

# Eliminació simultània de fòsfor i nitrogen en aigües residuals, utilitzant microorganismes DPAO en un reactor discontinu seqüencial (SBR)

Autor: Anna Artigues Agramunt

Directors: Albert Guisasola Canudas i Mar Vargàs Prats

*Paraules claus: EBPR, SBR, DPAO, nitrogen, fòsfor*

## Resum

---

En aquest estudi es realitzà eliminació biològica simultània de fòsfor i nitrogen en un Reactor Discontinuo Seqüencial (SBR), el qual conté una biomassa enriquida amb Organismes Desnitritificadors Acumuladors de Fòsfor (DPAO) que utilitzen com a única font de carboni l'àcid propiònic i com acceptors d'electrons: nitrit en la fase anòxica i oxigen en l'aeròbica. L'SBR opera amb cicle de 8 h alternant fase anaeròbica, anòxica i aeròbica. El seguiment del sistema es realitzà mitjançant mesures on-line (titrimetria) i off-line (quantificació d'àcid propiònic, nitrit i fòsfor), utilitzant l'HPLC per quantificar l'àcid propiònic i cromatografia iònica per les mesures de nitrit i fòsfor. Amb aquest sistema es pretén augmentar la captació de fòsfor en la fase anòxica fet que s'aconseguí realitzant diferents canvis al reactor per tal de maximitzar el consum de nitrit en aquesta fase, ja fos allargant el temps de fase o augmentant la concentració de biomassa. Aquest experiment ha suposat un augment de la captació de fòsfor ( $33 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ ), de l'eliminació neta de fòsfor ( $17 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ ) i de consum de nitrit ( $27 \text{ mg N-NO}_2^-$ ). Per altra banda, es pretenia veure els efectes a curt termini de l'eliminació de la fase aeròbica a partir del seguiment de 2 cicles puntuals i d'un cicle de 32 h sense fase aeròbica. En ambdós casos s'aconseguí una eliminació neta de fòsfor.

## Resumen

---

En este estudio se llevó a cabo eliminación biológica simultánea de fósforo y nitrógeno en un reactor discontinuo secuencial (SBR) el cual contenía una biomasa enriquecida con Organismos Desnitritificadores Acumuladores de Fósforo (DPAO) que utilizan como única fuente de carbono el ácido propiónico y como aceptor de electrones: nitrito en la fase anóxica y oxígeno en la aeróbica. El seguimiento del sistema se realizó mediante medidas on-line (titrimetria) y off-line (cuantificación de ácido propiónico, nitrito y fósforo), utilizando HPLC para cuantificar el ácido propiónico i cromatografía iónica para las medidas de nitrito y fósforo. Con este sistema se pretende aumentar la captación de fósforo en la fase anóxica. Para conseguirlo se realizan diferentes cambios en el sistema para maximizar el consumo de nitrito en esta fase, ya sea alargando el tiempo de fase o aumentando la biomasa. Este experimento ha supuesto un aumento de la captación de fósforo ( $33 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ ), de la eliminación neta de fósforo ( $17 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ ) y del consumo de nitrito ( $27 \text{ mg N-NO}_2^-$ ). Por otro lado, se pretendía ver los efectos a corto plazo de la eliminación de la fase aeróbica a partir del seguimiento de 2 ciclos puntuales y de un ciclo de 32 h sin fase aeróbica. En ambos casos se consiguió una eliminación neta de fósforo.

## Abstract

---

In this study, simultaneous biological phosphorus and nitrogen removal was performed in a Sequential Batch Reactor (SBR), which contained a biomass enriched with Denitrifying Phosphorus Accumulating Organisms (DPAO). These organisms are able to use propionic acid as carbon source and nitrite or oxygen as electron acceptors. The system was monitored with on-line measurements (respirometry and titrimetry) and off-line measurements (propionic acid, nitrite and phosphorus) using a HPLC and an ionic chromatography equipment. The objective of the system is to increase the amount of phosphorus uptaken under anoxic conditions. For this purpose, the system operation was modified by increasing the anoxic phase length and increasing the biomass. This experiment has resulted in the increase of phosphorus uptake (33 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L), net phosphorus removal (17 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L) and nitrite consumption (27 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). On the other hand, the short-term effect of the suppression of the aerobic phase was studied with two cycles and a period of 32 h. In both cases, net phosphorus elimination was obtained.

## Introducció

---

La directiva 91/271/CEE, sobre tractament d'aigües residuals urbanes, defineix la eutrofització com "l'augment de nutrients en les aigües, especialment els compostos de nitrogen i/o fòsfor, que provoca un creixement accelerat d'algues i espècies vegetals superiors, com a resultat dels trastorns no desitjats en l'equilibri entre els organismes presents a l'aigua i la qualitat de l'aigua a la que afecta".

Els sistemes de tractament d'eliminació de fòsfor utilitzats es basen en sistemes fisicoquímics, biològics i combinats. L'eliminació biològica de fòsfor (EBPR) consisteix en l'enriquiment de llocs actius amb Microorganismes Acumuladors de Fòsfor (PAO) els quals són capaços d'acumular major quantitat de fòsfor (5-17% del pes sec) (Satoh et al., 1992) en forma de grànuls de polifosfat que els nivells requerits per satisfer les seves necessitats biològiques (1,5-2% del pes sec). Els avantatges d'aquest sistema són la capacitat de produir un efluent amb una concentració de fòsfor menor a 2 mg P/L i una menor producció de fangs. Està acceptat com un dels sistemes més econòmics i sostenible per l'eliminació de fòsfor en aigües residuals (Metcalf i Eddy, 1995), encara que el disseny i aplicació estan poc desenvolupats com per poder optimitzar un sistema.

Els PAO requereixen primer un ambient anaeròbic amb presència de matèria orgànica fàcilment biodegradable (AGV) i un segon ambient aeròbic, tenint com acceptor d'electrons l'oxigen i amb absència de matèria orgànica. Una fracció dels PAO, anomenats DPAO són capaços d'usar compostos oxidats de nitrogen com a acceptor d'electrons i, per tant, de captar fòsfor sota condicions anòxiques. Aquest fet fa possible l'eliminació simultània de N i P utilitzant la mateixa DQO amb menys producció de fangs. A la figura 1 es pot veure l'esquema del metabolisme dels DPAO.

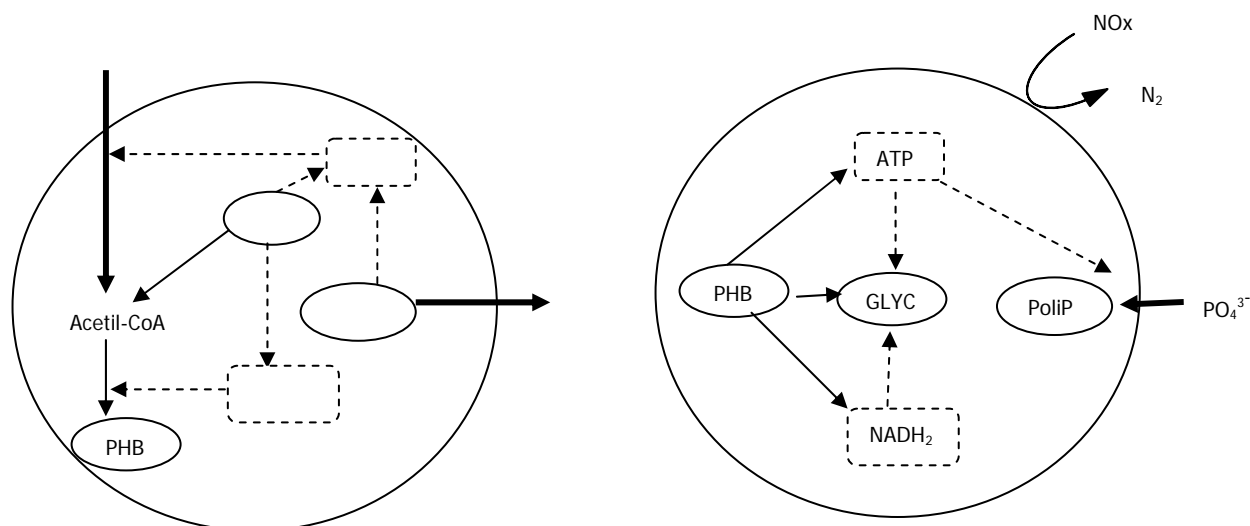


Fig.1. Esquema del metabolisme dels DPAO: a) en fase anaeròbica i b) en fase anòxica

El Reactor Discontinu Sequencial (SBR) és un sistema de tractament de fangs actius que treballa per càrregues. L'operació d'un SBR per eliminació de fòsfor consta d'etapes seqüenciades en el temps formant cicles que es repeteixen consecutivament: etapa d'omplerta, on entra l'aigua residual a tractar; etapa anaeròbica on es produeix la captació de substrat amb una consegüent alliberació de fòsfor en el medi; etapa aeròbica o anòxica on hi ha un aportació d'aire o de nitrit per aconseguir la captació de fòsfor del medi; etapa de decantació i etapa d'extracció on s'extreu el sobrenedant amb una concentració de fòsfor inferior que la concentració d'entrada.

## Objectius

Els objectius es troben integrats dins un projecte més general on es pretén millorar el disseny i operació dels processos biològics d'eliminació de nutrients en aigües residuals mitjançant la caracterització biològica i eliminació de fòsfor.

Els objectius fixats són augmentar la captació de fòsfor en la fase anòxica per tal d'esmoreir els efectes d'una futura eliminació de la fase aeròbica i provar els efectes, a curt termini, de l'eliminació de la fase aeròbica.

## Material i mètodes

La planta pilot consta d'un SBR completament monitoritzat i controlat per un PLC (Program Logic Control) (SIMATIC S7-226, Siemens) inoculat amb fang actiu enriquit amb DPAOs, utilitzant àcid propiònic com a única font de carboni i nitrit i oxigen com a acceptors d'electrons. En la figura 2 es poden veure els diferents unitats de la planta pilot.

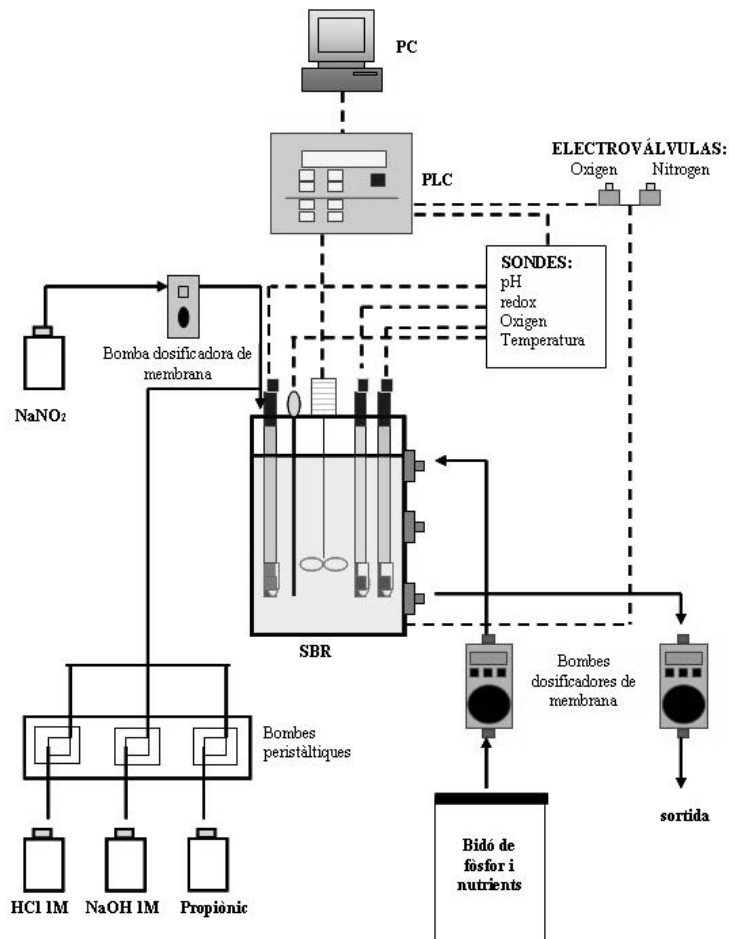


Fig 2. Esquema de les unitats que formen la planta pilot

L'SBR opera:

- En cicles de 8 hores alternant fase anaeròbia, fase anòxica, fase aeròbia, sedimentació i extracció, dutes a terme per aquest ordre.
- Amb una alimentació té lloc en els primers 5 min de la fase anaeròbia afegint al reactor 5L d'aigua sintètica (macronutrients, micronutrients i fòsfor) i àcid propiònic (entre 130 mg/L i 200 mg/L)
- Amb l'aplicació d'un flux fix de nitrogen gas per aconseguir condicions anaeròbiques i anòxiques i flux d'aire per aconseguir condicions aeròbiques.
- Mantinent temperatura constant a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH constant a  $7,5 \pm 0,05$  mitjançant l'addició HCl (1M) i NaOH (1M), temps de residència hidràulic (TRH) de 16h i un temps de residència cel·lular (TRC) de 14d.
- Amb regulació de bombes, vàlvules d'aire i  $\text{N}_2$ , agitador mecànic i recepció de les senyals analògiques de mesura (pH, redox, oxigen dissolt i temperatura) gràcies a la monitorització amb PLC.

Pel control del funcionament del sistema s'utilitzen mètodes on-line (titrimetria) i off-line (mètodes analítics). La titrimetria és una mesura indirecta de la producció total de protons (HP) d'un determinat procés. HP s'obté monitoritzant el perfil de la quantitat d'àcid i base requerida per mantenir el pH constant (equació 1). Amb els mètodes analítics es mesura àcid propiònic, nitrit,

fòsfor, SST i SSV.

$$HP = V_{BASE} \cdot C_{BASE} - V_{ACID} \cdot C_{ACID} \quad (1)$$

on la  $V_{BASE}$  i  $V_{ACID}$  són els volums acumulats d'àcid o base addicionats (ml) i  $C_{BASE}$  i  $C_{ACID}$  són les concentració de l'àcid o la base (M).

La presa de mostra depenent de la duració de cada fase. S'extreuen diferents mostres de manera esglaonada cada cert interval de temps, assegurant que es pregui mostra al temps corresponent a l'inici i final de cadascuna de les fases. Pel que fa al pretractament s'elimina la biomassa per filtració (Millex estèrils amb membrana Millipore Express PES (poliètersulfona) 0,22  $\mu\text{m}$ ), per tal d'aturar la reacció i que puguin ser analitzades. Les mostres s'han de conservar a la nevera a 4°C o bé al congelador.

L'anàlisi d'àcid propiònic es realitza amb l'HPLC Ultimate 3000 de Dionex i el software Chromoleon. L'anàlisi de nitrit i fosfat es realitza amb un cromatògraf iònic Dionex 2000 model ICS200 equipat per l'anàlisi d'anions inorgànics i amb el software Chromoleon. En les figures 3 i 4 es presenten les condicions cromatogràfiques d'ambdós mètodes.

- Columna: ZORBAX SB-C18 4,6x100 mm de 3,8  $\mu\text{m}$  de AGILENT
- Fases mòbils: Aigua Milli-Q a pH 1,41 (A) i Metanol (B). De 100% a 60% de A en 8 min
- Cabal: 0,8 ml/min
- Volum d'injecció: 100  $\mu\text{l}$
- Longitud d'ona: 210 nm
- Temperatura: 30 °C
- Temps d'anàlisi: 10min

Fig 3. Condicions cromatogràfiques de HPLC

- Columna analítica: AS19
- Precolumna: AG19
- Eluent: Hidròxid potàssic 10mM de 0 a 10 min i de 10 a 45 mM de 10 a 25 min.
- Font de l'eluent: EGC KOH Cartridge
- Cabal: 1ml/min
- Volum d'injecció: 25  $\mu\text{l}$
- Temps d'anàlisi: 33 min
- Temperatura: 30 °C
- Supressora: Anion Self-Regeneating Suppressor (ASRS ULTRA II 4mm)
- Suppressor Mode: AutoSuppression Recycle

Fig 4. Condicions cromatogràfiques de la CI

## Resultats i discussió

---

- Precedents

En estudi anterior realitzat a l'SBR es treballava amb una biomassa enriquida amb DPAO que utilitzava com a única font de carboni l'àcid propiònic i com acceptors d'electrons el nitrit i el nitrat conjuntament en la fase anòxica i oxigen en l'aeròbica. Les condicions d'operació eren cicles de 12 h amb uns temps de fase anaeròbica, anòxica i aeròbica de 120 min, 480 min i 90 min respectivament.

- **Cicle estàndard**

El cicle presentat en la figura 5 és un cicle anaeròbic-anòxic-aeròbic estàndard el qual es comentarà detingudament, per tal de facilitar la interpretació dels resultats presentats en l'estudi.

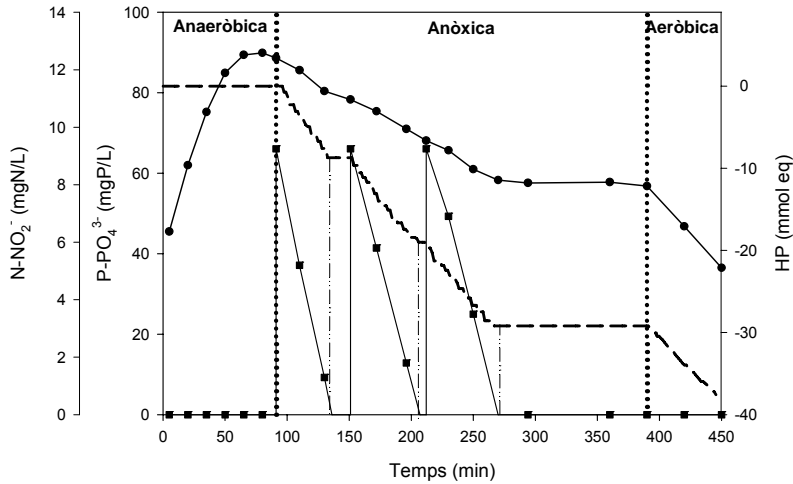


Fig. 5. Gràfic d'un cicle anaeròbic-anòxic-aeròbic estàndard del dia 11.3.08 on es presenta la concentració de nitrit, fòsfor i l'HP en funció del temps. (—●— mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L; —■— mg N-NO<sub>2</sub>; --- HP; ... Canvi de fase; —·— final del consum del pols de nitrit).

00mg/L d'àcid propiònic amb una conseqüent alliberació de 44 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L en el medi. En la *fase anòxica* es consumeixen 27 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L afegits en 3 polsos (minuts 91, 180 o 212) per evitar problemes d'inhibició per substrat amb una conseqüent captació de 32 mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L. El primer pols acaba al min 136, entre el temps 136 i 150 min no hi ha nitrit en el sistema i es pot veure com l'HP és constant en aquest període. El mateix esquema es repeteix en el segon i tercer pols. En la *fase aeròbica* es bombolleja aire al sistema per tal d'utilitzar l'oxigen com a acceptor d'electrons, captant així 20 mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L. S'obté una eliminació neta de fòsfor de 9 mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L.

- **Aplicacions de la titrimetria**

La titrimetria permet monitoritzar l'SBRs, coneixent l'estat del sistema en qualsevol moment i permeten detectar ràpidament si el sistema funciona erròniament (mal funcionament de les bombes, de l'aireació, l'excés de nitrit,...), i actuar conseqüentment, sense la necessitat d'esperar els resultats de les mesures analítiques.

Guisasola et al. (2007) i Vargas et al. (2008) descriuen la contribució en el pH del principals sub processos involucrats en el metabolisme anaeròbic-anòxic-aeròbic dels DPAO. A grans trets, en la *fase anaeròbica* l'alliberament de fòsfor suposa una acidificació del medi, al contrari que el consum d'àcid propiònic. El bombollejament de nitrogen gas provoca la desabsorció de CO<sub>2</sub> fet que provoca una pèrdua de protons i la producció de CO<sub>2</sub> (degradació del glicogen i oxidació de PHA) té l'efecte contrari. L'HP en aquesta fase augmentarà si els protons produïts degut a l'alliberament de fòsfor i la producció de CO<sub>2</sub> són superiors a als consumits degut a la captació d'àcid propiònic i la desabsorció de CO<sub>2</sub> o disminuirà si el consum de protons és superior als produïts. Durant la *fase anòxica*, el HP disminueix ja que el sistema es basifica fortament degut a la captació de fòsfor i nitrit. Quan s'acaba el nitrit i finalitza la captació de fòsfor, l'HP roman constant. En la *fase aeròbica*, la captació de fòsfor continua sent el procés amb més influència, basificant el sistema donant lloc a una disminució de l'HP.

- Període anaeròbic-anòxic-aeròbic

Durant aquest període es realitzen diferents canvis al reactor per tal d'aconseguir que la major part del fòsfor es capti en fase anòxica i, per tant, esmorteir els efectes de la futura eliminació de la fase aeròbia. Segons els canvis duts a terme s'ha separat el període anaeròbic-anòxic-aeròbic en subperíodes i s'han obtingut els següents resultats (taula 1).

Data		5.2.08	7.2.08	8.2.08	11.2.08	13.2.08	15.2.08	18.2.08	20.2.08	29.2.08
Durada cicle (h)		8	8	8	8	8	8	8	8	8
Temps fase (min)	Anaeròbica	120	120	120	120	120	90	90	90	90
	Anòxica	150	150	150	150	150	240	240	240	300
	Aeròbica	180	180	180	180	180	120	120	120	60
Concentracions inicials (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	Propiònic	100	200	200	200	200	200	200	200	130
Concentració NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> total (mg/L)		33	24	24	24	21	32	53	65	60
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	Alliberat	37	37	38	36	40	58	71	78	42
	Captat en anòxica	18	5	11	5	14	31	44	55	51
	Captat en aeròbica	24	35	29	30	49	40	41	45	13
	Eliminació neta	5	4	0	2	23	13	13	22	22
SSV (mg SSV/L)		1710	2220	2220	2597	3167	2602	2780	2707	2943

Taula 1. Resum del resultats del diferents cicles en els diferents subperíodes seguits mitjançant anàlisi químic, així com les condicions inicials del sistema.

La durada del cicle s'ha mantingut a 8 h. El temps de fase anòxica s'ha duplicat i s'ha reduït tres vegades el temps de la fase aeròbica. Aquest canvi permet una major captació de fòsfor en fase anòxica. Les concentracions d'àcid propiònic s'han anat modificant i ajustant per tal que aquest no entrés a la fase anòxica, així com per augmentar la biomassa o disminuir la quantitat de fòsfor alliberat.

A continuació es presenta un cicle de cada subperíode, per tal de veure amb més deteniment l'evolució del reactor i també comentar amb quins criteris s'han realitzat els canvis en el sistema figura 6.

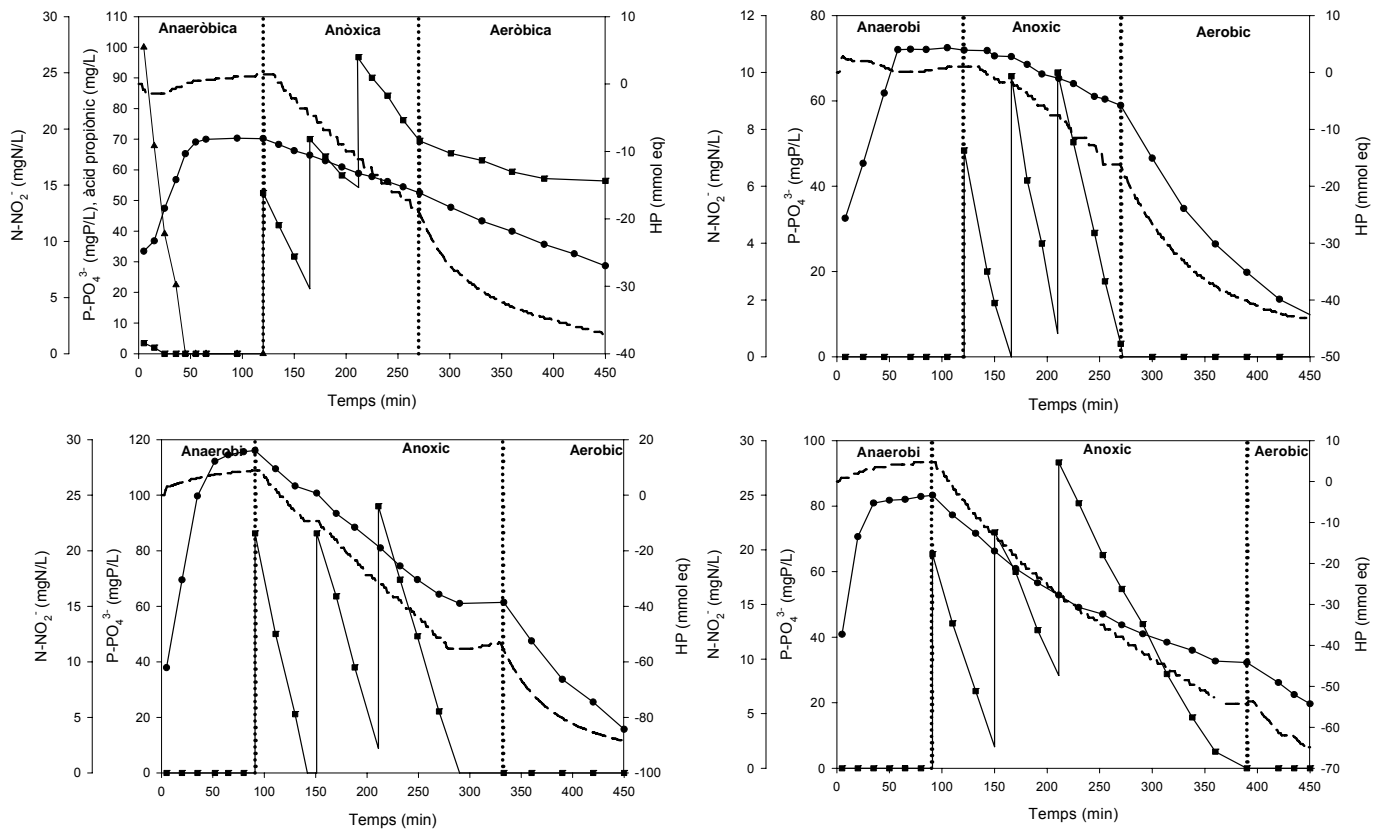


Fig 6. Gràfic de la concentració de nitrit, fòsfor i de l'HP en funció del temps del cicle dels dies 5.2.08 (A), 13.2.08 (B), 20.2.08 (C) i 19.2.08 (D) (—●— mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L; —■— mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>; --- HP; ... Canvi de fase).

En el cicle A s'observa un ràpid consum de l'àcid propiònic, s'obté una capacitat de càrrega màxima (no hi ha limitació de substrat), hi ha eliminació biològica de fòsfor (5 mg P- PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) però entra nitrit a al fase aeròbica. Vistos els resultats es decidí afavorir l'augment de la concentració de biomassa duplicant la concentració inicial d'àcid propiònic.

En el cicle B s'obté una eliminació neta de fòsfor de 23 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L i s'ha mantingut la velocitat màxima de captació en la fase aeròbica. Per maximitzar la captació de fòsfor en anòxica cal augmentar la concentració de nitrit en aquesta allargant el temps de fase. Així es reduí la fase anaeròbica 30 min i la fase aeròbica 1 hora.

Pel que fa al cicle C s'ha duplicat la velocitat d'alliberació de fòsfor i s'ha aconseguit captar més fòsfor a la fase anòxica que a la fase aeròbia, tot i mantenir la eliminació neta de fòsfor. Per augmentar la captació de fòsfor en fase anòxica i aconseguir una eliminació neta total es disminuí la quantitat d'àcid propiònic inicial i s'allargà la fase anòxica a 300 min.

Per últim en el cicle D, tot i reduir el fòsfor alliberat, l'eliminació neta continua sent de 22 mg P- PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L. Però si que s'ha aconseguit eliminar més fòsfor a la fase anòxica.

- Període anaeròbic-anòxic

En aquest període s'estudià els efectes de l'eliminació de la fase aeròbica a curt termini.



En primer lloc es realitzar el seguiment de dos cicle puntuals de 8 h en els quals s'eliminà la fase aeròbica i les concentracions inicials de fòsfor i d'àcid propiònic foren de 20 i 130 mg/L respectivament. El primer d'aquests no es va obtenir una eliminació neta de fòsfor. El segon cicle es representa en la figura 7.

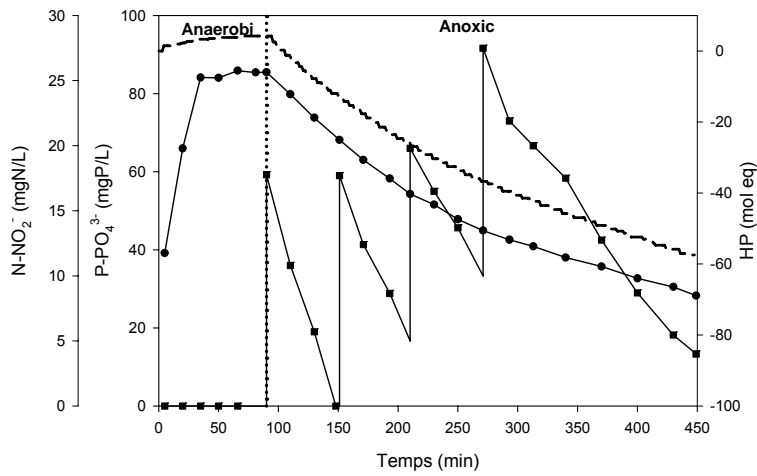


Fig 7. Gràfic de la concentració de nitrit, fòsfor i de l'HP en funció del temps del cicle del dia 4.3.08 (—●— mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L; —■— mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>; --- HP; ... Canvi de fase)

S'aconseguí una eliminació neta de fòsfor de 11 mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L consumint 70 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, fet que ens indica que els DPAO poden dur a terme la captació de fòsfor sense presència d'oxigen en un experiment puntual.

Posteriorment es realitzà un seguiment de 4 cicles consecutius abolint la fase aeròbica, per tal de veure el comportament dels DPAO al estar 32 h sense oxigen. Les condicions de fòsfor i d'àcid propiònic foren de 10 i 130 mg/L respectivament.

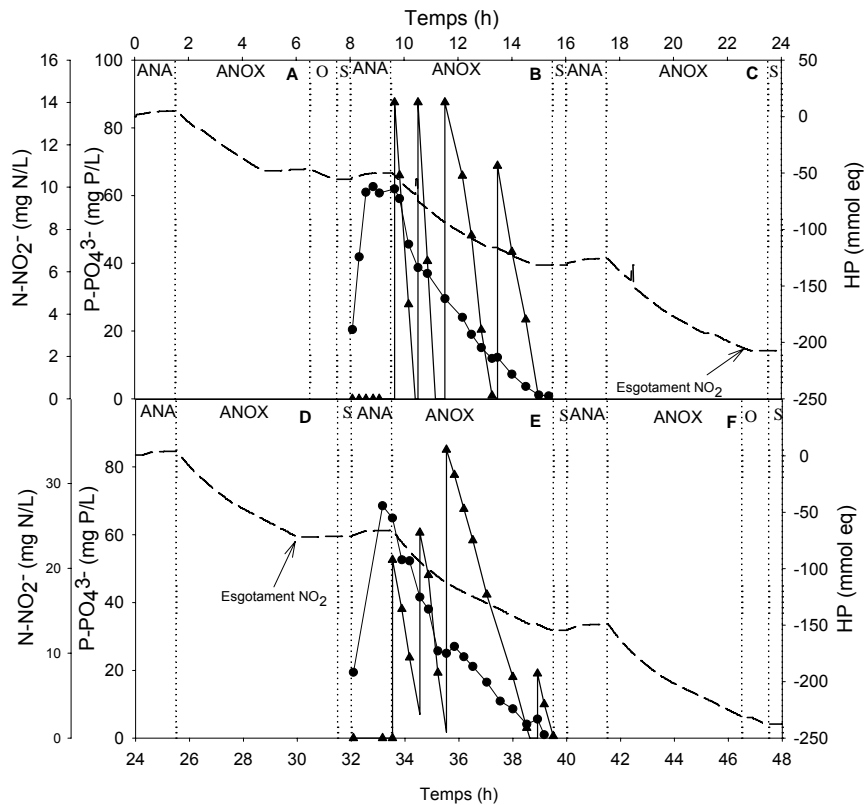


Fig.8. Gràfic de la concentració de nitrit, fòsfor i de l'HP en funció del temps dels dies 13.3.08 i 14.3.08 (—●— mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L; —■— mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>; --- HP; ... Canvi de fase)

En la figura 8, dels 6 cicles representats, dos (el B i l'E) han estat seguits amb mesures on-line i off-line i els altres a través únicament de mesures on-line. Els cicle B, C, D, E són els que romanen amb condicions anaeròbiques-anòxiques.

Al iniciar el cicle B es suprimeix la fase aeròbica deixant 360 min de fase anòxica. S'alliberen 42 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L, s'addicionen 53 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L i es capten 62 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L obtenint una eliminació neta total de fòsfor. Els cicle C i D funcionen correctament ja que en els dos casos el gràfic de l'HP segueix el seu perfil característic. Pel que fa al cicle E s'alliberen 49 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L, s'addicionen 68 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L i es capten 69 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L obtenint una eliminació neta total de fòsfor de 20 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L.

D'aquest experiment es conclou que els DPAO són capaços d'alliberar i captar fòsfor en condicions anaeròbiques-anòxiques a curt termini.

- Aportacions del projecte

Un cop finalitzat l'estudi, la recerca continuà amb estudiant el comportament dels DPAO en un sistema anaeròbic-anòxic a llarg termini (1 mes). En aquest període el sistema continuà alliberant fòsfor en la fase anaeròbica i eliminant nitrit i fòsfor simultàniament en l'anòxica.

## Conclusions

---

- L'aplicació de mesures on-line, sobretot la titrimetria, permet fer un seguiment continuat del sistema sense la necessitat d'haver d'esperar els resultats analítics per detectar qualsevol anomalia en el sistema i actuar en conseqüència amb un interval curt de temps.
- En el període anaeròbic-anòxic-aeròbic es realitzen diferents canvis al reactor per tal d'aconseguir que la major part del fòsfor es capti en fase anòxica. Per aconseguir-ho s'ha maximitzat el consum de nitrit en la fase anòxica ja fos allargant el temps de la fase o augmentant la quantitat de biomassa. Aquests canvis han permès augmentar l'eliminació de fòsfor de 33 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L en la fase anòxica, 17 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L l'eliminació neta de fòsfor i 27 mg N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L el consum de nitrit .
- En el període anaeròbic-anòxic s'estudiaren els efectes de l'eliminació de la fase aeròbica a curt termini: primer a partir de dos experiments puntuals de 8 h cadascun i posteriorment s'operà durant 32 h amb sistema sense fase aeròbica En ambdós casos s'aconseguí una eliminació neta de fòsfor.

## Bibliografia

---

GUISASOLA A., VARGAS M., MARCELINO M., LAFUENTE J., CASAS C. AND BAEZA J.A. (2007); "On-line monitoring of the enhanced biological phosphorus removal processes using respirometry and titrimetry"; *Biochem Eng J*; 35 (3), 371-379.

METCALF i EDDY (1995); "Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y reutilización"; 3 ed. McGraw-Hill, Madrid

SATOH H, MINO T, MATSUO T (1992); "Uptake of organic substrates and accumulation of

polyhydroxialcanoates linked with glycolysis of intracellular carbonhydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes”; *Water Sci Technol*; 20: 1055-1063.

VARGAS M., GUIASOLA A., LAFUENTE J., CASAS C. AND BAEZA J.A. (2008); ”On-line titrimetric monitoring of anaerobic-anoxic EBPR processes”; *Water Sci Technol.*, 57 (8), 1149-54.