



Eliminación biológica de fósforo: avances en el estudio de su deterioro por recirculación de nitrato

Javier Guerrero Camacho becario predoctoral en Departament d'Enginyeria Química, Escola d'Enginyeria, Universitat Autònoma de Barcelona

Carlota Tayà Cristel·lys investigadora postdoctoral en Departament d'Enginyeria Química, Escola d'Enginyeria, Universitat Autònoma de Barcelona

Albert Guisasola i Canudas doctor, profesor agregado interino en Departament d'Enginyeria Química, Escola d'Enginyeria, Universitat Autònoma de Barcelona

Juan Antonio Baeza Labat doctor, profesor agregado en Departament d'Enginyeria Química, Escola d'Enginyeria, Universitat Autònoma de Barcelona

La presencia de nitrato en la fase anaerobia es una de las principales causas del fallo del proceso de eliminación biológica de fósforo (EBPR) en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) urbanas. En este estudio se presentan algunas de las claves investigadas para comprender esta pérdida de actividad EPBR y también algunas soluciones para incrementar su estabilidad. Se ha podido determinar que el tipo de fuente de carbono disponible es clave para la estabilidad del proceso y también que la utilización de subproductos orgánicos de bajo coste (glicerol y metanol) puede mejorar el proceso EBPR en aguas con baja carga orgánica.

Palabras clave

EBPR, consorcio microbiano, fuentes de carbono alternativas, nitrato, planta piloto.

Biological phosphorus removal: understanding the underlying mechanisms of EBPR deterioration due to nitrate recirculation

Nitrate presence in the anaerobic phase is one of the most reported causes of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) failure in municipal wastewater treatment plants (WWTP). However, the underlying mechanisms of this failure are not fully understood yet and efficient solutions have to be provided. This work determined experimentally in a pilot plant that the nature of the carbon source plays a key role in this EBPR deterioration process. On the other hand, the feasibility of using organic low-cost byproducts (glycerol and methanol) as external carbon source was studied to enhance EBPR for WWTP facing carbon source shortages.

Keywords

EBPR, microbial consortium, alternative carbon sources, nitrate, pilot plant.



1. Introducción

La eliminación del fósforo (P) presente en las aguas residuales mediante la tecnología EBPR (*enhanced biological phosphorus removal*) se considera actualmente una de las alternativas más económicas y sostenibles para evitar la eutrofización de ríos y lagos. Este proceso se lleva a cabo por los organismos acumuladores de fósforo (*polyphosphate accumulating organisms*, PAO) en un proceso de dos etapas.

La primera etapa es anaerobia (ausencia de oxígeno, nitrato y nitrito) y en ella los PAO son capaces de acumular de manera intracelular compuestos orgánicos de cadena corta (ácidos grasos volátiles, AGV) en forma de polímeros internos de reserva (polihidroxialcanoatos, PHA). La energía necesaria para realizar esta captación y acumulación de materia orgánica se obtiene a través de la hidrólisis de las cadenas de polifosfato intracelulares que contienen estos microorganismos, liberándose así P en forma de ortofosfato al medio. La captación de materia orgánica bajo condiciones anaerobias supone una ventaja competitiva para los PAO respecto a otros microorganismos que son incapaces de asimilar efectivamente dicha materia orgánica en ausencia de un aceptor de electrones (oxígeno, nitrato o nitrito).

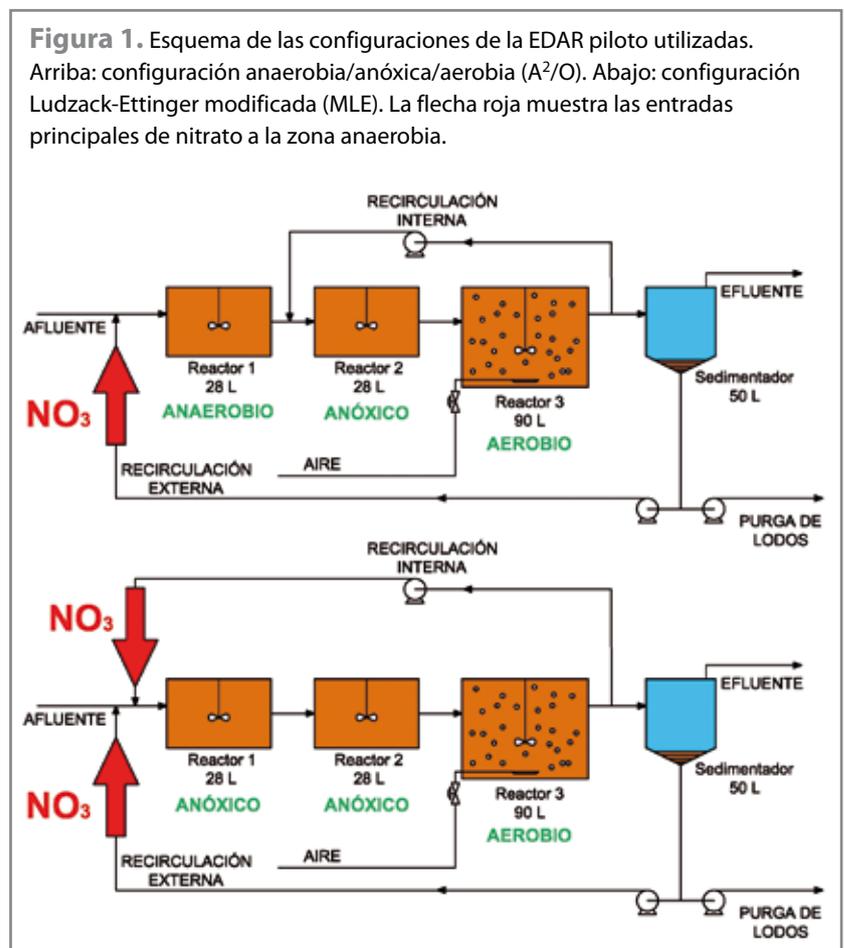
Posteriormente, en condiciones aerobias (presencia de oxígeno) o anóxicas (presencia de nitrato, nitrito o nitrato + nitrito), los PAO degradan la materia orgánica acumulada, obteniendo suficiente energía para el crecimiento y el mantenimiento celular. Parte de la energía liberada en estas condiciones se utiliza para captar ortofosfato del medio y acumularlo en forma de cadenas de polifosfato, que son utilizadas como reserva de energía utilizable en condiciones anaeróbicas.

El resultado neto de este proceso es la captación de P del agua residual, ya que el P captado bajo condiciones aerobias y anóxicas es mayor al liberado previamente en condiciones anaerobias. Finalmente, la eliminación de P del sistema se consigue gracias a la purga de estos microorganismos después de la fase aerobia, cuando sus niveles de P en forma de polifosfato intracelular son máximos.

La implementación de la eliminación biológica de P de manera simultánea con la eliminación de materia orgánica (C) y nitrógeno (N) en las EDAR permite la eliminación de nutrientes de una manera sostenible y económica. Sin embargo, a lo largo de los años se ha observado que la combinación de estos procesos en ocasiones provoca el fallo de la EBPR debido a las interacciones

que aparecen entre el metabolismo de los PAO y los procesos típicos de eliminación biológica de nitrógeno.

La principal de estas interacciones proviene de la existencia de un reactor aeróbico previo al sedimentador. En los reactores aeróbicos se realiza el proceso de oxidación biológica de amonio (nitrificación), dando lugar a nitrato. Parte del nitrato generado aeróbicamente acaba siendo recirculado al reactor anaeróbico a través de la corriente de recirculación de biomasa (recirculación externa, R_{EXT}) (Figura 1). Esta presencia de nitrato en el primer reactor, que teóricamente debería ser anaerobio, es una de las causas más ampliamente descritas de fallo del proceso EBPR en EDAR reales (Henze *et al.*, 2008) y, a pesar de su importancia, aún no se conocen perfectamente los motivos reales de este fallo.

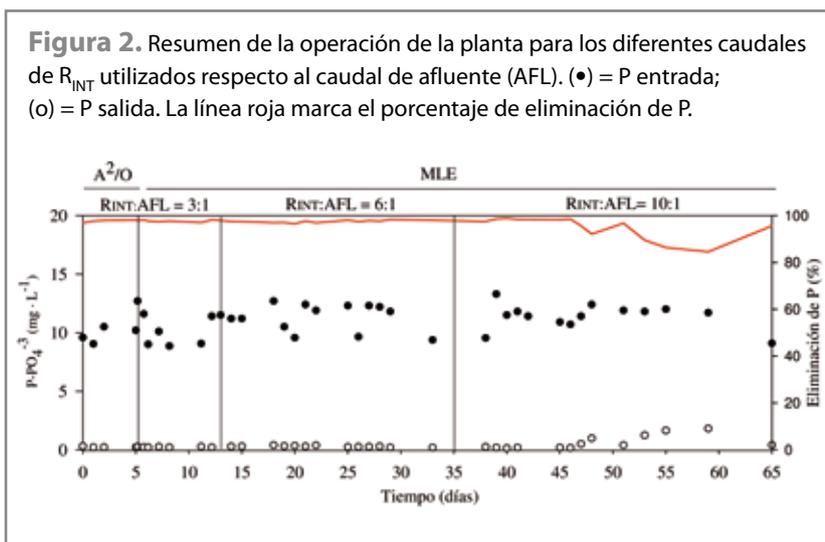


La hipótesis más extendida asume que en presencia de nitrato u otras especies intermedias de la desnitrificación (NO_x), la materia orgánica es consumida preferentemente por los organismos desnitrificantes, los cuales realizan la reducción de NO_x a N_2 gas. De este modo, los PAO pierden la competencia por la fuente de carbono frente a estos organismos, dando lugar a un deterioro del proceso EBPR (Cho y Molof, 2004). Otros autores (Van Niel *et al.*, 1998; Saito *et al.*, 2004) han planteado la hipótesis de que el nitrato, el nitrito y otros productos intermedios de la desnitrificación pueden provocar la inhibición de los PAO, lo que acaba motivando la pérdida de actividad EBPR. No obstante, hasta el momento no se ha conseguido establecer de forma fehaciente la causa principal de este fallo de operación de las plantas con eliminación biológica de C/N/P.

Este trabajo, por tanto, se ha centrado en comprender la pérdida de actividad EBPR observada experimentalmente en EDAR municipales y proporcionar soluciones para incrementar la estabilidad de estos procesos. Por un lado, se ha estudiado el efecto del tipo de fuente de carbono en la interacción N-P en una EDAR piloto en continuo con eliminación simultánea de C/N/P. Por otro lado, se ha analizado la viabilidad de utilizar subproductos de bajo coste (glicerol y metanol) como fuente de carbono externa en sistemas EBPR con carencia de materia orgánica.

2. Estudio de la interacción N-P en sistemas operados en continuo

Para poder evaluar la pérdida de actividad EBPR por la llegada de NO_x al reactor anaerobio, se utilizó una planta piloto de 146 L con funcionamiento en continuo.



La planta operó inicialmente con configuración anaerobia/anóxica/aerobia (A^2/O) para poder obtener eliminación simultánea de materia orgánica y nutrientes (N y P). Durante más de 4 meses se trabajó bajo condiciones estables, alcanzando un estado estacionario con elevada capacidad de eliminación de ambos nutrientes. Para estudiar el efecto de la presencia de nitrato en la fase anaerobia se optó por reconfigurar la planta introduciendo tanto la recirculación interna (R_{INT}) como la R_{EXT} en el reactor anaerobio, maximizando así la entrada de NO_x en el mismo. De este modo, el reactor anaerobio pasó a trabajar bajo condiciones anóxicas (configuración Modified Ludzack-Ettinger, MLE) (Figura 1).

Durante la primera fase del experimento se utilizó un afluente de $140 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$ rico en AGV (75% de $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DQO), además de contener amonio ($40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{N}\cdot\text{NH}_4^+$) y P ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{P}\cdot\text{PO}_4^{3-}$). El tiempo de residencia celular fue de 15 días aproximadamente. El caudal de R_{INT} fue incrementado en diferentes etapas para estudiar la robustez de la eliminación de P frente a un aumento de nitrato en la que era la fase anaerobia en la anterior configuración. Como se puede observar en la Fi-

gura 2, la eliminación de fósforo fue siempre superior al 85%, aun cuando el caudal de la R_{INT} se incrementó hasta una relación 10:1 respecto al del afluente. Estos resultados sugieren que la fuente de carbono fue consumida preferentemente en el proceso EBPR antes que en la desnitrificación, lo cual va en contra de lo reportado en la bibliografía hasta el momento (Henze *et al.*, 2008). La cuantificación de la población microbiana realizada mediante el método

Figura 3. Imágenes obtenidas en el microscopio confocal mediante la técnica de identificación FISH. La sonda general (color azul, EUBmix) marca a la mayoría de eubacterias, mientras que la sonda específica (color rosa, PAOmix) marca únicamente a los PAO.

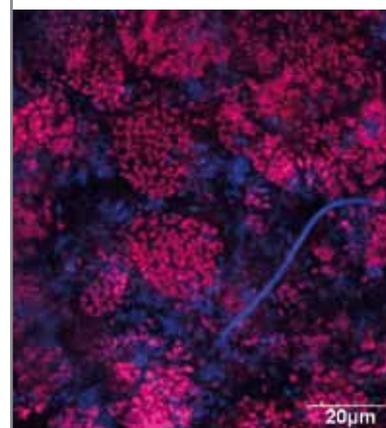
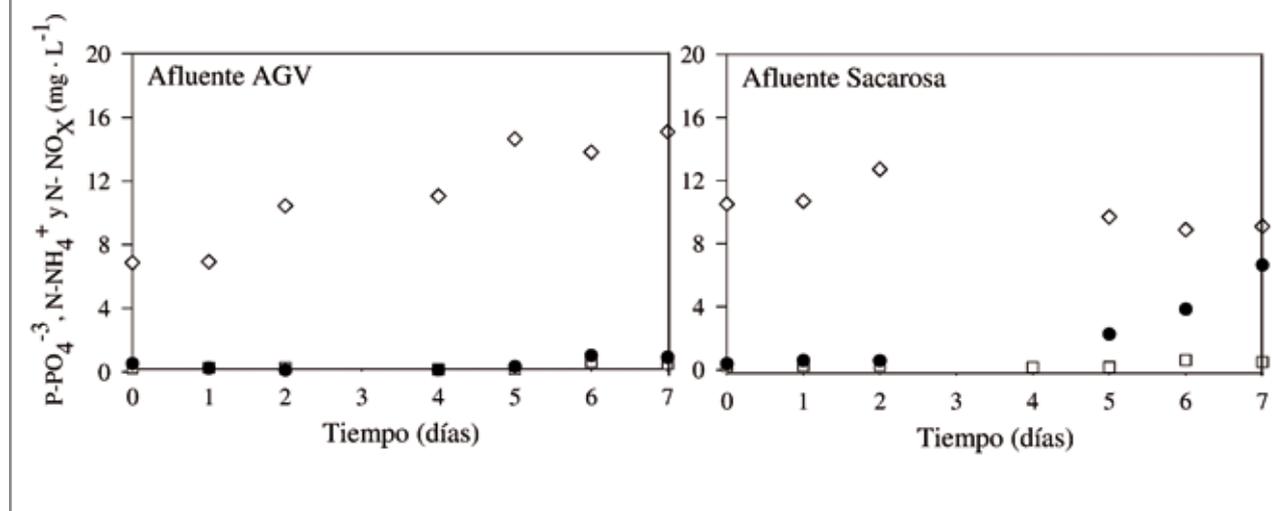




Figura 4. Composición del efluente utilizando AGV (izquierda) y sacarosa (derecha) como fuente de carbono. (□) = amonio; (◇) = NO_x ; y (●) = fósforo.



FISH (Crocetti *et al.*, 2000; Jubany *et al.*, 2009) reveló un porcentaje de PAO alrededor del 70% (Figura 3), lo que corroboró el mantenimiento de la actividad PAO a pesar de las condiciones teóricamente adversas.

En el siguiente paso del estudio, se decidió reducir la fuente de carbono a $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de DQO y utilizar dos tipos de sustratos: AGV y sacarosa. Para el sustrato rico en AGV (Figura 4 izquierda), sorprendentemente se observó que la reducción de la fuente de carbono no afectó al proceso EBPR, el cual mantuvo siempre la concentración de P en el efluente por debajo de $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Sin embargo, la concentración de NO_x en el efluente sí presentó un aumento de 7 a $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, demostrándose una vez más en este estudio la capacidad de los PAO para ganar la competencia por la fuente de carbono frente a los desnitrificantes cuando el sustrato es únicamente AGV. Contrariamente, cuando el sustrato principal fue sacarosa (Figura 4 derecha) se observó como la mayoría de esta fue consumida para desnitrificar el NO_x procedente de la R_{EXT} reduciéndose la capacidad de eliminación de P.

De este modo, se demostró el importante papel que tiene el tipo de fuente de carbono en el deterioro de sistemas EBPR por la presencia de NO_x (Guerrero *et al.*, 2011). Cuando la fuente de carbono estuvo formada principalmente por AGV, la población PAO desarrollada fue capaz de ganar la competencia por la materia orgánica contra los organismos desnitrificantes. Contrariamente, cuando se utilizó un sustrato más complejo (sacarosa), la capacidad EBPR del sistema decreció drásticamente al verse favorecidos, en este caso, los procesos de desnitrificación.

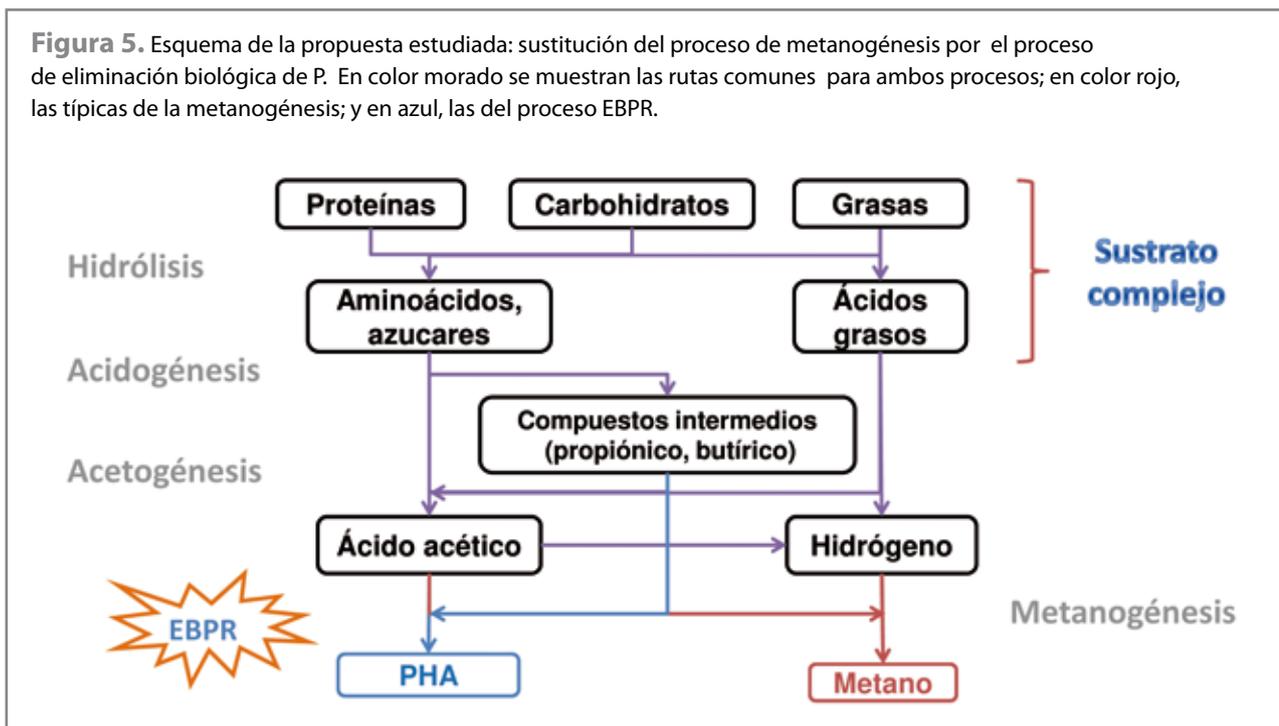
Los resultados obtenidos pueden ser explicados considerando los procesos habitualmente asignados a los microorganismos desnitrificantes. Bajo condiciones anaerobias, estos microorganismos fermentan la sacarosa y producen AGV, los cuales son utilizados por los PAO. De los resultados obtenidos para el afluente con sacarosa se puede deducir que la existencia de nitrato impide la fermentación de la materia orgánica compleja a AGV, hecho lógico ya que la utilización de esta para desnitrificar es energéticamente más fa-

vorable. De este modo, la no formación de AGV va en detrimento de los organismos PAO, lo que tiene como consecuencia su pérdida de capacidad acumuladora de fosfato y, por tanto, el incremento de la concentración de P en el efluente.

Los resultados experimentales demuestran que la entrada de nitrato al reactor anaerobio no es *per se* el motivo directo de la pérdida de actividad EBPR en las depuradoras urbanas, sino que es el elemento que hace reducir la producción de AGV que sí tiene un efecto sobre la actividad EBPR. Por tanto, si se pudiera garantizar la presencia de AGV en el reactor anaerobio, la EDAR sería capaz de mantener la eliminación biológica de fósforo a pesar de la introducción de nitrato en el reactor anaerobio.

Estos resultados también permiten descartar la hipótesis de un posible efecto inhibitorio del nitrato descrito en la bibliografía (Van Niel *et al.*, 1998; Saito *et al.*, 2004), ya que la planta piloto es capaz de mantener la actividad EBPR a pesar de la alta cantidad de nitrato recirculada al reactor anaerobio.

Figura 5. Esquema de la propuesta estudiada: sustitución del proceso de metanogénesis por el proceso de eliminación biológica de P. En color morado se muestran las rutas comunes para ambos procesos; en color rojo, las típicas de la metanogénesis; y en azul, las del proceso EBPR.



3. Utilización de subproductos de bajo coste como fuente de carbono en sistemas EBPR

Los resultados anteriores demuestran que la presencia de AGV garantiza el funcionamiento del proceso EBPR a pesar de la presencia de nitrato en el reactor anaeróbico. De este modo, la adición de AGV como fuente externa de carbono permite evitar la competencia entre PAO y desnitrificantes en aguas residuales con una baja carga orgánica. No obstante, el elevado coste económico que conlleva esta adición hace que sea una alternativa difícilmente aplicable.

Una solución posible es la utilización de la prefermentación anaerobia de lodos primarios (Moser-Engeler *et al.*, 1998; Chanona *et al.*, 2006), que puede generar una corriente rica en AGV. Otra alternativa prometedora en la cual se centra parte del estudio aquí descrito es la adición de otras fuentes de carbono más económicas. Por ejemplo, los subproductos generados en la producción de biodiésel (principalmente

glicerol) o el metanol producido de manera biológica (biometanol). La adición de estos compuestos proporciona fuente de carbono para la desnitrificación del nitrato recirculado y, además, permite la generación *in situ* de los AGV en el propio reactor anaerobio. El bajo coste en el mercado respecto a los AGV, y su ya demostrada viabilidad como fuentes de carbono en procesos de desnitrificación (Purtschert *et al.*, 1996; Torà *et al.*, 2011), hacen que ambos compuestos se planteen como alternativas prometedoras para ser utilizadas en sistemas EBPR.

Sin embargo, en el momento en que se inició este estudio no existían trabajos que presentasen de manera exitosa la viabilidad del metanol o del glicerol como única fuente de carbono para desarrollar actividad EBPR (Randall *et al.*, 1997; Yuan *et al.*, 2010). Por ello, la investigación realizada se centró en desarrollar un consorcio microbiano capaz de mantener actividad EBPR utilizando metanol o glicerol como únicas fuentes de carbono. Como ya se ha

comentado anteriormente, asegurar la presencia de AGV es crítico para poder desarrollar actividad EBPR. Por esta razón, la idea propuesta se basó en utilizar organismos típicos de la digestión anaerobia seleccionados para degradar/fermentar sustratos complejos (metanol y glicerol en este caso) para producir principalmente AGV, que los PAO utilizarían como fuente de carbono, pudiendo así desarrollar actividad EBPR. Dicho de otra manera, se pretendía sustituir los organismos metanógenos consumidores de AGV de un proceso típico de digestión anaerobia por los PAO (Figura 5). Para estudiar este proceso novedoso se trabajaron con reactores discontinuos secuenciales (*sequencing batch reactor*, SBR) de 10 L capaces de alternar fases anaerobias y aerobias.

Tanto para el metanol como para el glicerol se utilizaron dos estrategias diferentes para desarrollar los consorcios microbianos:

- Reemplazo directo. Se partió de un sistema enriquecido en PAO de-

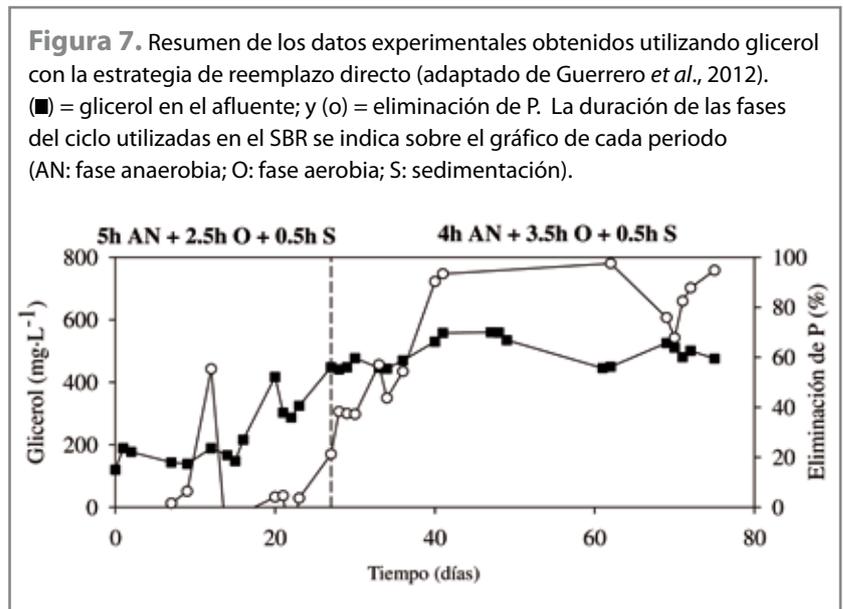
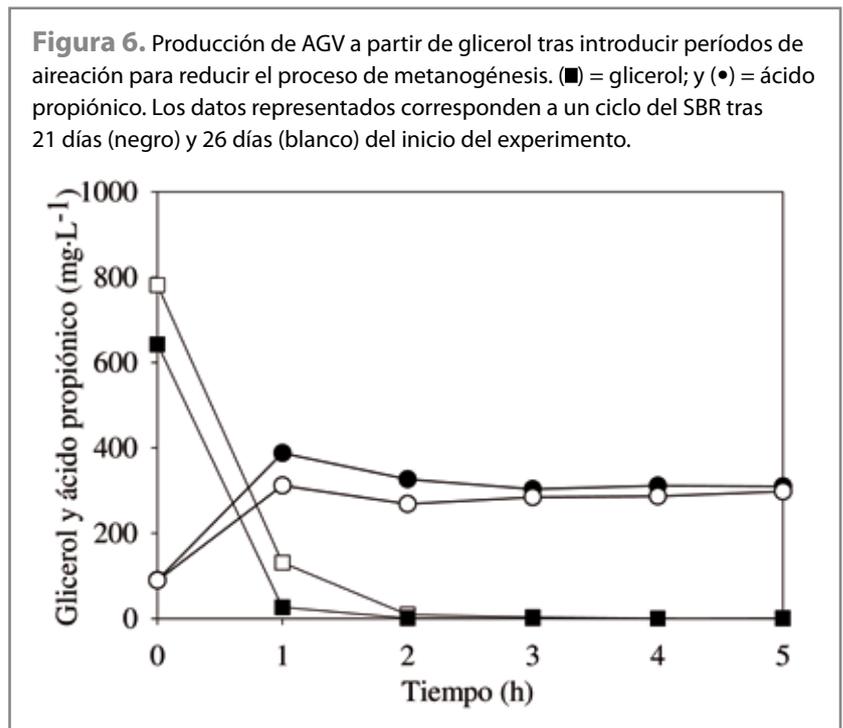


sarrollado anteriormente en el SBR y que presentaba una elevada actividad EBPR. En este se substituyó directamente la fuente de carbono habitual (ácido propiónico) por el nuevo sustrato (glicerol o metanol).

- Desarrollo en dos pasos. Basado en el enriquecimiento de un lodo anaerobio en microorganismos capaces de fermentar el metanol o el glicerol a AGV para más tarde ser bioaumentado con un lodo enriquecido en PAO.

Debido a que los organismos metanogénicos pueden competir con los PAO por la fuente de carbono, es necesario minimizar la actividad metanogénica para así lograr una mayor producción de AGV. Para ello se utilizaron diferentes recomendaciones descritas en la bibliografía (Florencio *et al.*, 1995), como por ejemplo la disminución de la temperatura de trabajo o la utilización de determinados micronutrientes (por ejemplo cobalto). La utilización de oxígeno también jugó un papel importante al ser necesario para poder desarrollar actividad EBPR y por ser un potente agente inhibidor del proceso de metanogénesis, no siéndolo tanto de los procesos de acetogénesis o acidogénesis (Ferry, 1993; Karnholz *et al.*, 2002). De este modo, la fase aerobia se fue incrementando en diferentes etapas hasta tener una extensión total suficiente para inhibir el proceso de metanogénesis y permitir la captación de P del medio por parte de los PAO. Como ejemplo, en la **Figura 6** se muestra que, tras incluir una fase aireada en la configuración del sistema, se obtuvo un lodo capaz de producir AGV a partir de glicerol.

Las dos estrategias utilizadas permitieron obtener consorcios con actividad EBPR cuando el glicerol fue utilizado como única fuente de car-



bono, tal y como se preveía en las hipótesis de partida. Sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron con la estrategia del reemplazo directo, llegando a obtener una eliminación de P superior al 90% cuando se utilizó una configuración de ciclo con 4 h anaerobia, 3,5 h aerobia y 0,5 h de sedimentación (**Figura 7**). Para la estrategia de desarrollo en dos pasos se observaron resultados ligeramente

inferiores, que pueden explicarse por el desarrollo de otros organismos competidores de los PAO, los GAO (*glycogen accumulating organisms*). Estos organismos son capaces de consumir la fuente de carbono en condiciones anaerobias, pero sin utilizar el P en su metabolismo, de modo que no presentan actividad EBPR ni contribuyen a su eliminación. Analizando los porcentajes de GAO

Los resultados experimentales demuestran que el glicerol y el metanol podrían ser utilizados como fuente de carbono externa para la eliminación biológica de fósforo en aguas residuales con bajo contenido en materia orgánica

al inicio y final del desarrollo del consorcio en dos pasos, se observó que el valor pasó del 23% al 31%.

Respecto a la utilización de metanol como única fuente de carbono (Tayà *et al.*, 2013), se desarrolló un consorcio sintrófico con actividad EBPR aplicando la estrategia en dos pasos (Figura 8). El sistema no fue tan estable como en el caso del glicerol debido a una mayor proliferación de GAO, así como por la mayor dificultad en la dosificación de metanol para evitar que llegara a la fase aerobia. Así mismo, el reemplazo directo con metanol no dio lugar a actividad EBPR, produciéndose el lavado de los PAO de los reactores.

4. Estudio de resultados

A modo de resumen, es importante considerar diferentes aspectos para desarrollar los consorcios microbianos con actividad EBPR a partir de compuestos diferentes a AGV (por ejemplo, metanol o glicerol):

- Distribución de la biomasa. En la biomasa inoculada es necesaria la presencia de una fracción de organismos 'indígenas' capaces de fermentar el sustrato complejo a AGV. Por esta razón, la introducción de lodos anaerobios debería *a priori* favorecer el desarrollo del consorcio microbiano, tal y como sucedió cuando el metanol fue utilizado como única fuente de carbono.

- Duración de las fases. La fase anaerobia necesita una extensión suficiente para favorecer la fermentación de los sustratos a AGV y el

consumo de estos por parte de los PAO. Además, la fase aerobia debe tener la duración necesaria para garantizar una captación neta de P considerando todo el proceso. La Figura 7 muestra un ejemplo de la utilización de fases con diferente duración para mejorar la actividad EBPR del lodo.

- Es importante asegurar que todo el sustrato sea consumido durante la fase anaerobia y, así, evitar la presencia de donador de electrones durante la fase aerobia. Esta problemática es una de las principales causas del fallo de los sistemas EBPR.

Para demostrar la viabilidad de estos consorcios microbianos en la mejora del proceso EBPR en aguas con baja carga orgánica se operó un reactor SBR (10 L) en el que se trató una agua residual de industria lechera que presentaba una baja relación DQO/P (alrededor de 11.5). Según Broughton *et al.* (2008), el valor mínimo de DQO/P para eliminar P de manera satisfactoria debería ser 13. Como se observa en la Figura 9, durante la primera etapa de operación la capacidad de eliminación de P fue bastante baja debido a la baja relación DQO/P del agua tratada. Por ello, se planteó añadir glicerol para incrementar la concentración de materia orgánica en el agua a tratar (DQO/P \approx 16). Al realizar esta adición, se observó un aumento de la actividad EBPR del sistema, incrementándose su capacidad de eliminación de fósforo.

Figura 8. Datos experimentales obtenidos en la estrategia de desarrollo de consorcio en dos pasos y utilizando metanol (adaptado de Tayà *et al.*, 2013). (o) = P inicio de ciclo; (\blacktriangle) = P final de la fase anaerobia; y (\blacksquare) = P final del ciclo.

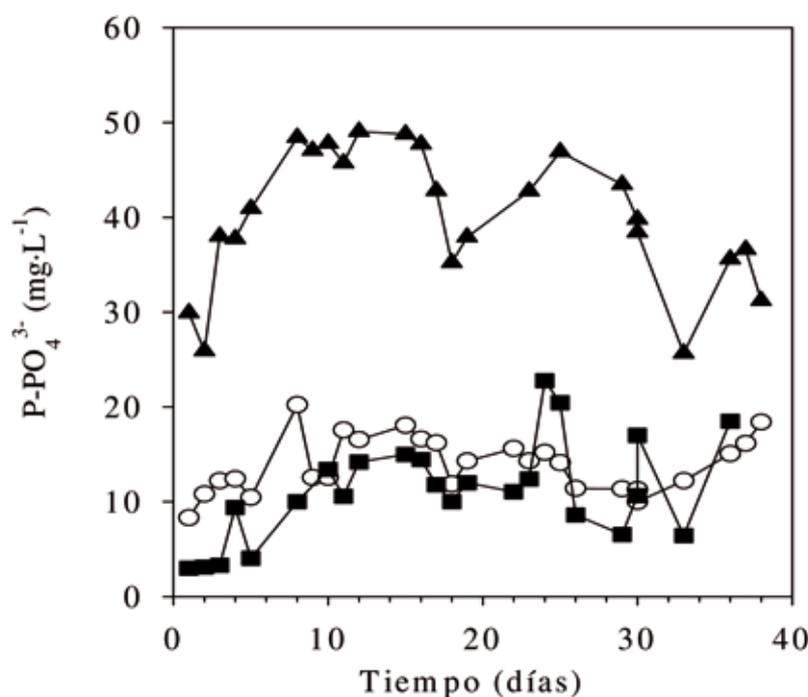
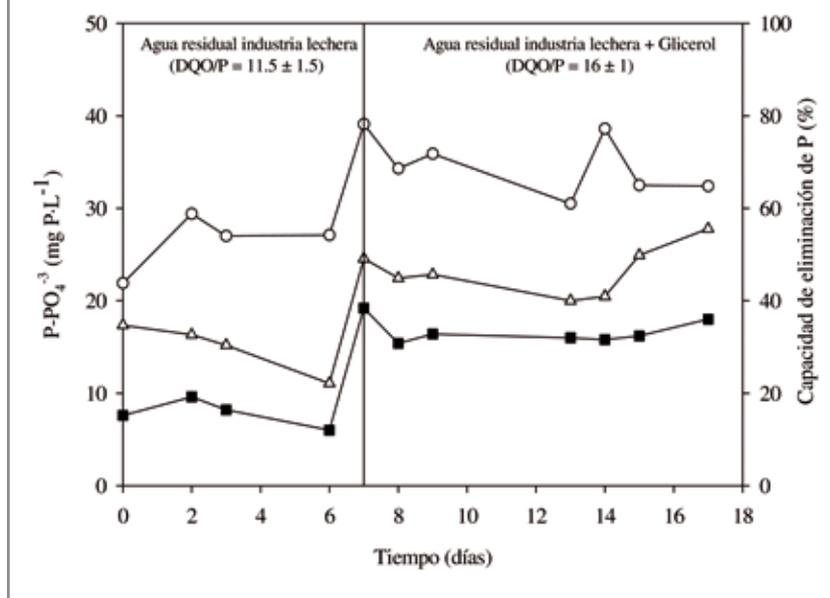




Figura 9. Resultados experimentales obtenidos al utilizar glicerol como fuente de carbono externa para aumentar la DQO de un agua residual de la industria lechera con una relación DQO/P baja. (o) = P agua residual; (■) eliminación de P; y (Δ) porcentaje de eliminación de P.



5. Conclusiones

Estos resultados experimentales demuestran que el glicerol y el metanol podrían ser utilizados como fuente de carbono externa para la eliminación biológica de P en aguas residuales con bajo contenido en materia orgánica. Estas fuentes de carbono pueden ser transformadas por diferentes microorganismos presentes en el mismo reactor a AGV utilizables por los PAO. Este proceso se puede realizar siempre que la duración de la fase anaerobia, o el tiempo de residencia anaerobio en un reactor continuo, sea suficientemente elevado. Adicionalmente, la materia orgánica añadida también puede ser utilizada por los microorganismos desnitrificantes para eliminar el nitrato recirculado al reactor anaerobio. Este doble efecto de la materia orgánica adicionada puede permitir mejorar la estabilidad del proceso EBPR en EDAR donde se producen fallos habituales en la captación de P por los PAO.

6. Agradecimientos

Javier Guerrero y Carlota Tayà agradecen las becas predoctorales recibidas por el Ministerio de Ciencia e Innovación y por la Universitat Autònoma de Barcelona, respectivamente. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (CTM2010-20384). Los autores son miembros del grupo de investigación GENOCOV (Grup de Recerca Consolidat de la Generalitat de Catalunya, 2009 SGR 815).

Bibliografía

- [1] Broughton, B.; Pratt, S.; Shilton, A. (2008). Enhanced biological phosphorus removal for high-strength wastewater with a low rbCOD: P ratio. *Bioresource Technol.*, núm. 99 (5), págs. 1.236-1.241.
- [2] Chanona, J.; Ribes, J.; Seco, A.; Ferrer, J. (2006). Optimum design and operation of primary sludge fermentation schemes for volatile fatty acids production. *Water Res.*, núm. 40(1), págs. 53-60.
- [3] Cho, E.; Molof, A.H. (2004). Effect of sequentially combining methanol and acetic acid on the performance of biological nitrogen and phosphorus removal. *J. Environ. Manag.*, núm. 73, págs. 183-187.
- [4] Crocetti, G.R.; Hugenholtz, P.; Bond, P.L.; Schuler, A.; Keller, J.; Jenkins, D.; Blackall, L.L. (2000). Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S

rRNA-directed probes for their detection and quantification. *Appl. Environ. Microbiol.*, núm. 66(3), págs. 1.175-1.182.

[5] Ferry, J.G. (1993). *Methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry & genetics*. Ed. Chapman and Hall, New York, Estados Unidos

[6] Florencio, L.; Field, J.A.; Lettinga, G. (1995). Substrate competition between methanogens and acetogens during the degradation of methanol in UASB reactors. *Water Res.*, núm. 29(3), págs. 915-922.

[7] Guerrero, J.; Guisasola, A.; Baeza, J.A. (2011). The nature of the carbon source rules the competition between PAO and denitrifiers in systems for simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal. *Water Res.*, núm. 45(16), págs. 4.793-4.802.

[8] Guerrero, J.; Tayà, C.; Guisasola, A.; Baeza, J.A. (2012). Glycerol as a sole carbon source for enhanced biological phosphorus removal. *Water Res.*, núm. 46, págs. 2.983-2.991.

[9] Henze, M.; van Loosdrecht, M.; Ekama, G.; Brjanovic, D. (2008). *Biological Wastewater Treatment*. IWA Publishing, London, ISM 1843391880.

[10] Jubany, I.; Lafuente, J.; Carrera, J.; Baeza, J.A. (2009). Automated thresholding method (ATM) for biomass fraction determination using FISH and confocal microscopy. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, núm. 84(4), págs. 1.140-1.145

[11] Karnholz, A.; Küsel, K.; Göbner, A.S.; Schramm, A.; Drake, H.L. (2002). Tolerance and metabolic response of acetogenic bacteria toward oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.*, núm. 68, págs. 1.005-1.009.

[12] Moser-Engeler, R.; Udert, K.M.; Siegrist, H. (1998). Products from primary sludge fermentation and their suitability for nutrient removal. *Water Sci. Technol.*, núm. 38(1), págs. 265-273.

[13] Purtschert, I.; Siegrist, H.; Gujer, W. (1996). Enhanced denitrification with methanol at WWTP Zürich-Werdhölzli. *Water Sci Technol.*, núm. 33(12), págs. 117-126.

[14] Randall, A.A.; Benefield, L.D.; Hill, W.E.; Nicol, J.P.; Boman, G.K.; Jing, S.R. (1997). The effect of volatile fatty acids on enhanced biological phosphorus removal and population structure in anaerobic/aerobic sequencing batch reactors. *Water Sci. Technol.*, núm. 35(1), págs. 153-160.

[15] Saito, T.; Brdjanovic, D.; van Loosdrecht, M.C.M. (2004). Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Res.*, núm. 38, págs. 3.760-3.768.

[16] Tayà, C.; Guerrero, J.; Vanneste, G.; Guisasola, A.; Baeza, J.A. (2013). Methanol-driven enhanced biological phosphorus removal with a syntrophic consortium. *Biotechnol Bioeng.*, núm. 110(2), págs. 391-400.

[17] Torà, J.A.; Baeza, J.A.; Carrera, J.; Oleszkiewicz, J.A. (2011). Denitrification of a high-strength nitrite wastewater in a sequencing batch reactor using different organic carbon sources. *Chem. Eng. J.*, núm. 172 (2-3), págs. 994-998.

[18] Van Niel, E.W.J.; Appeldoorn, K.J.; Zehnder, A.J.B.; Kortstee, G.J.J. (1998). Inhibition of anaerobic phosphate release by nitric oxide in activated sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, núm. 64, págs. 2.925-2.930.

[19] Yuan, Q.; Sparling, R.; Lagasse, P.; Lee, Y.M.; Taniguchi, D.; Oleszkiewicz, J.A. (2010). Enhancing biological phosphorus removal with glycerol. *Water Sci. Technol.*, núm. 61(7), págs. 1.837-1.843.