Condición 1 B) Condición 2 (Para una mejor interpretación de resultados se exponen los resultados pertenecientes sólo a un ciclo).

Asimismo, se puede observar un incremento continuo en la concentración de $NO_3^- -N$ para ambas condiciones. Respecto a la concentración de $NO_2^- -N$, se observa acumulación durante la primera hora del ciclo operativo para la Condición 1 y las primeras 8 horas del ciclo para la Condición 2. Posteriormente, la concentración de nitrito disminuye hasta niveles no detectables a las 8 hs y 24 hs para las condiciones 1 y 2 respectivamente (Figura 1a y b). El nitrato ($NO_3^- -N$) generado representó aproximadamente un 70% y 40% del nitrógeno amoniacal removido para las condiciones 1 y 2 respectivamente. El nitrógeno restante fue removido por asimilación heterotrófica. Estos resultados indican un exitoso proceso de

nitrificación a partir de la transformación de amonio en nitrito y éste a su vez en nitrato principalmente para la Condición 1 (Nitrificación completa), y en menor medida para el ensayo con mayor carga de nitrógeno (Condición 2).

En el SBR ocurrieron diferentes procesos, algunos involucrados con el consumo de protones (H^+) y otros con la producción de los mismos (H^+). En la figura 2 se puede observar que entre las primeras tres y cuatro horas para la Condición 1 (figura 2a) y cinco y seis horas para la Condición 2 (figura 2b) de comenzado el ciclo hay un consumo de H^+ , debido a la remoción de la fuente de carbono (CH_3COONa) por parte de los microorganismos heterótrofos. Cabe destacar que el acetato se encuentra disociado conforme a la siguiente ecuación: $ACH \rightleftharpoons AC^- + H^+$ (3) y que el consumo microbiano de la forma no disociada (ACH) desplaza la reacción hacia la izquierda, explicando el consumo de H^+ observado. Si bien el consumo microbiano de amoníaco genera producción de H^+ , a partir del ión amonio, este proceso es muy poco significativo (Guisasola et al., 2007). De esta manera, el consumo de H^+ predomina sobre su producción. Luego de este período se observa una continua producción de H^+ (aumento de HP) para ambas condiciones, asociado principalmente al proceso de nitrificación: $NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow NO_3^- + 2H^+ + H_2O$ (4), generación de CO_2 por actividad heterótrofa seguido de disociación del ácido carbónico formado, y en menor medida al consumo de amonio. Cabe destacar que los dos estudios realizados presentan un perfil similar, debido a que los procesos llevados a cabo son similares.

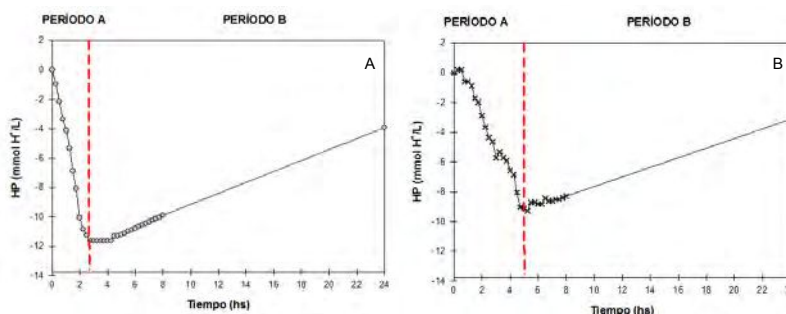


Figura 2: Producción y consumo de H^+ : A) condición 1, B) condición 2.

En la Tabla 1 se presentan los diferentes parámetros cinéticos de los procesos biológicos y las propiedades físicas de la biomasa del SBR para los ensayos realizados. La velocidad específica de consumo de NH_4^+-N para las condiciones 1 y 2 fue similar. El tamaño medio de los gránulos híbridos formados en el SBR fue de 0,4 mm (Condición 1) y 0,7 mm (Condición 2), encontrándose dentro del rango de tamaño informado en literatura 0,2 - 5 mm (Liu y Tay, 2004) El ISV estuvo en ambos estudios por debajo de 90 mL.gST^{-1} , lo cual indica una buena sedimentabilidad de los gránulos (Liu y Tay, 2006). (Tabla 1).

TABLA 1: Eficiencia de remoción de N, parámetros cinéticos, diámetro granular e ISV.

Parámetros estudiados	Condición 1	Condición 2
DQO:N:P	100:10:2	100:15:2
Carga volumétrica de nitrógeno ($\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$)	60	90
Tamaño granular promedio (mm)	0,4	0,7
ISV ($\text{mL} \cdot \text{gST}^{-1}$)	20	9
$r_{NH_4^+-N}$ ($\text{mg } NH_4^+-N \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$)	4,1	4,75
$q_{NH_4^+-N}$ ($\text{mg } NH_4^+-N \cdot (\text{gST} \cdot \text{h})^{-1}$)	2,05 (0,31)	2,37 (0,38)
r_{DQOs} ($\text{mg DQOs} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$)	286	212
q_{DQOs} ($\text{mg DQOs} \cdot (\text{gST} \cdot \text{h})^{-1}$)	150 (12,2)	106 (9,4)
q_{O_2} ($\text{mg } O_2 \cdot (\text{gST} \cdot \text{h})^{-1}$)	20 (0,05)	12 (0,23)
% remoción de NH_4^+-N	100	80

CONCLUSIONES

En el SBR aeróbico tipo columna se logró la formación de gránulos híbridos con excelentes propiedades de sedimentación. Se compararon dos sistemas con diferentes cargas volumétricas de nitrógeno (N) amoniacal (60 y 90 mgN.(L día)⁻¹). Se logró una completa remoción de carbono orgánico en ambos sistemas. Se obtuvieron remociones de amonio del 100% y 80% para las condiciones de baja y alta carga de N respectivamente. La velocidad específica de remoción de amonio no dependió de la carga de N. Los procesos ocurridos en el SBR (consumo de sustrato orgánico, nitrificación y producción heterótrofa de CO₂) fueron corroborados con el consumo/producción de H⁺ (HP). Los perfiles de HP observados permitirían detectar, de manera sencilla, fallas en los procesos biológicos descritos sin la necesidad de realizar determinaciones analíticas de los parámetros químicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Adav, S. S.; Lee, D.J.; y Tay, J.-H. (2008). Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule, *Water Research*, 42(6–7), 1644–50.
- Amor, L. y otros tres autores (2005). Phenol biodegradation and its effect on the nitrification process, *Water Research*, 39(13), 2915–2920.
- Arrojo, B., y otros tres autores (2004). Aerobic granulation with industrial wastewater in sequencing batch reactors. *Water Research*, 38(14–15), 3389–99.
- Britto, J. M. y otros tres autores (2008). Catalytic wet peroxide oxidation of phenol from industrial wastewater on activated carbon, *Catalysis Today*, 133–135(1–4), 582–587.
- Chen, F. Y. y otros tres autores (2015). Rapid formation of nitrifying granules treating high-strength ammonium wastewater in a sequencing batch reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(10), 4445–4452.
- Cozma, P. y otros cinco autores (2012). Aerobic biodegradation of phenol by activated sludge in a batch reactor, *Environmental Engineering and Management Journal*, 11(11), 2053–2058.
- Dapena A.; Campos J.L.; Mosquera A. M. R. (2006). Anammox process for nitrogen removal from anaerobically digested fish canning effluents, *Water Science and Technology*, (53), 265–274.
- Guisasola, A. y otros cinco autores (2007). On-line monitoring of the enhanced biological phosphorus removal process using respirometry and titrimetry, *Biochemical Engineering Journal*, 35(3), 371–379.
- In, X. U. J. y otros cinco autores (2014). Enhancing Nitrogen Removal in Coking Wastewater Treatment by Activated Sludge Process : Comparison of Sodium Acetate , Methanol and Phenol as External Carbon Source for Denitrification, *Assian Journal of Chemistry*, 26(1), 205–208.
- Liu, Y.; y Tay, J. (2006). Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge, *Journal of Biotechnology*, 124, 338–346.
- Liu, Y.; y Tay, J. H. (2004). State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment, *Biotechnology Advances*, 22(7), 533–563.
- Liu Y, T. J. (2002). The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge, *Water SA*, (36), 1653–65.
- López, J. Q. y F. (2008). Sewage treatment by activated sludge at laboratory scale, *Revista de Tecnología*, 7(2), 21–28.
- McSwain, B. S.; Irvine, R. L.; y Wilderer, P. A. (2004). The effect of intermittent feeding on aerobic granule structure, *Water Science and Technology*, 49(11–12), 19–25.
- Metcalf, E. (2003). Implication of Using Different Carbon Sources for Denitrification in Wastewater Treatments, Mc Graw Hill, New York.
- Nazih K. S. (2012). Interactions of Temperature, pH, and Biomass on the Nitrification Process. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, Vol. 58, No. 1 (Jan., 1986), pp. 52-59.
- Niel, E. y otros tres autores (1993). Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat culture, *Microbiology Ecology* 102 (1993) 1119-118.
- Ramos, A. F. y otros tres autores (2007). Biological nitrogen and phenol removal from saline industrial wastewater by submerged fixed-film reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 142(1–2), 175–183.
- Tay, J.H.; Liu, Q.S.L.Y. (2001). Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, a(91), 168–75.
- Yang, S. y otros tres autores. (2004). Growth kinetics of aerobic granules developed in sequencing batch reactors, *Letters in Applied Microbiology* 2004, 38, 106–112
- Zeng, R. J.; Lemaire, R.; y Yuan, Z. (2003). Denitrification , and Phosphorus Removal in a Lab-Scale Sequencing Batch Reactor.