



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AIRE

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO Y LA CARGA DE AMONIO SOBRE LA
NITRIFICACIÓN EN UN PROCESO EN CONTINUO CON BIOMASA SUSPENDIDA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

MONSERRAT AGUILAR PICHARDO

TUTOR PRINCIPAL

DR. GUILLERMO QUIJANO GOVANTES (INSTITUTO DE INGENIERÍA)

COMITÉ TUTORAL

DR. FRANCISCO JAVIER CERVANTES CARRILLO (INSTITUTO DE INGENIERÍA)

DR. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ (INSTITUTO DE INGENIERÍA)

Juriquilla, Qro.

Noviembre 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Petia Mijaylova Nacheva

Secretario: Dr. Armando González Sánchez

1^{er} Vocal: Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo

2^{do} Vocal: Dr. Ulises Durán Hinojosa

3^{er} Vocal: Dr. Guillermo Quijano Govantes

Lugar donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, Unidad Académica Juriquilla, Instituto de Ingeniería, UNAM.

Tutor de tesis:

Dr. Guillermo Quijano Govantes

FINANCIAMIENTO Y AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se llevó a cabo con el apoyo de los siguientes proyectos de investigación:

- DGAPA-UNAM, a través del Proyecto PAPIIT TA100121
- CONACYT, a través del proyecto de Investigación Científica Básica A1-S-10079

M. Aguilar Pichardo agradece la beca CONACYT otorgada para realizar estudios de maestría (CVU: 1004444).

Se agradece el apoyo técnico de la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez y del M. en B. Jaime Pérez Trevilla para la realización de esta tesis.

CONTENIDO

Índice de figuras	6
Índice de tablas.....	8
Abreviaturas	9
Introducción	10
Tratamiento de agua residual con alto contenido de nitrógeno amoniacal: caso del agua residual proveniente de digestores anaerobios	10
Procesos fisicoquímicos y biológicos para la remoción de nitrógeno amoniacal.....	11
Nitrificación parcial para la generación de nitrito	15
Factores que influyen en la nitrificación parcial	21
Acoplamiento de la nitrificación parcial con otros procesos en el contexto de una planta de tratamiento de aguas residuales	26
Desulfuración anóxica de biogás.....	26
Oxidación anaerobia de amonio	28
Oxidación anaerobia de metano.....	29
Justificación	32
Hipótesis	34
Objetivo	34
Objetivo general.....	34
Objetivos específicos	34

Materiales y métodos.....	35
Inóculo y agua residual sintética.....	35
Operación del reactor y estrategias de dosificación de O ₂	36
Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de O ₂	39
Métodos analíticos.....	40
Parámetros de evaluación del desempeño del proceso de nitrificación	40
Extracción de ADN y análisis microbiológico	41
Resultados y discusión.....	42
Estrategias de dosificación de O ₂	42
Desempeño de la remoción de N-NH ₄ ⁺	45
Selectividad de oxidación	48
Sólidos suspendidos volátiles y carbono inorgánico total	51
Análisis de la comunidad microbiana	53
Conclusiones.....	59
Perspectivas a futuro	61
Bibliografía.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Microorganismos involucrados en la nitrificación y nitrificación completa.....	16
Figura 2. Ruta de la nitrificación parcial/desnitrificación con el consecuente ahorro energético al no producir nitrato (Adpatado de Peng y Zhu 2006; Sinha y Annachhatre 2007b).....	20
Figura 3. (A) Esquema del módulo de nitrificación, (B) biorreactor operando en continuo con recirculación de biomasa, sistema de control de pH y OD.	37
Figura 4. (A) Estrategias de dosificación de O ₂ con valores consigna y tiempo de aireación, (B) concentración de oxígeno disuelto (OD) experimental. Los números romanos indican las fases experimentales.....	43
Figura 5. Eficiencia de remoción de amonio (ERA) y cargas de amonio estudiadas en el sistema de nitrificación. Los números romanos indican las fases experimentales estudiadas.....	46
Figura 6. Distribución de especies de nitrógeno en el efluente durante las diferentes fases de operación indicadas con número romanos.....	49
Figura 7. (A) Concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) y (B) carbono inorgánico total (CIT) a lo largo del tiempo de operación del reactor.....	52
Figura 8. Composición microbiana a nivel de género en (A) los inóculos y (B) durante la operación del reactor. Se muestran los cincuenta ASV (amplicon sequence variants) de mayor abundancia relativa mientras que los miembros minoritarios de la comunidad microbiana se muestran agrupados en la categoría “otros”. Aquellos ASV cuyo género	

no pudo clasificarse (NA) se muestran entre paréntesis su clasificación a nivel de familia.55

Figura 9. Cambios en la abundancia relativa de los géneros de bacterias oxidadoras de nitrito (NOB) y oxidadoras de amonio (AOB) con respecto a la totalidad de bacterias nitrificantes identificadas. Para aquellos géneros bacterianos con identificación ambigua se muestra su clasificación taxonómica a nivel de familia entre paréntesis.56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de amonio en diferentes tipos de aguas de rechazo.	11
Tabla 2. Tecnologías de tratamiento de aguas residuales con alto contenido de nitrógeno amoniacal (modificado de Xiang et al. 2020).	12
Tabla 3. Parámetros de operación de los sistemas de nitrificación.	22
Tabla 4. Composición de la disolución de elementos traza	35
Tabla 5. Estrategias de dosificación de O ₂ y cargas de amonio estudiadas en el reactor de nitrificación.	38
Tabla 6. Suministro de O ₂ al reactor y requerimiento estequiométrico de O ₂ para la producción de nitrito y nitrato.	45
Tabla 7. Datos promedio del desempeño de nitrificación en las fases experimentales estudiadas.....	50

ABREVIATURAS

amoA	Gen amonio monooxigenasa
ANAMMOX	Oxidación Anaerobia de Amonio
AOA	Arqueas Oxidadoras de Amonio
AOB	Bacterias Oxidadoras de Amonio
ASV	Amplicon Sequence Variants
C*	Concentración de saturación de O ₂ disuelto (mg/L)
CIT	Carbón Inorgánico Total (mg/L)
C_L	Concentración de O ₂ disuelto (mg/L)
COMAMMOX	Completa Oxidación de Amonio
CSTR	Reactor de Tanque Agitado Continuo
DAMO	Oxidación Anóxica de Metano Desnitrificante
E_a	Energía de activación (kJ/mol)
ERA	Eficiencia de Remoción de Amonio (%)
FORSU	Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos
MOA	Microorganismos Oxidadores de Amonio
NOB	Bacterias Oxidadoras de Nitrito
NP	Nitrificación Parcial
OD	Oxígeno disuelto (mg/L)
pH	Potencial de Hidrógeno
PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
SBR	Reactor Discontinuo Secuencial
SND	Nitrificación-Desnitrificación Simultánea
SOB	Bacterias Sulfuro Oxidantes
SO_xNO₂⁻-N	Selectividad de Oxidación a nitrito (%)
SO_xNO₃⁻-N	Selectividad de Oxidación a nitrato (%)
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L)
t_a	Tiempo de aireación efectiva (h/d)
TRH	Tiempo de Residencia Hidráulica (h)
TRS	Tiempo de Residencia de Sólidos (d)
μ_{max}	Velocidad específica de crecimiento (h ⁻¹)

INTRODUCCIÓN

TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL CON ALTO CONTENIDO DE NITRÓGENO AMONIACAL: CASO DEL AGUA RESIDUAL PROVENIENTE DE DIGESTORES ANAEROBIOS

En años recientes ha habido un incremento en la demanda de una mejor calidad de los efluentes provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). En particular, durante el proceso de digestión anaerobia el nitrógeno contenido en la materia orgánica como proteínas, urea, ácido úrico, purinas y pirimidinas es liberado en forma de nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) por hidrólisis de los compuestos orgánicos (Paredes et al. 2007; Claros 2012). Al terminar el proceso, los digestores anaerobios generan un efluente conocido como digestato que es sometido a un proceso de deshidratación que separa la fracción sólida de la líquida. Al ser el amonio un compuesto soluble en agua, éste persiste en la fracción líquida conocida como “agua de rechazo” (Galí et al. 2007). De acuerdo con lo reportado en la Tabla 1, la concentración de nitrógeno amoniacal en la fracción líquida del digestato suele estar entre 500 y 2,000 mg N-NH_4^+ /L dependiendo del sustrato utilizado durante la digestión anaerobia (por ejemplo, lodos de purga del tratamiento de aguas residuales o la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos). El agua de rechazó usualmente es recirculada al tratamiento secundario en la línea de aguas de una PTAR contribuyendo con un 15%–20% del total de la carga de nitrógeno a tratar (Wett et al. 2009). Esto incrementa los costos energéticos por aireación al requerir mayor cantidad de oxígeno (O_2) para la remoción de amonio. La evaluación de la concentración de nitrógeno en el agua tratada es un parámetro importante que debe cumplirse con la normativa correspondiente. La descarga de efluentes con altas concentraciones de nitrógeno amoniacal en cuerpos de

agua causa eutrofización (Soliman y Eldyasti 2018). Dicho fenómeno da como resultado crecimiento de algas que conducen al agotamiento de oxígeno disuelto provocando la muerte de organismos acuáticos, mala calidad del agua y problemas de salud humana como daño hepático causado por toxinas producidas por cianobacterias (Cervantes 2009a; Mousavi et al. 2018). En este contexto, se han incrementado los esfuerzos por desarrollar tecnologías innovadoras en la eliminación de nitrógeno en aguas residuales (Wett et al. 2009).

Tabla 1. Contenido de amonio en diferentes tipos de aguas de rechazo.

Origen	N-NH₄⁺ concentración (mg/L)	Referencia
Lodos de purga provenientes del tratamiento de agua residual doméstica	500–500	(Cervantes 2009b)
	535–1,780	(Eskicioglu et al. 2018)
	200–700	(Thornton et al. 2007)
Fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU)	500–2,500	(Macé et al. 2006)
	2,163–3,892	(Malamis et al. 2014)
Lodos de purga con FORSU	410–630	(Frison et al. 2012)

Procesos fisicoquímicos y biológicos para la remoción de nitrógeno amoniacal

Diferentes tecnologías físicas, químicas y biológicas han sido desarrolladas para la remoción de nitrógeno amoniacal de las aguas residuales que no se enfocan a su eliminación, si no a su posible recuperación y reuso (Xiang et al. 2020). La Tabla 2 muestra los métodos comúnmente empleados para la remoción de amonio del agua residual. Los procesos físicos

Tabla 2. Tecnologías de tratamiento de aguas residuales con alto contenido de nitrógeno amoniacal (modificado de Xiang et al. 2020).

Técnica	Método	Mecanismo de remoción	Eficiencia de remoción (%)	Recuperación de amonio	Ventajas	Desventajas
Físico	Extracción con aire	Conversión de NH_4^+ a NH_3 a pH 10–11 para su desorción al pasar un flujo de aire.	~90	No	Fácil operación, útil para altas concentraciones de NH_4^+ .	Aire contaminado no puede ser reciclado.
	Intercambio iónico y adsorción	Intercambio catiónico. Adsorción electrostática.	~80	Si	Alta eficiencia, bajos costos, útil para altas concentraciones de NH_4^+ .	Limitado por el tiempo de uso, competitivo con otros iones.
	Membranas	Separación selectiva	~90	Si	No adiciones de compuestos químicos, alta aplicabilidad.	Altos costos en implementación y mantenimiento.
Químico	Oxidación	Oxidación catalítica	95	No	Completa degradación, alta aplicabilidad.	Altos costos y rigurosa operación.
	Estruvita	Precipitación química	80	Si	Fácil operación, remoción de fósforo y el producto puede ser un fertilizante.	Contaminantes secundarios, útil para altas concentraciones de NH_4^+ .
	Oxidación electroquímica	Oxidación directa en el ánodo u oxidación indirecta por medio de un compuesto intermediario	70	No	Fácil operación, alta eficiencia y aplicabilidad.	Altos costos y requerimientos de energía.
Biológico	Nitrificación-desnitrificación	Oxidación biológica de NH_4^+ a nitrito o nitrato para su posterior reducción a N_2	90	No	Bajos costos, alta aplicabilidad.	Baja eficiencia en presencia de tóxicos y en frío, para bajas y medianas concentraciones de NH_4^+ .
	Remoción con Microalgas	Microalgas pueden asimilar el NH_4^+ como sustrato para su crecimiento.	~50	Si	Bajos costos, valor agregado a la producción de microalgas.	Difícil de cosechar, útil para bajas y medianas concentraciones de NH_4^+ .
	Y/o bacterias fotosintéticas	Crecimiento y metabolismo de bacterias fotosintéticas	~70	Si	Alto valor agregado, alta tolerancia al NH_4^+ y a tóxicos.	Baja tasa de remoción de DQO, limitada por la intensidad de luz.
	ANAMMOX	Bacterias que convierten el NH_4^+ a N_2 bajo condiciones anóxicas al utilizar NO_2^- como aceptor de electrones	90	No	Bajos costos, alta aplicabilidad.	Difícil de cultivar, rigurosa operación, altas concentraciones de NO_2^- son inhibitorias.

como el intercambio iónico y la adsorción de amonio tienen las ventajas de ser resistentes a los choques de cargas de amonio y a las temperaturas variables del agua de alimentación; sin embargo, tienen las desventajas de incrementar los costos operacionales al contabilizar el costo de las zeolitas, la constante regeneración química del adsorbente y la disposición de los residuos (Eskicioglu et al. 2018; Karri et al. 2018).

Por otro lado, el uso de membranas requiere material con una alta selectividad de separación teniendo como ventajas ser un sistema compacto, bajo consumo de energía y altas eficiencias de remoción de amonio pero requiere altos costos de inversión y operación (Eskicioglu et al. 2018). La precipitación química es una tecnología que forma un sólido insoluble conocido como estruvita ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$) usado para la recuperación simultánea de amonio y fosfato en aguas residuales; sin embargo, tiene las limitantes de requerir la adición de compuestos químicos y de la posible interferencia por algunos iones inorgánicos durante la cristalización inhibiendo la formación de estruvita (Huang et al. 2014), causando baja eficiencia de remoción de amonio.

Como alternativa a los tratamientos fisicoquímicos están los métodos biológicos, los cuales resultan ser más atractivos por los bajos costos de operación y su alta eficiencia de remoción. Una opción novedosa para la remoción de nitrógeno son los sistemas de microalgas, los cuales pueden remover el amonio y obtener como producto una biomasa que puede valorizarse como fertilizante de lenta liberación y mejorador de suelos (Kumar y Singh 2020). Sin embargo, estos sistemas demandan una gran cantidad de superficie para su instalación, requieren condiciones adecuadas de radiación solar y temperatura para obtener altas eficiencias de remoción de amonio, lo cual limita sus escenarios de

aplicabilidad (Zerouh et al. 2017). Por otro lado, el proceso de nitrificación-desnitrificación ha sido ampliamente utilizado en el tratamiento de efluentes ricos en amonio como aguas residuales domésticas o industriales (Ge et al. 2015). Este proceso se basa en una primera etapa aerobia donde ocurre la oxidación de amonio a nitrato (nitrificación autotrófica), seguida de una etapa anóxica donde el nitrato se reduce a nitrógeno gas (N_2) en presencia de carbono orgánico (Cervantes-Carrillo et al. 2000).

El proceso de nitrificación-desnitrificación tiene algunos inconvenientes como: (1) lento crecimiento de los microorganismos autótrofos involucrados en este proceso biológico en comparación a los microorganismos heterótrofos, (2) altos requerimientos de oxígeno lo que incrementa los costos energéticos por aireación y (3) la adición de una fuente externa de carbono orgánico lo que aumenta los gastos de operación (Soliman y Eldyasti 2018). Nuevas tecnologías para la remoción de nitrógeno se han desarrollado recientemente, incluyendo la nitrificación-desnitrificación simultánea (SND), oxidación anaerobia de amonio (ANAMMOX) o nitrificación parcial (NP, proceso también conocido como “nitritación”). Estas tecnologías presentan ventajas con respecto al proceso tradicional de nitrificación-desnitrificación, tales como: menores tiempos de reacción, ahorro en los costos de aireación y menor generación de lodos (Xiang et al. 2020). El proceso de nitritación ha sido de gran interés en el tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de nitrógeno amoniacal, debido a que el nitrito obtenido por dicho proceso puede acoplarse a la remoción de otros compuestos de interés como el metano o el sulfuro de hidrógeno en el contexto de una PTAR, eliminando el nitrito por desnitrificación y optimizando el funcionamiento general de la misma (Chan-Pacheco et al. 2021).

NITRIFICACIÓN PARCIAL PARA LA GENERACIÓN DE NITRITO

El proceso de nitrificación consiste en dos etapas. La primera etapa se denomina *nitritación* o *nitrificación parcial* e involucra a bacterias que llevan a cabo tanto la oxidación de amonio a hidroxilamina catalizada por la enzima amonio monooxigenasa ($\text{NH}_4^+ + \text{O}_2 + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$), como la oxidación de hidroxilamina a nitrito catalizada por la enzima hidroxilamina oxidoreductasa ($\text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_2^- + 5\text{H}^+ + 4\text{e}^-$) (Yang 1997; Cervantes-Carrillo et al. 2000). La segunda etapa de la nitrificación se denomina nitratación y consiste en la oxidación de nitrito a nitrato por las bacterias nitrito oxidantes (NOB). Las Ecuacion 1 y 2 muestran la reacción global de nitritación y nitratación, respectivamente (Ruiz et al. 2003).



Los microorganismos involucrados en la nitrificación son de tipo quimilitoautótrofos que dependen totalmente de la oxidación de NH_4^+ para la generación de energía y de una fuente de carbono inorgánico para su crecimiento (Sinha y Annachhatre 2007b). Generalmente, se considera que la primera etapa de la nitrificación involucra únicamente bacterias amonio oxidantes (AOB); sin embargo, se ha reportado que arqueas oxidadoras de amonio (AOA) tienen el gen que codifica a la enzima amonio monooxigenasa (*amoA*) correspondiente a la oxidación de amonio. Por otro lado, existen bacterias que pueden llevar a cabo la oxidación completa de amonio, denominadas COMAMMOX (*COMplete AMMonium OXidation*, por sus siglas en inglés), las cuales catalizan la oxidación de amonio a nitrito y nitrito a nitrato

(Daims et al. 2015). La Figura 1 presenta de forma esquemática los microorganismos involucrados en las diferentes reacciones del proceso de nitrificación.

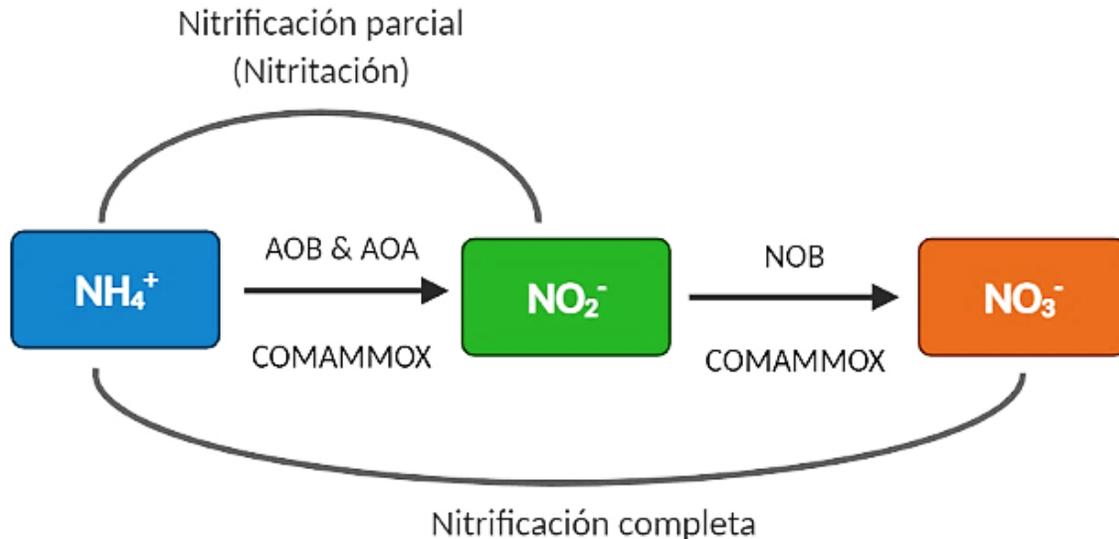


Figura 1. Microorganismos involucrados en la nitritación y nitrificación completa.

Numerosos estudios han identificado la diversidad filogenética de las AOB. Cinco géneros han sido reconocidos y clasificados en los grupos beta y gama proteobacterias, siendo predominante la subclase β -Proteobacteria que incluye a *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* y *Nitrosolobus*, mientras que en a la sub clase γ -protobacteria pertenece el grupo *Nitrosococcus* (Ge et al. 2015). La predominancia de una u otra especie AOB depende del tipo de reactor, las características del influente y las condiciones de operación, factores que tienen fuertes efectos en la ecología microbiana (Aoi et al. 2000). Las AOB también se pueden clasificar de acuerdo con la afinidad por el amonio u oxígeno, donde los microorganismos k-estrategas tienen bajas tasas de crecimiento y alta afinidad por NH_4^+ , razón por la cual dominan en condiciones limitadas de sustrato mientras que las r-

estrategias tienen altas tasas de crecimiento y baja afinidad por NH_4^+ , predominando en condiciones de abundante amonio (Zhang et al. 2004).

A diferencia de las AOB existen pocos estudios sobre AOA en sistemas de lodos activados (Park et al. 2006). Se ha observado que la abundancia de AOA es mucho menor a la de AOB, de acuerdo con análisis del número de copias del gen *amoA* en PTARs (Zhang et al. 2011); no obstante, se ha identificado a *Nitrosopumilus maritimus* como una especie dominante de AOA. Se ha sugerido que AOA poseen ventajas sobre las AOB ya que pueden adaptarse a bajas concentraciones de amonio, de acuerdo a la constante de saturación media (K_s) por amonio de la AOA *Nitrosopumilus maritimu* está entre 1.6 y 2.0 $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{L}$ (Martens-Habbena et al. 2009; Horak et al. 2013) mientras que para oxígeno es 0.064–0.128 $\text{mg O}_2/\text{L}$, valores significativamente menores que los reportados para la AOB *Nitrosomonas europaea* con un K_s para el amonio en el orden de 77–550 $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{L}$ (Park et al. 2010; Qin et al. 2017) y un K_s para oxígeno de 0.25–0.94 $\text{mg O}_2/\text{L}$ (Soliman y Eldyasti 2018). La alta afinidad de las AOA por el amonio puede resultar en altas tasas de oxidación a bajas concentraciones de amonio, permitiendo que las AOA prosperen a concentraciones de nitrógeno amoniacal más bajas en comparación con AOB (Sinthusith et al. 2015). Estudios sugieren que la presencia de las AOA es dependiente de la concentración de oxígeno y el tiempo de retención de sólidos (TRS). Park et al. (2006) encontraron que todas las muestras recolectadas de diferentes PTARs que operaban a bajas concentraciones de O_2 disuelto fueron positivas para AOA. Sinthusith et al. (2015) reportaron que las PTARs operadas a TRS largos con alta temperatura (30°C) y pH mayor a 7 favorecieron la predominancia de AOA sobre AOB. Por el contrario, PTARs operadas a TRS cortos, baja temperatura (22°C) y pH

menor a 7 no favorecieron el crecimiento de AOA. En este contexto, aún hace falta más investigación para comprender la dinámica de las comunidades microbianas en sistemas de nitrificación, el efecto de perturbaciones ambientales en la actividad de los microorganismos oxidadores de amonio (MOA) y su resultado en la calidad del efluente tratado (You et al. 2009).

Por otra parte, el estudio filogenético de las NOB perteneciente al filo proteobacteria ha sido más amplio que en el caso de las AOB. Se han descrito cuatro grupos filogenéticamente distintos de las bacterias nitrito oxidantes que incluye los géneros *Nitrococcus* perteneciente a la subclase α -Proteobacteria mientras que en γ -Proteobacteria se asignó a *Nitrobacter* y δ -Proteobacteria agrupa a *Nitrospina* (Bernet y Spérandio 2009). Previamente *Nitrobacter* fue considerada la más importante NOB, razón por la cual el diseño y optimización de las PTAR's son basados en datos obtenidos de *Nitrobacter* (Sinha y Annachhatre 2007b; Lücker et al. 2010). Ahora bien, el género *Nitrospira* forma su propia subdivisión del filo *Nitrospirae* al ser las más diversas y abundante NOB actualmente; sin embargo, métodos de biología molecular han cuantificado la subunidad alfa del gen amoA en *Nitrospira*, confirmado la especie "*Candidatus Nitrospira nitrosa*" clasificada como COMAMMOX bacteria capaz de llevar acabo la oxidación completa de amonio a nitrato (Daims et al. 2015; Van Kessel et al. 2015). Se ha propuesto que COMAMMOX *Nitrospira* pueda competir con AOB bajo condiciones limitadas de amonio y oxígeno. Se ha reportado que la constante de saturación media de COMAMMOX *Nitrospira* por amonio es 0.026 $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{L}$, tres veces menor que la de AOB *N. europaea* indicando que la afinidad por amonio de COMAMMOX *Nitrospira* es significativamente mayor que la de AOB (Ren et al. 2020). El

estudio de la afinidad de COMAMMOX *Nitrospira* al oxígeno es limitado, pero hay evidencia que indica que pueden adaptarse a bajas concentraciones de O₂ disuelto. Liu and Wang (2013) reportan haber obtenido nitrificación completa a una concentración de O₂ disuelto igual a 0.16 mg/L provocando un cambio en la comunidad microbiana de NOB *Nitrobacter* a COMAMMOX *Nitrospira*. Similar, completa nitrificación fue lograda en dos reactores a bajo O₂ disuelto (< 0.3 mg/L) condiciones en las que ningún organismo aislado de los reactores fue asociado a procariontes amonio oxidantes conocidas (Fitzgerald et al. 2015). Roots et al. (2019a) mencionan que bajo condiciones microaerobias, concentración de 14 mg NH₄⁺/L y TRS de 80 días, la abundancia relativa de COMAMMOX *Nitrospira* fue del 94% respecto al total de la comunidad microbiana oxidadora de amonio. Lo anterior sugiere que COMAMMOX es un grupo importante a considera en los sistemas de nitrificación operados a bajas concentraciones de O₂ disuelto lo que resulta perjudicial para establecer un proceso de nitritación. La idea de que la selectividad de oxidación a NO₂⁻ puede establecerse utilizando como parámetro principal bajas concentraciones de O₂ disuelto (Peng y Zhu 2006; Blackburne et al. 2008) se rompe con el descubrimiento de COMAMMOX, lo que requiere de otros factores como pH, concentración de amonio, tiempo de residencia de sólidos, inhibidores entre otros para lograr limitar la actividad de COMAMMOX (Ge et al. 2015; Duan et al. 2020; Le et al. 2020).

La relevancia de implementar un proceso de nitritación es la obtención de NO₂⁻ el cual tiene como ventajas: (1) puede pasar directamente al proceso de desnitrificación como lo ilustra la Figura 2, (2) hasta un 25% menor consumo de oxígeno que el requerido para la formación de NO₃⁻, (3) el requerimiento de donador de electrones para la desnitrificación disminuye

hasta un 40%, (4) la tasa de desnitrificación de nitrito es 1.5 a 2 veces más rápida que con nitrato, y (5) una disminución del 33–35% en la producción de lodos en el proceso de nitrificación y del 55% en el proceso de desnitrificación (Peng y Zhu 2006; Mahmood et al. 2007). Lo más importante en la implementación de la nitrificación es el menor requerimiento de oxígeno lo que implica menor costos por aireación, por lo tanto, es un proceso conveniente en el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de nitrógeno amoniacal.

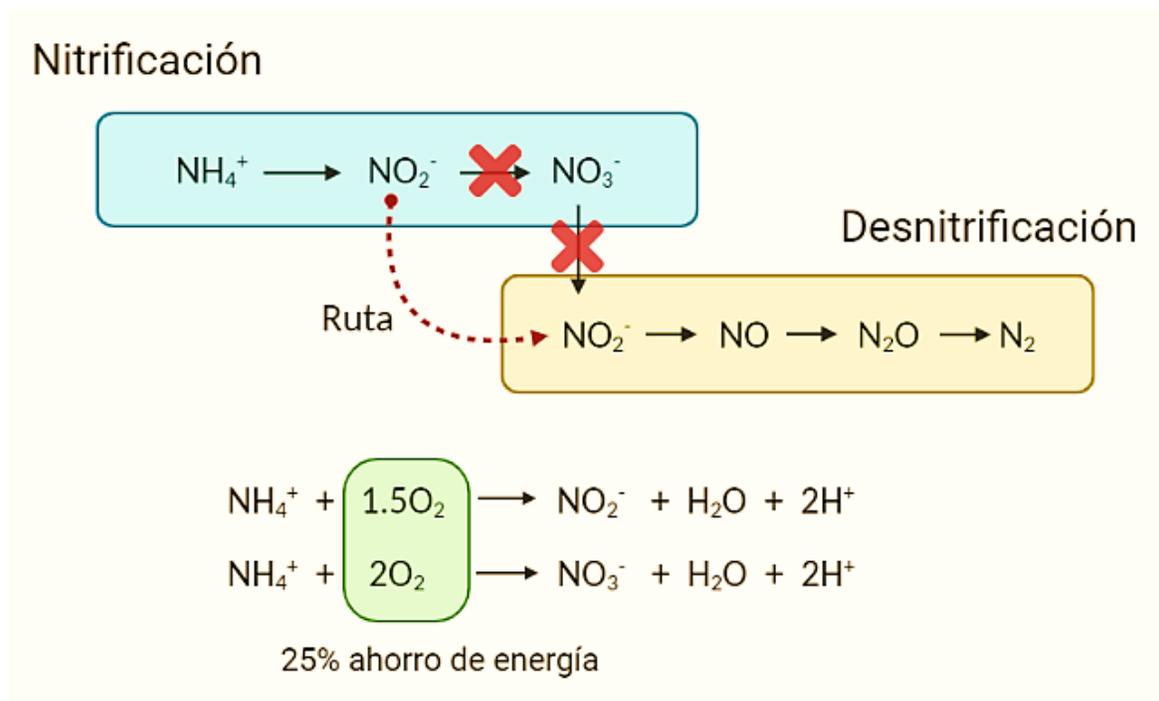


Figura 2. Ruta de la nitrificación parcial/desnitrificación con el consecuente ahorro energético al no producir nitrato (Adpatado de Peng y Zhu 2006; Sinha y Annachhatre 2007b).

Factores que influyen en la nitrificación parcial

Un proceso de nitrificación parcial puede establecerse por la acumulación de microorganismos amonio oxidantes y la inhibición de bacterias nitrito oxidantes. Se han estudiado algunas condiciones de operación que obligan al proceso biológico a seguir la ruta de nitrito, como la concentración de O_2 disuelto, temperatura y pH, los cuales influyen en el crecimiento y actividad de los microorganismos responsables de la nitrificación (Bassin 2018). En la Tabla 3 se reporta diferentes investigaciones en el que se han logrado la nitrificación con el control de los factores anteriormente mencionados. Una estrategia para evitar el desarrollo de NOB y promover la acumulación de nitrito es la disminución de la concentración de O_2 disuelto en el medio. Esto es aprovechando por las AOB al tener un coeficiente de saturación de oxígeno más baja que las NOB. Se ha reportado que el coeficiente de saturación de oxígeno promedio que sigue una relación tipo Monod para la oxidación de amonio (K_O , AOB) y nitrato (K_O , NOB) son 0.3 y 1.1 mg O_2/L , respectivamente (Wiesmann 1994), lo que significa que la afinidad por oxígeno de las AOB es mayor que la de las NOB. Por lo tanto, la dosificación de oxígeno es un factor crítico para enriquecer preferentemente a las AOB sobre las NOB (Guo et al. 2010; Gu et al. 2012; Ge et al. 2015). Un posible mecanismo para la inhibición de la oxidación de nitrito causada por la baja concentración de O_2 disuelto es basado en la acumulación de hidroxilamina (NH_2OH), un producto intermediario en la oxidación de amonio. A bajas concentraciones de oxígeno y altas concentraciones de amonio la acumulación de hidroxilamina puede ocurrir, la cual inhibe a los microorganismos oxidadores de nitrito a partir de una concentración de 250 μM (Yang 1991). Sin embargo, se ha reportado que la concentración de O_2 disuelto en la

Tabla 3. Parámetros de operación de los sistemas de nitrificación.

Tipo de sistema	Temperatura (°C)	Influente DQO (mg/L)	Influente NH ₄ ⁺ (mg/L)	pH	O ₂ disuelto (mg/L)	Aireación	Selectividad* N-NO ₂ ⁻ (%)	Referencia
SBR	23–28	0	700	7.5 ± 0.2	< 0.5	Continuo	75	(Erguder et al. 2008)
SBR	20 ± 1	816–892	96.6–254.9	> 8	1.0 ± 0.5	Continuo	62	(Fudala-Ksiazek et al. 2014)
SBR	25 o 35	3,921 ± 1,264	5,975 ± 213	8	2	Continuo	95	(Gabarró et al. 2012)
SBR	30 ± 0.5	–	800 ± 50	6.5–8	3	Continuo	90	(Galí et al. 2007)
SBR	36 ± 1	3,200–6,100	1,150–3,012	6.8–7.1	2	Continuo	40 - 60	(Ganigué et al. 2007)
SBR	21–27	11.5–275.5	44.2–84.5	–	0.3–0.8	Intermitente	95	(Gao et al. 2018)
SBR	20	300	65	7.8–7.2	2.5	Intermitente	90	(Jiang et al. 2018)
SBR	25 ± 0.2	400	50	7.2–7.3	2–6.5	Intermitente	90	(Katsogiannis et al. 2003)
SBR	–	–	< 500 >	6.9–7.9	0.3	Intermitente	50	(Lackner et al. 2014)
SBR	18–22	6,400–8,320	141–157	7.1–7.9	1.5–2.0	Intermitente	> 80	(Lemaire et al. 2008)
SBR	20	100–300	300	7.1–7.4	< 0.2	Intermitente	90	(Li et al. 2011)
SBR	35 ± 2	0	90–190	6.7–8.0	0.6–3.0	Continuo	90	(Liu et al. 2017)
SBR	35 ± 2	0	90–190	6.7–8.0	0.15–2.0	Intermitente	80	(Liu et al. 2017)
CSTR	35 ± 0.5	–	700 ± 50	6.5–6.7	3	Continuo	90	(Galí et al. 2007)
CSTR	35	–	1000	6.5–8.2	1–5	Continuo	> 90	(Magrí et al. 2007)
CSTR	35	–	500–2,000	6.83	6.1	Continuo	> 90	(Van Hulle et al. 2007)
CSTR + sedimentador	22–25	103 ± 43	399 ± 25	6.0–7.4	2.0	Continuo	50	(Durán et al. 2014)
CSTR + sedimentador	35	–	50–680	8	0.8–1.0	Continuo	80 - 85	(Sinha y Annachatre 2007a)
CSTR + sedimentador	29 ± 2	–	300–900	7.8	3.0–3.2	Continuo	45	(Terada et al. 2013)
CSTR + sedimentador	22	160–500	50–100	7.5–7.8	2.5–3	Intermitente	95	(Wang et al. 2008)
CSTR + sedimentador	29–32	300–500	1,060–1,200	–	0.3–0.8	Continuo	49	(Wang et al. 2017)

*Se refiere al porcentaje de N-NH₄⁺ removido que se oxido de forma selectiva a N-NO₂⁻.

que se ha logrado establecer la nitrificación puede variar entre 0.16–5.0 mg/L, lo cual depende de la estrategia de aireación sea continua o intermitente tal como lo muestra la Tabla 3.

La regulación de pH es otro parámetro usado para lograr la nitrificación parcial debido a que modifica el equilibrio ácido-base de amonio/amoniaco ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$) y nitrito/ácido nitroso ($\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$). Un aumento en el pH (> 9.2) produce mayor concentración de NH_3 , mientras que una reducción en el pH (< 7) favorece la presencia de HNO_2 , los cuales puede inhibir tanto a las AOB como a NOB (Bassin 2018). El NH_3 es un inhibidor competitivo en la actividad de la enzima oxidoreductasa de nitrito la cual es localizada en la membrana celular de NOB. Se requiere una concentraciones de NH_3 de 0.1–5.0 mg N- NH_3 /L para inhibir a NOB (Anthonisen et al. 1976; Bae et al. 2001) mientras que para inhibir AOB se reporta una concentración de 10–605 mg N- NH_3 /L (Anthonisen et al. 1976; Ganigué et al. 2007). El HNO_2 es un compuesto al que es más sensible NOB que AOB. Concentraciones de HNO_2 en el intervalo de 0.42–1.72 mg N/L reduce un 50% la actividad de las AOB y a concentraciones de 0.026–0.22 mg N/L inhibe completamente a las bacterias NOB (Zhou et al. 2011). Mantener un pH > 7 tiene un doble efecto, evita convertir NO_2^- a HNO_2 mientras que el NH_3 inhibe selectivamente la oxidación de nitrito favoreciendo la estabilidad de la nitrificación parcial (Peng y Zhu 2006). Se ha sugerido mantener el pH entre 7.5–8.5 (Soliman y Eldyasti 2018) para inhibir NOB y pH entre 7.5–7.8 fue propuesto para favorecer la nitrificación parcial (He et al. 2012).

Así mismo, se ha reportado que AOB puede competir con NOB a altas temperaturas ya que NOB puede oxidar nitrito mucho más rápido a temperaturas menores a 15°C. Esto se basa

en la diferencia de energía de activación (E_a) en la oxidación de amonio (68 kJ/mol) y nitrito (44 kJ/mol). La alta energía de activación de la reacción de oxidación de amonio la hace dependiente a la temperatura en comparación con la reacción de oxidación de nitrito, dado que a mayor temperatura más rápido se alcanza la energía de activación (Bassin 2018). Además, la velocidad específica de crecimiento (μ) de las bacterias se modifica con la temperatura, teniendo valores de μ_{max} entre 0.014 h^{-1} y 0.064 h^{-1} para NOB y AOB, respectivamente, en un intervalo de temperatura de 15 a 32°C (Cervantes et al. 2000). A una temperatura por encima de 25°C se promueve la tasa de crecimiento específica de AOB con lo que es posible que las bacterias oxidantes de amonio compitan efectivamente con las oxidantes de nitrito (Peng y Zhu 2006). Si esta condición es combinada con un bajo tiempo de retención hidráulica (TRH) y un corto tiempo en la retención de sólidos (TRS) NOB pueden ser selectivamente lavadas del sistema (Wei et al. 2014; Bassin 2018).

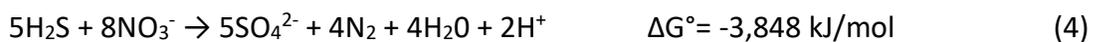
Estudios en la literatura han logrado establecer la nitrificación parcial bajo diferentes condiciones de operación. De acuerdo con la Tabla 3, la mayoría de los trabajos implementan una operación de reactor discontinuo secuencial (SBR: Sequencing Batch Reactor) por la flexibilidad de operación y fácil control (Padín 2010). Un SBR se opera en ciclos de llenado, reacción, sedimentación y decantación lo que permite desacoplar el TRS del TRH de manera que la biomasa permanece en el reactor y los microorganismos activos se mantienen bajo las condiciones establecidas. Además, a diferencia de otros sistemas con biomasa suspendida genera un gradiente de la concentración de amonio en el tiempo, resultando posibles ciclos de inhibición de NOB por la formación de NH_3 o HNO_2 a causa de la alta cantidad de amonio después de la fase de llenado y de nitrito durante la fase de

aireación (Soliman y Eldyasti 2018; Liu et al. 2020). Con una alimentación discontinua, la configuración en SBR ha mostrado gran éxito en instaurar la acumulación de nitrito (> 90 %) a altas cargas de nitrógeno. Otro tipo de sistema utilizado, pero con menos estudios son los reactores de tanque agitado continuos (CSTR: Continuous Stirred Tank Reactor) con biomasa suspendida. En este tipo de reactor el TRH y TRS son iguales, por lo que suele operarse a elevada temperatura (30–40 °C) y bajo TRS, en el cual AOB son retenidas selectivamente mientras que NOB son lavadas del reactor por su menor tasa de crecimiento que AOB (Padín 2010). Otros estudios han separado el TRH del TRS colocando un sedimentador para obtener una recirculación continua de los sólidos y mantener la biomasa activa en el reactor. A diferencia de los SBR la operación continua de los CSTR ocasiona que la biomasa nitrificante no sea expuesta a un gradiente de la concentración de amonio y nitrito por lo que no hay efecto inhibitorio para NOB por NH_3 y HNO_2 (Liu et al. 2020) lo que dificulta establecer la nitrificación. Además, pocos estudios reportar haber utilizado una operación en continuo para este tipo de proceso (Tabla 3). A pesar de ello un CSTR tiene la ventaja de ser más viable en el contexto de una PTAR, debido que un reactor es suficiente para tratar el flujo continuo de agua residual a diferencia de un SBR que requeriría más de un reactor. Por consiguiente, aun hacen falta estudios sistemáticos en la implementación de la nitrificación en reactores operados en continuo.

ACOPLAMIENTO DE LA NITRIFICACIÓN PARCIAL CON OTROS PROCESOS EN EL CONTEXTO DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Desulfuración anóxica de biogás

El biogás es una fuente de energía renovable que antes de su valorización requiere ser purificado (Ramírez et al. 2015). El principal compuesto que debe ser removido es el sulfuro de hidrogeno (H_2S) dado que causa corrosión en motores de ciclo combinado a partir de concentraciones de 500 ppm_v, además de emitir óxidos de azufre (SO_x) durante la combustión del biogás (Etcharren 2005). El proceso de eliminación de H_2S se conoce como desulfuración o endulzamiento de biogás. La desulfuración biológica ha recibido gran atención por su operación a temperatura y presión ambiente, bajos costos de operación y la mínima generación de contaminantes secundarios lo que los hace amigables con el medio ambiente, además de una alternativa económica en comparación a las tecnologías fisicoquímicas (López et al. 2012; Dumont 2015). La desulfuración anóxica de biogás consiste en la oxidación de H_2S con compuestos que contienen oxígeno en su estructura molecular como el NO_3^- o NO_2^- (Fernández et al. 2013) en presencia de bacterias sulfuro oxidantes (SOB) quimioliutótroficas. En este proceso el H_2S puede ser oxidado a azufre elemental (Ecuación 3 y Ecuación 5) o sulfato (Ecuación 4 y Ecuación . 6) (Chan-Pacheco et al. 2021).

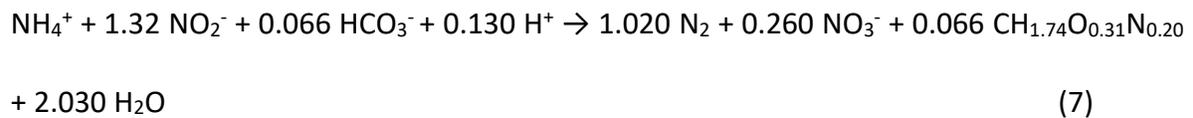


Este tipo de proceso tiene numerosas ventajas sobre la desulfuración biológica aerobia como la existencia simultanea del proceso de desnitrificación, reducción en la formación de una mezcla explosiva O_2/CH_4 , no dilución de biogás, no hay limitaciones en la transferencia de masa de O_2 de la fase gas al líquido y mayor precisión en el suministro del aceptor de electrones, lo cual resulta en un mejor control sobre el producto final de la oxidación (Montebello et al. 2012; Fernández et al. 2014). Flores-Cortés et al. (2021) evaluaron la desulfuración anóxica de biogás con concentraciones de H_2S entre 2,500 y 10,000 ppm_v utilizando NO_3^- como aceptor de electrones obteniendo eficiencia de remoción de H_2S del 95%, donde 2–6% de NO_3^- consumido fue utilizado para el crecimiento de biomasa y el resto en la desnitrificación, lo que demostró que un sistema anóxico es viable para la eliminación de H_2S . Sin embargo, el uso de nitrito ha sido reportado pocas veces en la aplicación de la desulfuración anóxica como único agente oxidante (Mahmood et al. 2007; Doğan et al. 2012; Brito et al. 2018; González-Cortés et al. 2021) por lo que hace falta estudios en los que se evalúe el perfil de desulfuración con NO_2^- (Flores-Cortés et al. 2021). El uso de nitrito como aceptor de electrones es de interés porque la desulfuración anóxica puede ser combinada con el proceso de nitrificación para la producción de nitrito reduciendo los costos de operación principalmente por aireación. La desulfuración anóxica no necesitaría la dosificación de oxígeno en tanto que la nitrificación requiere 2.67g $O_2/g NH_4^+$ en comparación a la nitrificación completa que demanda 3.56 g $O_2/g NH_4^+$, es decir 1.3 veces menos oxígeno. Entre otra ventajas se tiene menor producción de lodos; por lo tanto, una disminución en gastos operativos en la disposición de lodo residual (1–1.8 EUR/ton) (Peng et al. 2017), no se requiere la adición de reactivos que contengan NO_2^- (Cano et al. 2018) y compuestos

orgánicos para llevar a cabo la desnitrificación (Deng et al. 2009). De esta forma, dos contaminantes pueden ser tratados al mismo tiempo en el contexto de una PTAR, el H₂S durante la desulfuración anóxica de biogás y la eliminación de amonio en el agua de rechazo.

Oxidación anaerobia de amonio

La oxidación anaerobia de amonio, abreviado como ANAMMOX, es un proceso que ofrece una nueva vía biológica en la remoción de nitrógeno la cual consiste en convertir el amonio a nitrógeno gas utilizando nitrito como aceptor de electrones en ausencia de oxígeno. La reacción con la cual se describe el proceso ANAMMOX se presenta en la Ecuación 7 (Caffaz et al. 2006):



El tipo de microorganismos que llevan a cabo este proceso son conocidas como bacterias ANAMMOX y son cinco los géneros identificados como: *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia*, *Candidatus Jettenia*, *Candidatus Scalindua* y *Candidatus Anammoxoglobus* (Peeters y van Niftrik 2019). Las bacterias ANAMMOX adquieren energía de la reducción de nitrito anaeróbicamente usando NH₄⁺ como donador de electrones en el cual el NO₂⁻ primero es reducido a óxido nítrico (NO) que posteriormente es combinado con amonio para formar hidrazina (N₂H₄) y finalmente es oxidada a nitrógeno gas (N₂) (Peeters y van Niftrik 2019). En términos de requerimiento de carbono las bacterias ANAMMOX son quimiolitautótrofas, que utilizan CO₂ como principal fuente de carbono. Este proceso ha sido desarrollado para ser aplicado principalmente al tratamiento de aguas residuales con

alta concentración de amonio como los lixiviados de rellenos sanitarios, los efluentes del proceso de digestión anaerobia y de la industria química (Chen et al. 2018). Uno de los principales retos en la aplicación del proceso ANAMMOX a gran escala es que el NO_2^- requerido como sustrato por las bacterias pocas veces existe en el agua residual, lo cual requeriría su adición (Sheng et al. 2020). Sin embargo, el proceso ANAMMOX puede ser combinado con la nitrificación como fuente de nitrito. El acoplamiento de ambos procesos ofrece una eficiencia de remoción de amonio hasta del 90% y en comparación con el proceso de nitrificación-desnitrificación tradicional tiene las ventajas de no requerir la adición de materia orgánica, reduce el consumo de aireación en un 60% dado que sólo el 50% del NH_4^+ presente en el influente debe ser oxidado a NO_2^- como pretratamiento para el proceso ANAMMOX (Furukawa et al. 2009), además de disminuir la producción de lodo en un 90% (Liu et al. 2019). En vista de las ventajas que ofrece el proceso, hay gran interés en el desarrollo y mejora en la remoción de nitrógeno usando ANAMMOX acoplado con la nitrificación.

Oxidación anaerobia de metano

El metano (CH_4) es un gas incoloro e inodoro considerado como el segundo gas de efecto invernadero más importante, con un potencial de calentamiento global 28 veces mayor que el dióxido de carbono y contribuye con aproximadamente el 20% del calentamiento global (Luo et al. 2019). Una fuente importante de emisión antropogénica de CH_4 proviene de los efluentes de la digestión anaerobia (digestato). El CH_4 disuelto en el digestato se volatiliza al salir del digestor al ser expuesto a presión y temperatura ambiente (López et al. 2013).

La liberación de CH₄ a la atmósfera proveniente de una PTAR representa entre 13.5 y 31% de la huella de carbono de la planta superando la contribución por dióxido de carbono debido al consumo de electricidad (Chen et al. 2015). Más del 55% de las emisiones antropogénicas de CH₄ poseen concentraciones por debajo del límite de explosividad del metano (5% v/v) los cuales no son compatibles para la producción de energía o el uso de la oxidación química para la remoción de CH₄ (La et al. 2018). A surgido la necesidad de desarrollar un proceso ambientalmente amigable y económico que reduzca las emisiones de CH₄ (López et al. 2013). Recientes investigaciones han reportado la oxidación anóxica de metano desnitrificante (DAMO: denitrifying anoxic methane oxidation) la cual ofrece una potencial alternativa al acoplar el proceso DAMO con la nitrificación. El proceso consiste en oxidar CH₄ bajo condiciones anóxicas utilizando NO₂⁻ como aceptor de electrones y metano como donador de electrones obteniendo al mismo tiempo el proceso de desnitrificación con base a la reacción en la Ecuación 8 (Liu et al. 2019).



Los microorganismos que pueden catalizar dicho proceso son bacterias y arqueas. Las especies que han sido identificadas con la capacidad de acoplar la oxidación de metano con la reducción de NO₂⁻ a N₂ son *Candidatus Methyloirabilis oxyfera* y *Candidatus Methyloirabilis Lanthanidiphila* (Gupta y Goel 2019). La aplicación de estos microorganismos provee una alternativa para remover simultáneamente nitrógeno en el tratamiento de aguas residuales y disminuir las emisiones de CH₄ (Liu et al. 2019). Sin embargo, la escasa solubilidad del CH₄ en agua (menos de 20 mg/L a 30°C y 100 kPa de presión parcial del CH₄), hace lento el proceso de desnitrificación (He et al. 2015). A pesar

de ello Valenzuela et al. (2021) establecieron el proceso DAMO en un reactor de tanque agitando suministrando CH_4 de forma continua obteniendo capacidades de eliminación de 21 a 55 g CH_4/m^3 h, así la oxidación anaerobia de metano puede realizarse de forma continua y con la posibilidad de ser implementado bajo condiciones operacionales pertinentes en el contexto de una PTAR, mejorando su factibilidad ambiental al minimizar las emisiones de CH_4 a la atmósfera. Aun así, hacen falta estudios sistemáticos en el uso de nitrito como agente oxidante en el proceso DAMO.

JUSTIFICACIÓN

Las descargas de aguas residuales con alto contenido de nitrógeno amoniacal en cuerpos de agua pueden causar problemas ambientales graves como la eutrofización, por lo que la remoción de nitrógeno es obligatorio y está estrictamente regulado (Guo et al. 2010; Mousavi et al. 2018). La nitrificación se ha reportado como un proceso factible para el tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de amonio al requerir hasta un 25% menos oxígeno en comparación con la nitrificación completa (Peng y Zhu 2006). Por otra parte, el nitrito generado puede ser utilizado en otros procesos relevantes de la PTAR, tales como en la desulfuración anóxica de biogás, en la remoción de metano disuelto en el digestato y en la implementación del proceso ANAMMOX. Al establecer un proceso de nitrificación se debe favorecer a las bacterias amonio oxidantes (AOB) y limitar la actividad de bacterias nitrito oxidantes (NOB). Para lograrlo, se ha reportado como factor principal de control la concentración de O_2 disuelto que se recomienda mantener entre 0.5–1.0 mg O_2/L (Ruiz et al. 2003; Sinha y Annachhatre 2007a). El control de O_2 disuelto requiere la implementación de un sistema de dosificación de oxígeno. Sin embargo, se ha reportado poca estabilidad del proceso en operaciones a largo plazo incluso con controles sofisticados para mantener una baja concentración de O_2 disuelto (Bao et al. 2017; Cui et al. 2020). Además, la mayoría de los estudios de nitrificación son implementados en reactores discontinuos secuenciales (SBR) y existen pocos reportes en sistemas en continuo (CSTR) (Soliman y Eldyasti 2018; Liu et al. 2020) debido a la dificultad de establecer una nitrificación que se mantenga estable en el tiempo (Sui et al. 2020). Por lo tanto, hace falta investigación sistemática para la implementación de procesos de nitrificación en sistemas continuos, así

como el desarrollo de estrategias de dosificación de O_2 de fácil implementación que permitan una alta selectividad de oxidación de amonio a nitrito. El propósito del presente trabajo fue implementar el proceso de nitrificación en un sistema continuo, así como desarrollar estrategias de dosificación de oxígeno que permitan mantener bajas concentraciones de oxígeno disuelto sin requerir una instrumentación sofisticada. Además, se realizó la caracterización de la comunidad microbiana por técnicas de biología molecular de última generación con la finalidad de identificar a los microorganismos involucrados y asociarlos con el desempeño del proceso.

HIPÓTESIS

La oxidación selectiva de amonio a nitrito se conseguirá mediante el control de la concentración de O_2 disuelto y del valor de pH en un reactor operado en continuo.

OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar estrategias de dosificación de oxígeno de fácil implementación y evaluar el efecto de la concentración de oxígeno disuelto en la oxidación selectiva de amonio a nitrito.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Implementar estrategias de dosificación de O_2 basadas en aireación intermitente y en un sistema de control de fácil implementación utilizando valores consigna para mantener bajas concentraciones de oxígeno disuelto.
- 2) Evaluar el efecto de la concentración de O_2 disuelto en la oxidación selectiva de amonio a nitrito.
- 3) Asociar el desempeño del proceso de nitrificación con las comunidades microbianas presentes bajo las diferentes condiciones de operación estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

INÓCULO Y AGUA RESIDUAL SINTÉTICA

El inóculo fue un lodo secundario de recirculación de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas (Santa Rosa Jáuregui, Santiago de Querétaro). El reactor se inoculó con el 10% de lodo con respecto al volumen de trabajo y se alimentó con agua de rechazo sintética de acuerdo con Bao et al. (2018), el cual tuvo la siguiente composición (g/L): 0.75, 1.5, 3.1 NH₄Cl; 0.5 NaHCO₃; 0.064 KH₂PO₄; 0.064 K₂HPO₄. Se adicionaron 2 mL/L de una disolución de elementos traza cuya composición se presenta en la Tabla 4. Las concentraciones de NH₄Cl estudiadas correspondieron con concentraciones de N-NH₄⁺ de 200, 400 y 800 mg N/L, respectivamente. El valor de pH se ajustó a un valor de 7.5 con HCl 0.2 M.

Tabla 4. Composición de la disolución de elementos traza (Modificado de Vadivelu et al. 2006; Bao et al. 2018)

Elementos traza	Concentración (g/L)
EDTA	1.25
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.55
CoCl ₂ •6H ₂ O	0.40
MnCl•4H ₂ O	1.275
CuSO ₄ •5H ₂ O	0.40
NaMoO ₄ •2H ₂ O	0.05
CaCl•2H ₂ O	1.375
FeCl ₃ •6H ₂ O	1.25
MgSO ₄ •7H ₂ O	44

OPERACIÓN DEL REACTOR Y ESTRATEGIAS DE DOSIFICACIÓN DE O₂

El proceso de nitrificación se implementó en un biorreactor de tanque agitado (altura = 12.5 cm, diámetro interno = 12.4 cm, volumen de trabajo de 1.3 L) operado en modo continuo (Figura 3). El reactor se agitó a 300 rpm por medio de un agitador magnético y se alimentó con agua de rechazo sintética a un flujo de 0.28 mL/min por medio de una bomba peristáltica, correspondiendo con un TRH de 36 h, el cual se mantuvo durante toda la experimentación. Se instaló un sedimentador para la recirculación de biomasa por medio de una bomba peristáltica operada a un flujo de 0.28 mL/min. La purga de líquido del reactor se realizó a un flujo de 0.56 mL/min para mantener el volumen constante.

El reactor fue instrumentado para medir y controlar la concentración de O₂ disuelto (OD) y el valor de pH por medio de una tarjeta de adquisición de datos y una unidad de control digital (Vernier®, Oregon, Estados Unidos). La aireación fue provista por medio de un compresor de aire (Hagen Elite 799) a un flujo de 1.2 L/min. La concentración de OD fue monitoreada mediante un sensor óptico de OD de última generación (ODO-BTA, Vernier®, Oregon, Estados Unidos). La instrumentación implementada permitió la adquisición de datos online tanto de OD como de pH durante todo el experimento.

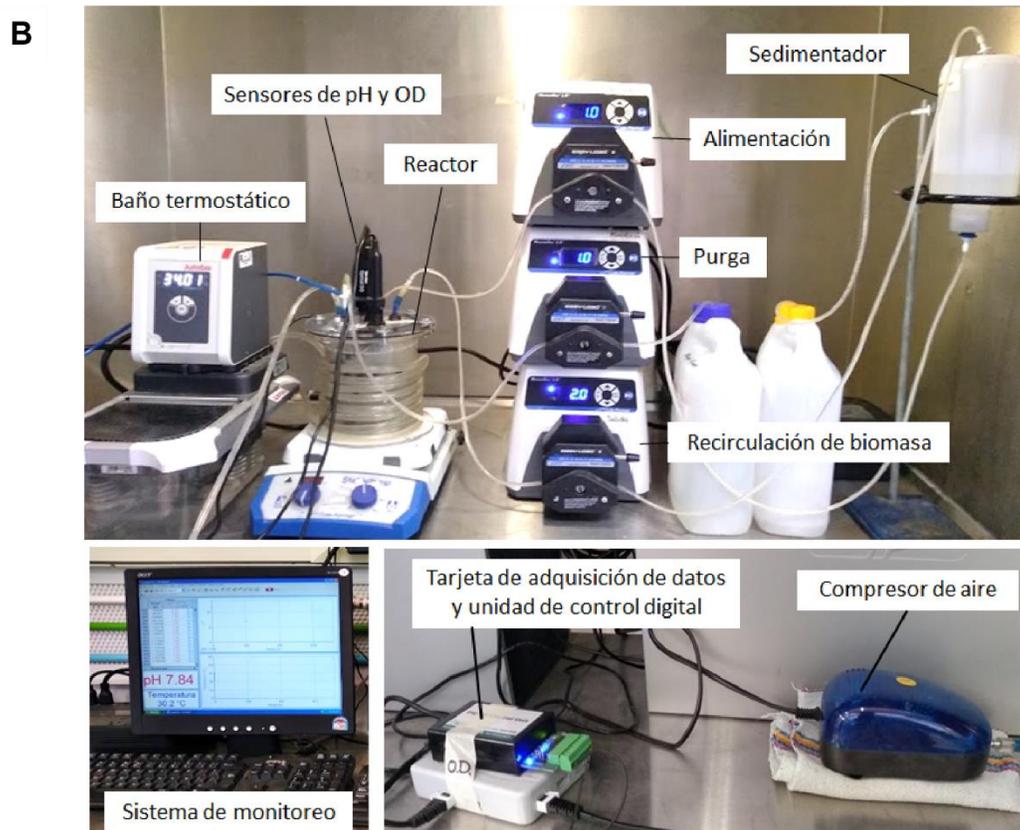
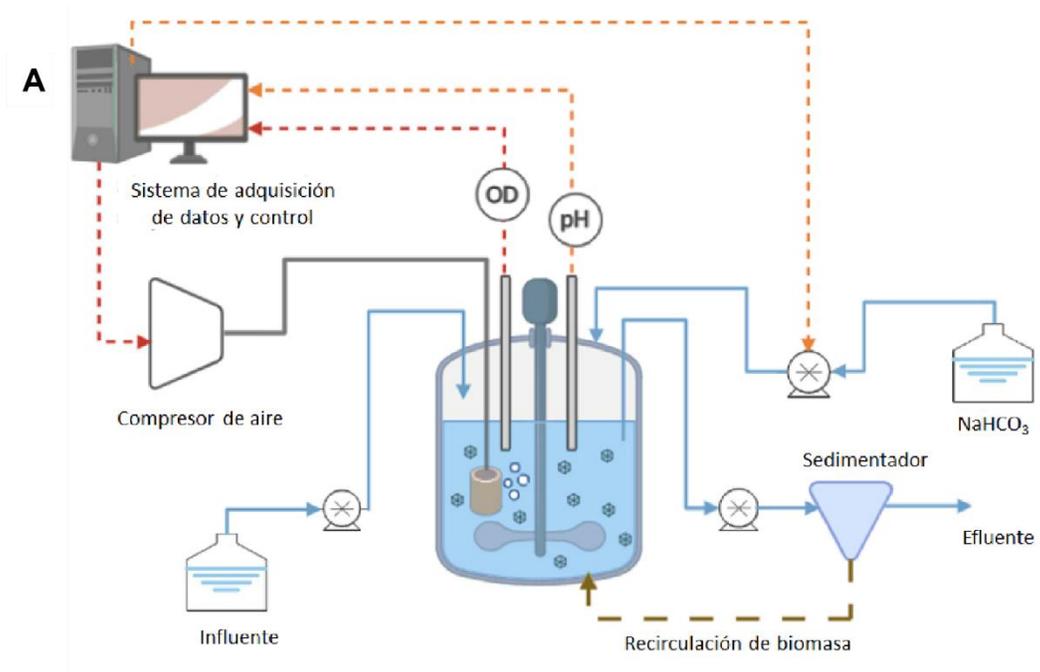


Figura 3. (A) Esquema del módulo de nitritación, (B) biorreactor operando en continuo con recirculación de biomasa, sistema de control de pH y OD.

Para la dosificación de O₂ se implementaron dos estrategias. En la primera, se utilizó un sistema de control asignando valores consigna (set points) de concentración de OD en el reactor. Cuando la concentración de OD estaba por debajo del valor de consigna, el compresor de aire se encendía hasta que la concentración de OD era mayor o igual al valor de consigna. En la segunda estrategia, se utilizó una aireación intermitente en la que se asignaron periodos cíclicos de 100 s, en los cuales la aireación se activaba durante 5, 15, 25 o 35 s. Para el control de pH, la unidad de control digital activaba la dosificación de una disolución de 60 g/L de NaHCO₃ cuando el pH se encontraba por debajo del valor consigna de 7.5. La temperatura se controló a 30°C mediante un serpentín que cubrió el reactor en la superficie externa conectado a un baño de agua (Julabo CD-BT27). La Tabla 5 presenta las condiciones de operación del reactor en las diez fases experimentales investigadas.

Tabla 5. Estrategias de dosificación de O₂ y cargas de amonio estudiadas en el reactor de nitrificación.

Fase experimental	Estrategia de aireación	Valor consigna (mg O₂/L) / Tiempo de aireación (s/100 s)	Carga de N-NH₄⁺ (g/m³ h)
I	Valor consigna de OD	0.4	5.1
II	Valor consigna de OD	0.15	5.1
III	Valor consigna de OD	0.03	5.1
IV	Valor consigna de OD	0.3	5.1
V	Valor consigna de OD	0.6	5.1
VI	Valor consigna de OD	0.3	2.5
VII	Tiempo de aireación	5	5.1
VIII	Tiempo de aireación	15	10.1
IX	Tiempo de aireación	25	10.1
X	Tiempo de aireación	35	10.1

DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERENCIA DE O₂

El coeficiente volumétrico de transferencia de O₂ (K_La) se determinó con el objetivo de conocer la tasa de suministro de O₂ a la fase líquida. La determinación del K_La se realizó en un medio abiótico, utilizando el agua de rechazo sintética anteriormente descrita con una concentración de 800 mg N-NH₄⁺/L. El reactor se burbujeó con N₂ hasta que la concentración de OD fue aproximadamente cero. Posteriormente, inició la aireación al mismo flujo que se utilizó durante la operación del biorreactor (1.2 L/min) y se midió la concentración de OD hasta alcanzar el valor de saturación. Este experimento se realizó por duplicado. Con los datos de la concentración de OD se determinó el valor de K_La (parámetro de ajuste) utilizando la Ecuación 9 (García-Ochoa y Gómez, 2009). El tiempo de respuesta de la sonda O₂ no se consideró al ser << a 1/ K_La.

$$\ln\left(\frac{C^* - C_L}{C^*}\right) = -K_L a (h^{-1}) \times t(h) \quad (9)$$

Para calcular el O₂ suministrado al reactor se utilizó la Ecuación 10, la cual considera el valor de K_La determinado experimentalmente, el gradiente de concentración de O₂ entre la concentración de saturación (C*) y la concentración de OD promedio de cada fase experimental (C_L), así como el tiempo de aireación efectivo (t_a) que corresponde al tiempo que el compresor de aire se mantuvo encendido en un día de operación. Para las fases VII a X, los tiempos efectivos de aireación se fijaron con el sistema de control utilizado de acuerdo con la Tabla 5.

$$\text{Suministro } O_2 = K_L a \times (C^* - C_L) \times t_a \quad (10)$$

MÉTODOS ANALÍTICOS

Para determinar el desempeño de la nitrificación parcial se determinaron los siguientes parámetros en fase líquida. Las muestras líquidas se pasaron por un filtro de 0.45 μm y se determinó la concentración de nitrito, nitrato, amonio y carbono inorgánico. La cuantificación de los iones NO_2^- y NO_3^- se realizó por cromatografía de iones (DIONEX ICS-1500, Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Se utilizó una columna IonPac AS23 (4 mm x 200 mm), detector de conductividad y supresor. Las condiciones de trabajo fueron: horno a 30°C, supresor a 25 mA, fase móvil de 4.5 mM Na_2CO_3 y 0.8 mM NaHCO_3 a un flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de 25 μL . La cuantificación de NH_4^+ se realizó con el Método Salicilato usando el kit Test'N Tube Hach con intervalo de 0.4–50.0 mg N-NH₃/L. El carbono inorgánico total (CIT) se determinó con un analizador TOC-L (Shimadzu, Japón). La determinación de sólidos suspendidos volátiles (SSV) se realizó de acuerdo con los Métodos Estándar (APHA, 1998).

PARÁMETROS DE EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL PROCESO DE NITRITACIÓN

- Eficiencia de remoción de amonio (ERA)

$$ERA (\%) = \frac{[N-NH_4^+]_{inf} - [N-NH_4^+]_{efl}}{[NH_4^+ - N]_{inf}} \times 100 \quad (11)$$

- Selectividad de oxidación a nitrito

$$SOx_{NO_2^- - N} (\%) = \frac{[N-NO_2^-]_{efl}}{([N-NH_4^+]_{inf} - [N-NH_4^+]_{efl})} \times 100 \quad (12)$$

- Selectividad de oxidación a nitrato

$$SOx_{NO_3^- - N}(\%) = \frac{[N-NO_3^-]_{efl}}{([N-NH_4^+]_{inf} - [N-NH_4^+]_{efl})} \times 100 \quad (13)$$

EXTRACCIÓN DE ADN Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Con la finalidad de conocer los cambios en la comunidad microbiana, bacterias y arqueas fueron caracterizadas en el lodo activado utilizado para el enriquecimiento de la comunidad nitrificante, así como la biomasa aclimatada en las diferentes fases de operación del biorreactor. Fueron recolectados 50 mL de muestra del líquido y almacenadas a -20°C. El ADN fue extraído utilizando el kit Power soil® DNA Isolation (MOBIO, Estados Unidos) utilizando 200 µL del sólido de cada muestra. La concentración de ADN fue medida utilizando un espectrofotómetro NANODrop 2000c UV-Vis (Thermo Scientific, Estados Unidos). Las muestras de ADN fueron entregadas al laboratorio RTL (Research and Testing Laboratory, Lubbock, Estados Unidos) para el secuenciamiento Illumina Miseq de bacterias y arqueas (16S rRNA, pimers: 515F 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3', 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'). El secuenciamiento fue analizando, usando el paquete de datos DADA2 v.1.6 en el software R (Callahan et al. 2016). Las lecturas directas (forward) y reversas (reverse) fueron filtradas y truncadas en 270 y 200 nucleótidos, respectivamente, posteriormente los pares fueron emparejados. Las secuencias quimeras fueron removidas, y una tabla de ASV (Amplicon Sequence Variant) fue obtenido. La taxonomía se asignó a secuencias representativas utilizando el clasificador Bayesian trained against SILVA release v132. Por último, se calculó las abundancias relativas y se eligieron los 50 ASVs con la mayor abundancia y el resto se conjunto en la categoría "otros".

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ESTRATEGIAS DE DOSIFICACIÓN DE O₂

La concentración de OD se utilizó como factor principal para establecer el proceso de nitrificación, para ello se implementaron dos estrategias de dosificación de O₂. De la fase experimental I a la VI se utilizó un sistema de control con valores consigna de OD (Figura 4A). Esta estrategia de dosificación de O₂ funcionó correctamente al mantener las concentraciones de OD próximas a los valores consigna de 0.4, 0.15, 0.03, 0.3, 0.6 y 0.3 mg O₂/L establecidos en las fases I–VI, respectivamente, las cuales correspondieron con valores promedio de OD igual a 0.5, 0.2, 0.06, 0.4, 0.8 y 0.6 mg O₂/L (Figura 4B). Es importante mencionar que esta estrategia de control tipo ON/OFF fue de fácil implementación ya que no requirió de equipos de instrumentación y programación sofisticados.

Conociendo el valor de K_{La} ($25.6 \pm 2.6 \text{ h}^{-1}$) y el tiempo de aireación efectivo se determinó el suministro de O₂ al reactor, el cual se comparó con el requerimiento de O₂ teórico para la formación de nitrito y nitrato, de acuerdo con las Ecuaciones 1 y 2, así como las cargas de amonio utilizadas (Tabla 6). Con esta información se determinó que en las fases I a VI el suministro de O₂ fue de 320 a 932 mg O₂/m³ d, resultando en un exceso de O₂ hasta 2 veces más respecto al O₂ teórico requerido para la formación de NO₂⁻, a excepción de la fase III donde el suministro de O₂ fue menor. A pesar de que en la fase III el sistema estuvo limitado por O₂, no se observó una formación preferente de N-NO₂⁻ al igual que en las fases V y VI en las que hubo un excedente de O₂. Esto indica que el control en el OD no fue suficiente para establecer la nitrificación.

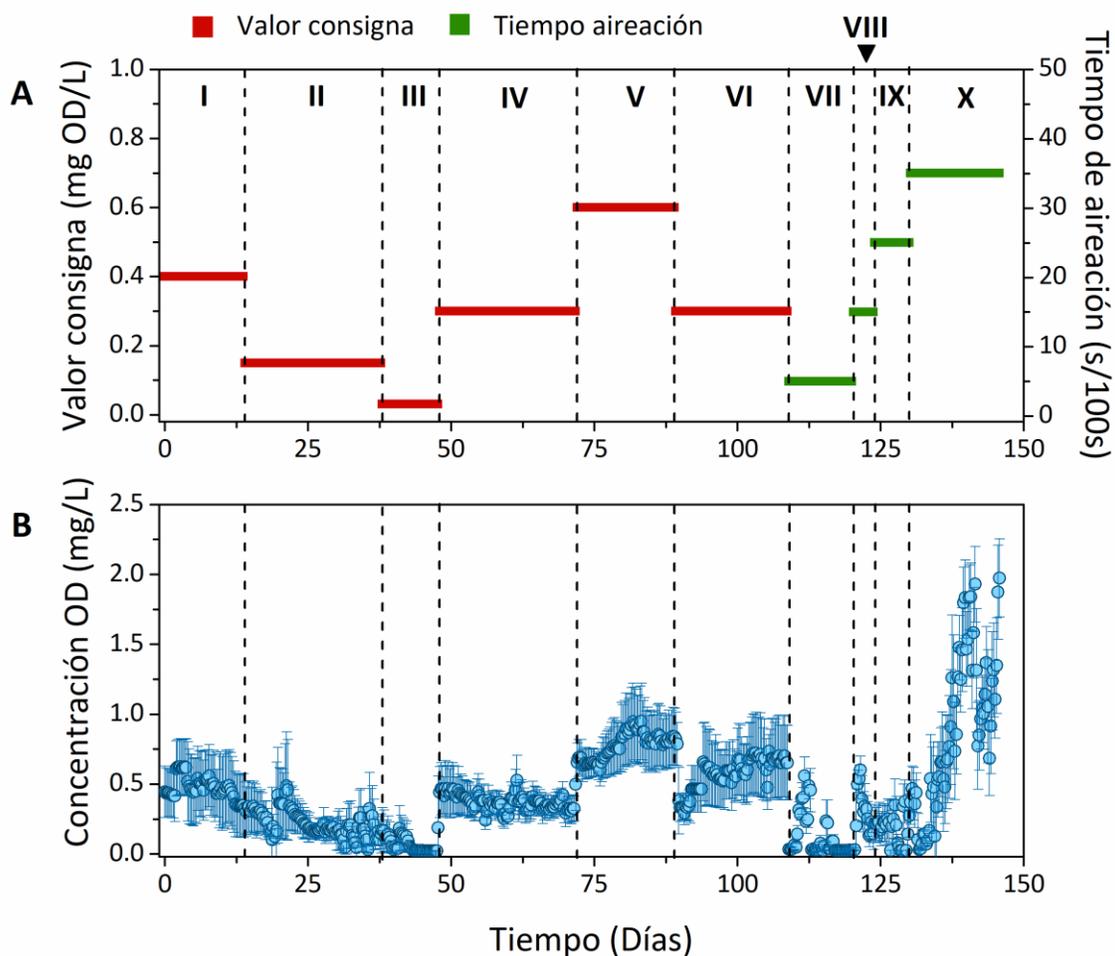


Figura 4. (A) Estrategias de dosificación de O₂ con valores consigna y tiempo de aireación, (B) concentración de oxígeno disuelto (OD) experimental. Los números romanos indican las fases experimentales.

En las fases VII a X la estrategia de dosificación de O₂ cambió a una aireación por tiempo. Los incrementos en los tiempos de aireación (Figura 4A) resultaron en un aumento de la concentración de OD determinada de forma experimental (Figura 4B). Tiempos de aireación de 5, 15, 25 y 35 s cada 100 s correspondieron con valores promedio de OD de 0.1 ± 0.04 , 0.2 ± 0.04 , 0.2 ± 0.06 , 0.9 ± 0.15 mg O₂/L, respectivamente. Respecto al suministro de O₂ en las fases experimentales VII y VIII, el proceso estuvo limitado por aceptor de electrones. Por

el contrario, en las fases IX y X el O_2 suministrado incrementó hasta $1,309 \pm 15.8 \text{ g } O_2/m^3 \text{ d}$, resultando en una selectividad de oxidación a $N-NO_2^-$ del $94 \pm 0.6\%$. El suministro de O_2 para las fases mencionadas fue de 1.5 veces más respecto a la demanda estequiométrica, sin afectar la alta selectividad de oxidación de amonio a nitrito. El sistema de dosificación de O_2 por tiempo fue de fácil implementación, ya que no requirió una acción de control y, cuando el tiempo de aireación se ajustó adecuadamente, se obtuvieron altas selectividades a nitrito, aun cuando se tuvo un ligero exceso en el suministro de O_2 .

Para fines de este trabajo, ambas estrategias de dosificación de O_2 lograron mantener bajas concentraciones de OD con un valor promedio máximo alcanzado de $0.9 \pm 0.07 \text{ mg } O_2/L$ en la fase X. Además, las estrategias utilizadas fueron de fácil implementación y operación en comparación a otros sistemas de control sofisticados reportados por Jaramillo et al. (2018). Los resultados obtenidos indicaron que el control de la concentración de OD no es el único parámetro que debe considerarse para conseguir un proceso de nitrificación estable. En las fases experimentales I–VI no se observó un proceso estable incluso cuando las concentraciones de O_2 siempre fueron menores a 1 mg/L , tal y como se recomienda en la literatura (Ruiz et al. 2003; Sinha y Annachhatre 2007a; Blackburne et al. 2008).

Tabla 6. Suministro de O₂ al reactor y requerimiento estequiométrico de O₂ para la producción de nitrito y nitrato.

Fase experimental	Días de operación	O ₂ suministrado* (g/m ³ d)	O ₂ requerido formación de NO ₂ ⁻ ** (g/m ³ d)	O ₂ requerido formación de NO ₃ ⁻ ** (g/m ³ d)
I	0–14	603 ± 87	417	555
II	15–38	747 ± 107	417	555
III	39–47	320 ± 46	417	555
IV	48–71	932 ± 134	417	555
V	72–90	700 ± 101	417	555
VI	91–109	344 ± 49	209	278
VII	110–120	212 ± 31	417	555
VIII	121–124	624 ± 90	830	1,104
IX	125–130	1,042 ± 150	830	1,104
X	131–145	1,309 ± 188	830	1,104

*Valor obtenido a partir de la Ecuación 10.

**Valor obtenido a partir de la carga de amonio y la estequiometría de la reacción (Ecuaciones 1 y 2).

DESEMPEÑO DE LA REMOCIÓN DE N-NH₄⁺

Los resultados en las eficiencias de remoción de amonio (ERA) obtenidas se muestran en la Figura 5. Se observa que al tercer día de operación se alcanzaron remociones de amonio superiores al 80%. En las fases I–VI con la estrategia de dosificación de O₂ basada en valores consigna se mantuvo un valor de ERA mayor al 80%, excepto en la fase III en la que disminuyó hasta un 50% debido al uso de un valor consigna de O₂ disuelto de 0.03 mg/L. En la fase experimental III se restringió el oxígeno suministrado en el sistema para observar su efecto en la selectividad a N-NO₂⁻ y en la remoción de amonio, obteniendo una selectividad a N-NO₂⁻ del 4 ± 2.2% y una fuerte inhibición de la oxidación de amonio por la limitación de O₂. Trabajos previos reportan que concentraciones de OD menores a 0.5 mg/L limitan la

remoción de amonio por falta de aceptor de electrones, además de ocasionar la reducción en la selectividad de oxidación de N-NO_2^- hasta un 35% (Ruiz et al. 2003; Sinha y Annachhatre 2007a). Otros estudios consiguieron más del 70% de conversión de N-NH_4^+ a N-NO_2^- y una insignificante conversión a N-NO_3^- con concentraciones de OD < 0.5 mg/L (Chuang et al. 2007; Blackburne et al. 2008). Bajo las mismas condiciones de OD han reportado una nula selectividad de oxidación a N-NO_2^- (Park y Noguera 2004; Liu y Wang 2013; Fitzgerald et al. 2015). Esta variedad en la selectividad de oxidación a nitrito indica que existen otros factores involucrados a tomar en cuenta además del OD.

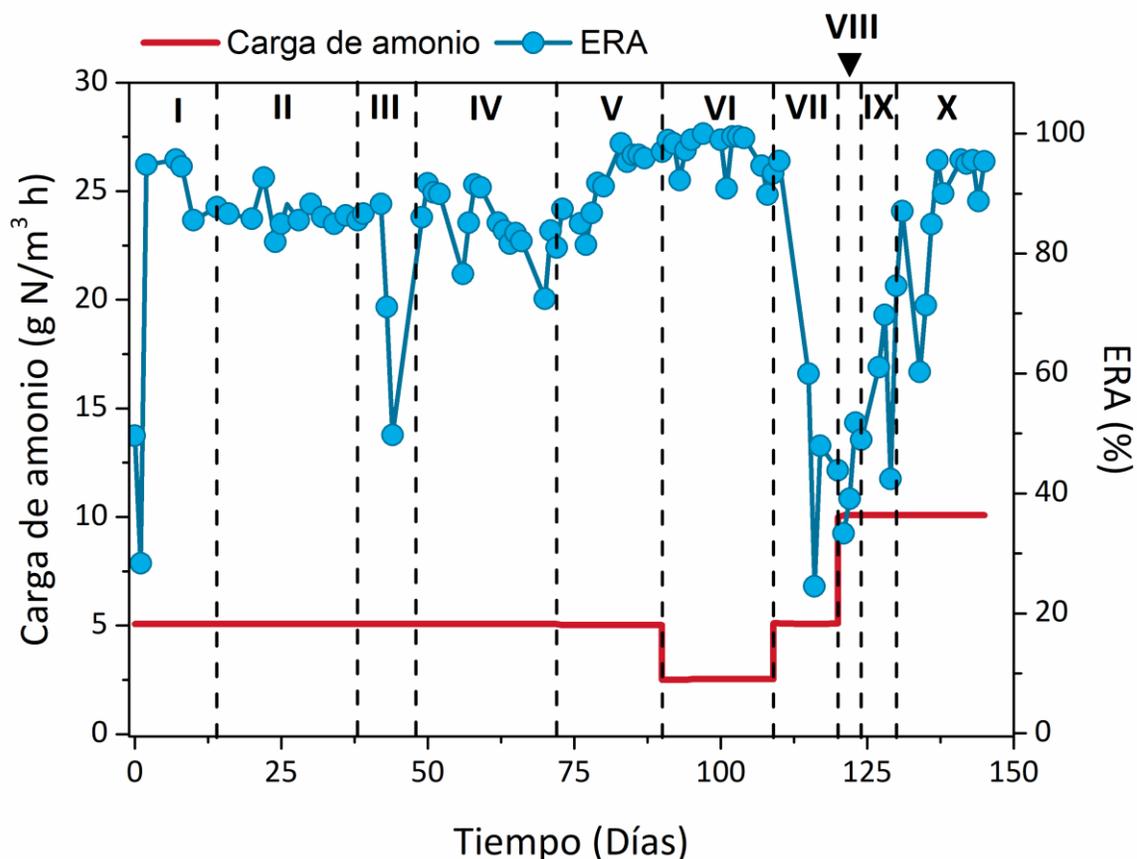


Figura 5. Eficiencia de remoción de amonio (ERA) y cargas de amonio estudiadas en el sistema de nitrificación. Los números romanos indican las fases experimentales estudiadas.

En las fases experimentales VII y VIII se utilizó una aireación por tiempos de 5 s y 15 s cada 100 s, respectivamente. Bajo estas condiciones, el valor de ERA pasó del 97% al inicio de la fase VII a 43% en la fase VIII, esta disminución en la ERA se debió a los cortos tiempos de aireación que restringieron el suministro de O₂ limitando al proceso por aceptor de electrones (Tabla 6). En las fases experimentales IX y X se aumentó el tiempo de aireación a 25 s y 35 s cada 100 s. Bajo estas condiciones el suministro de O₂ se incrementó a 1,042 g/m³ d y 1,309 g/m³ d en las fases IX y X, respectivamente. El mayor suministro de O₂ propició que la ERA alcanzara un valor máximo de 94 ± 1% en la fase X.

Existen algunos estudios previos que implementaron la nitrificación en un sistema operado en continuo. Liu y Yang (2017) reportaron una ERA del 80% para una carga de amonio de 6.24 g/m³ h, mientras que Sui et al. (2020) estudiaron cargas de amonio de 3.3–12 g/m³ h, obteniendo una ERA del 66%. Shao y Wu (2021) obtuvieron remociones del 70.1% para cargas de amonio de 0.8–1.4 g/m³ h. En comparación, el presente trabajo utilizó cargas de amonio de 2.5, 5.1 y 10.1 g/m³ h, similares a los trabajos previos y obtuvo una remoción de amonio mayor a la reportadas hasta el momento cuando no hubo limitación por suministro de O₂.

SELECTIVIDAD DE OXIDACIÓN

En la Figura 6 se muestra la distribución de especies de N-NO_2^- y N-NO_3^- determinadas en el efluente, así como el N-NH_4^+ no removido. Por otro lado, en la Tabla 7 se indican los valores de selectividad de oxidación (SOx) de amonio a nitrito obtenido en cada fase experimental. Durante las fases I a VII el reactor se operó con cargas de amonio relativamente bajas (2.5 y 5.1 g $\text{N-NH}_4^+ / \text{m}^3 \text{ h}$) y la concentración de OD medida experimentalmente varió entre 0.1 y 0.8 mg/L. La presencia de N-NO_2^- se observó a partir del día tres de operación. En las fases experimentales II y III se disminuyó el valor consigna de OD para confirmar una posible inhibición de la actividad de NOB debido a su menor afinidad por O_2 en comparación con AOB (Liu et al. 2020) y así incrementar la selectividad a N-NO_2^- . Sin embargo, la oxidación de N-NH_4^+ a N-NO_2^- decreció hasta $4 \pm 2.2\%$ y el amonio consumido fue principalmente oxidado a N-NO_3^- (Figura 6). Estos resultados indicaron claramente que bajo las cargas de amonio estudiadas y el control de la concentración de OD no fue suficiente para establecer un proceso de nitrificación estable. En este contexto, estudios recientes indican que bajas concentraciones de OD pueden no ser suficientes para obtener una alta selectividad de N-NO_2^- en procesos de nitrificación. Esto se debe a que algunas NOB pueden adaptarse a ambientes con limitación de O_2 , particularmente cuando prevalecen cargas de amonio bajas (Roots et al. 2019; How et al. 2020; Shao y Wu 2021).

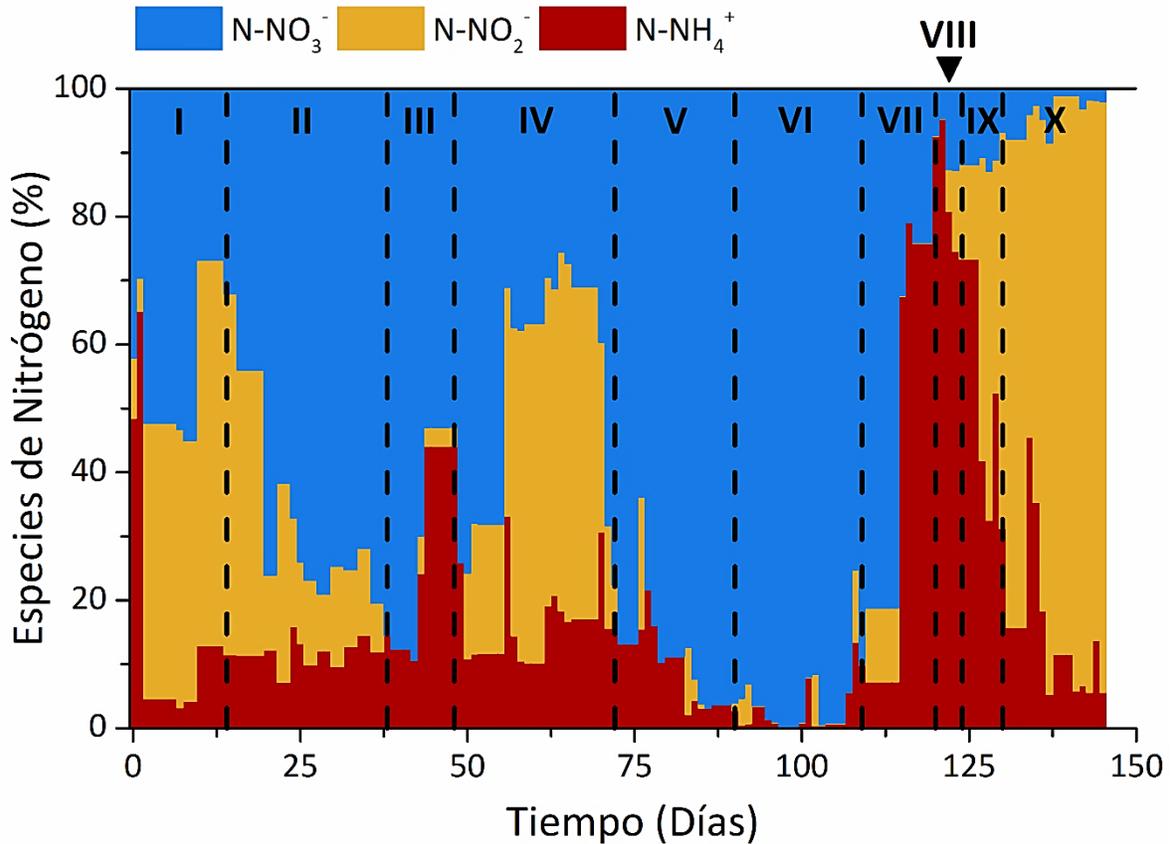


Figura 6. Distribución de especies de nitrógeno en el efluente durante las diferentes fases de operación indicadas con número romanos.

En las fases VIII a X se incrementó la carga de amonio a $10.1 \text{ g N-NH}_4^+/\text{m}^3 \text{ h}$ (Figura 5), mientras que las concentraciones de OD promedio se mantuvieron entre 0.1 y 0.9 mg/L , respectivamente (Tabla 7). El incremento en la carga de amonio resultó en un aumento en la selectividad de oxidación a N-NO_2^- con valores promedio de $80 \pm 2.4\%$ y $94 \pm 0.6\%$ en las fases experimentales IX y X, donde no hubo limitación por suministro de O_2 .

Estos resultados confirmaron que la carga de amonio fue un factor crítico para el establecimiento de la nitrificación, la cual se mantuvo estable durante la fase experimental X. Por lo tanto, mantener bajas concentraciones de OD no garantizó la selectividad de oxidación de N-NH_4^+ a N-NO_2^- . Esto indica que tanto el control de la concentración de OD

como la carga de amonio son parámetros que deben considerarse para el establecimiento de procesos de nitrificación.

Es importante mencionar que el exceso en el suministro de O₂ con respecto a la demanda teórica observado en la fase X no afectó a la selectividad de oxidación de amonio a nitrito, lo cual sugiere que el incremento de la carga de amonio a 10.1 g N-NH₄⁺/m³ h tuvo un efecto importante en aumentar la selectividad a nitrato que fue del 94% en esta fase experimental. Estos resultados también sugieren que no es necesario un control estricto del suministro de OD con cargas de amonio relativamente altas, siendo posible conseguir altas selectividades a nitrito aún con ligeros excesos en la dosificación de O₂, lo cual facilita la implementación de procesos de nitrificación a escalas mayores.

Tabla 7. Datos promedio del desempeño de nitrificación en las fases experimentales estudiadas.

Fase experimental	Días de operación	ERA (%)	SOx* N-NO ₂ ⁻ (%)	Estrategia de dosificación	Concentración OD (mg/L)
				Valor consigna	
I	0–14	95 ± 0.3	53 ± 5.8	0.4 mg/L	0.5 ± 0.01
II	15–38	86 ± 0.7	17 ± 2.0	0.15 mg/L	0.2 ± 0.01
III	39–47	74 ± 8.9	4 ± 2.2	0.03 mg/L	0.06 ± 0.01
IV	48–71	85 ± 1.4	57 ± 2.0	0.3 mg/L	0.4 ± 0.01
V	72–90	95 ± 0.9	2 ± 1.0	0.6 mg/L	0.8 ± 0.02
VI	91–109	97 ± 1.0	2 ± 1.1	0.3 mg/L	0.6 ± 0.01
				Tiempo de aireación	
VII	110–120	44 ± 7.4	0 ± 0.0	5 s/100 s	0.1 ± 0.02
VIII	121–124	43 ± 4.3	45 ± 7.0	15 s/100 s	0.2 ± 0.02
IX	125–130	62 ± 7.1	80 ± 2.4	25 s/100 s	0.2 ± 0.03
X	131–145	94 ± 1.1	94 ± 0.6	35 s/100 s	0.9 ± 0.07

*Selectividad de oxidación del amonio consumido a nitrito.

SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES Y CARBONO INORGÁNICO TOTAL

Como medida de la concentración de biomasa presente en el reactor se determinaron los sólidos suspendidos volátiles (SSV), los cuales se muestran en la Figura 7A. En las fases IV y VII se añadió lodo secundario con el propósito de aumentar la presencia de AOB debido a la baja selectividad de oxidación de nitrito registrada en fases experimentales previas. De forma general, la concentración de biomasa se mantuvo entre 190 y 870 mg SSV/L. En las fases experimentales I–VI se observaron concentraciones de SSV entre 190 y 500 mg/L, mientras que para las fases VII–X se registraron concentraciones de 650 y 870 mg/L, respectivamente. Estos resultados indicaron que el sedimentador implementado fue eficiente para retener la biomasa, permitiendo la operación en continuo del sistema de nitrificación. Mantener una recirculación continua de sólidos contribuyó a establecer bacterias nitrificantes, tanto AOB como NOB, en un corto periodo de tiempo (5 días). Las concentraciones de SSV establecidas en el presente trabajo fueron similares a las reportadas en los escasos estudios de nitrificación operados en continuo. Por ejemplo, Galí et al. (2007) reportan una concentración de 400 mg SSV/L en un sistema de nitrificación, valor semejante al obtenido por Jianlong y Ning (2004) de 550 mg SSV/L.

Por otra parte, la Figura 7B muestra la concentración de carbono inorgánico total (CIT), la cual se mantuvo entre 20 y 60 mg/L a lo largo de las diez fases experimentales. Es importante mencionar que los microorganismos nitrificantes son autotróficos por lo que requieren de carbono inorgánico para su crecimiento. Por esta razón, el ion bicarbonato (HCO_3^-) fue empleado como fuente de carbono en la alimentación al reactor y también se suministró mediante la disolución stock de bicarbonato utilizada para el control de pH,

evitando limitaciones de carbono inorgánico en el proceso de nitrificación. En este contexto, diversos autores coinciden que la falta de carbono inorgánico puede disminuir drásticamente la eficiencia de oxidación de amonio a nitrito y nitrato (Terada et al. 2013; Durán et al. 2014). De acuerdo con la Figura 7, no hubo limitación por carbono inorgánico en ninguna de las fases experimentales, lo cual permitió una alta remoción de amonio cuando no hubo restricción de O_2 disuelto.

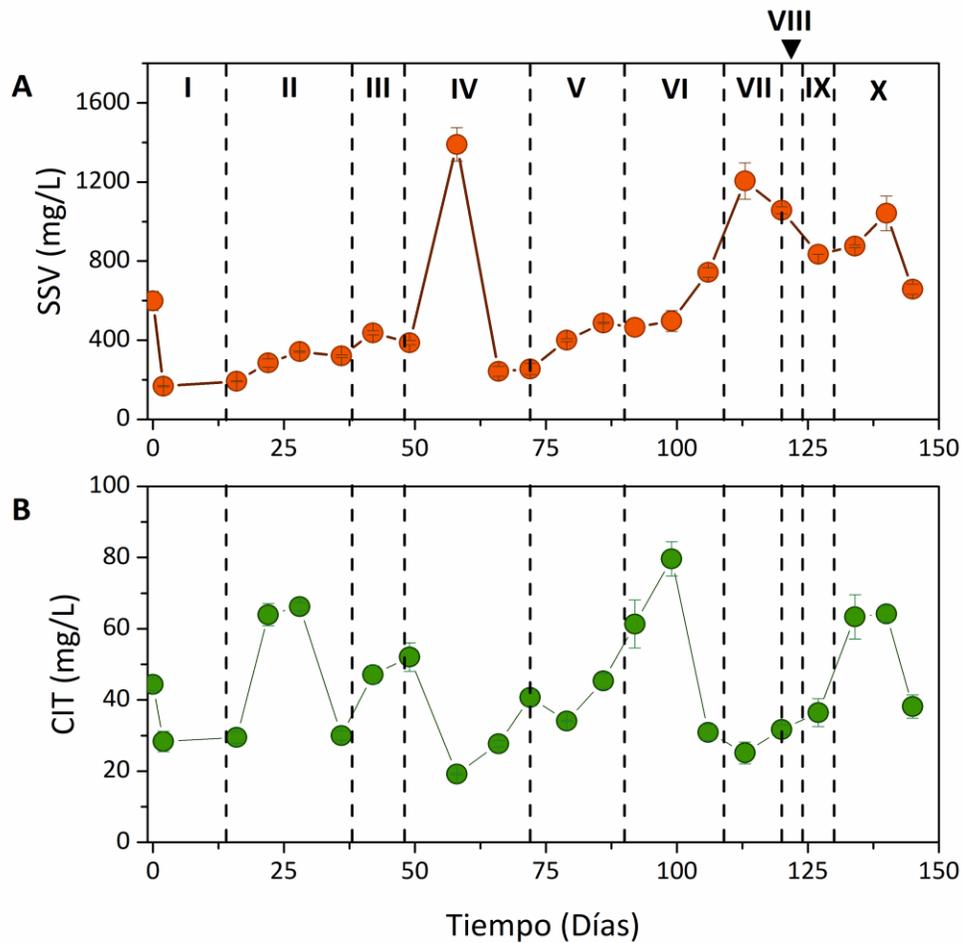


Figura 7. (A) Concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) y (B) carbono inorgánico total (CIT) a lo largo del tiempo de operación del reactor.

ANÁLISIS DE LA COMUNIDAD MICROBIANA

Los resultados obtenidos sobre el impacto de la carga de amonio en el desempeño del proceso de nitrificación sugirieron que este parámetro tuvo efectos en la comunidad microbiana, ya que una vez que la carga de amonio se incrementó a $10.1 \text{ g/m}^3 \text{ h}$ se observó una mejora evidente en la selectividad de oxidación a nitrito, particularmente en las fases experimentales IX y X donde no hubo limitación por suministro de O_2 . Se caracterizaron las comunidades microbianas presentes en el lodo utilizado como inóculo y aquellas presentes en las fases experimentales II, III, IV, V, VI, VII, VIII y X, con el fin de identificar un posible efecto de la carga de amonio en la composición de los microorganismos en el reactor.

De acuerdo con la Figura 8A, los géneros de bacterias nitrificantes identificados en el inóculo tuvieron una abundancia relativa despreciable ($<2\%$). En contraste, la biomasa desarrollada en las fases experimentales II–VI muestran un claro enriquecimiento de géneros de bacterias nitrificantes (*Nitrosomonas* y *Nitrospira*) como respuesta a las condiciones de operación implementadas en el reactor. Durante las fases experimentales I a VI se mantuvieron concentraciones promedio de OD de $0.06\text{--}0.8 \text{ mg/L}$ (Tabla 7) y se trabajó a cargas de amonio de 2.5 y $5.1 \text{ g N-NH}_4^+/\text{m}^3 \text{ h}$. Bajo estas condiciones predominaron las bacterias del género *Nitrospira* (oxidadora de nitrito a nitrato) cuya abundancia relativa osciló entre un 34% y 60% respecto a toda la comunidad bacteriana identificada (Figura 8B). Considerando sólo a las bacterias nitrificantes identificadas, la abundancia del género *Nitrospira* estuvo entre el 56% y 88% en las fases II y VI (Figura 9). Por otra parte, bacterias del género *Nitrosomonas* (oxidadora de amonio a nitrito) presentaron abundancias relativas entre el 2% al 13% con respecto a la comunidad total de bacterias identificadas,

mientras que considerando sólo a las bacterias nitrificantes, su abundancia fue del 11% al 37% para las fases II a VI. De acuerdo con lo anterior, y considerando las bajas concentraciones de O₂ disuelto en esas fases experimentales, la baja abundancia de AOB se atribuyó a su menor afinidad por O₂ en comparación con el género *Nitrospira*.

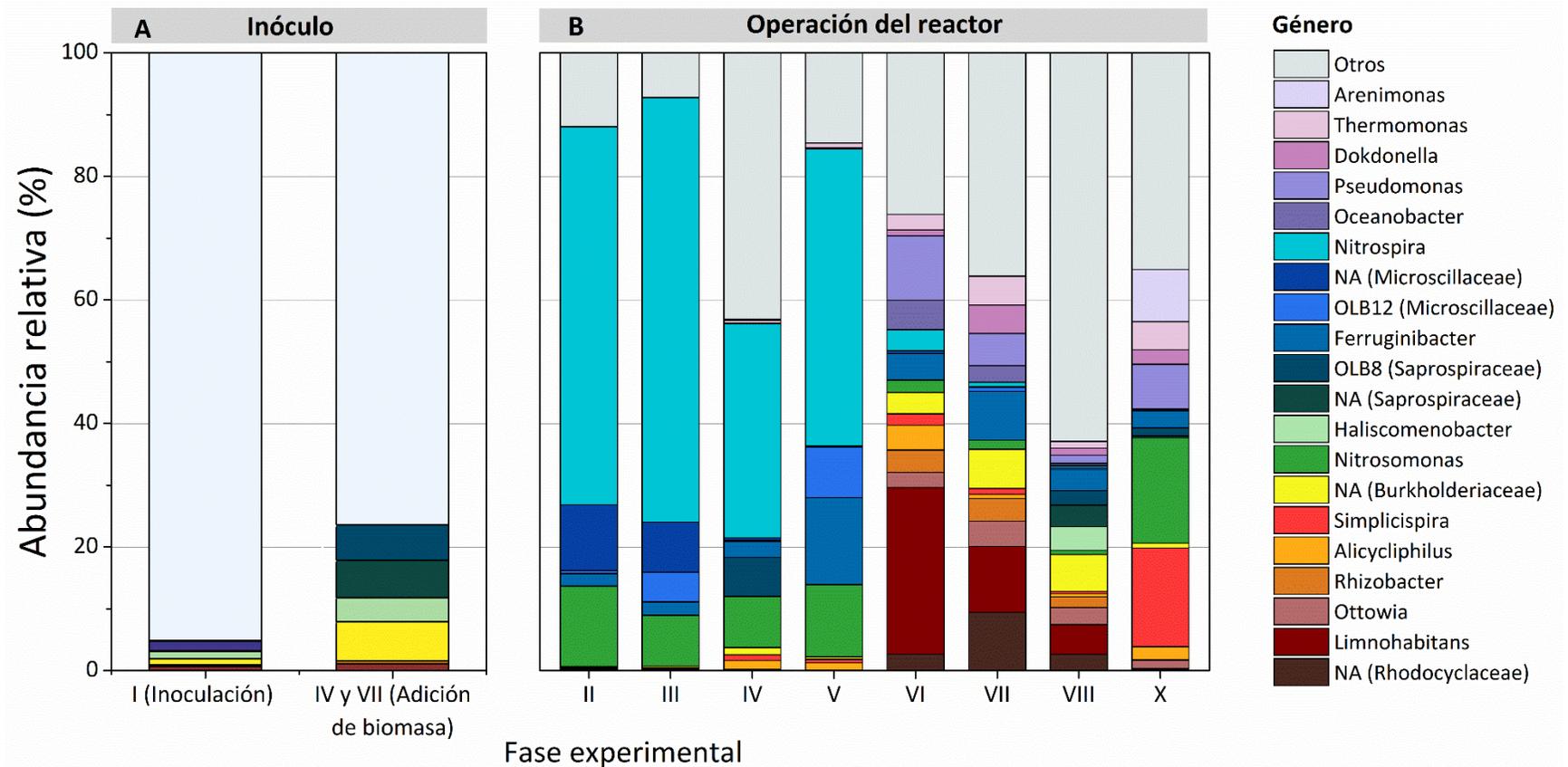


Figura 8. Composición microbiana a nivel de género en (A) los inóculos y (B) durante la operación del reactor. Se muestran los cincuenta ASV (amplicon sequence variants) de mayor abundancia relativa mientras que los miembros minoritarios de la comunidad microbiana se muestran agrupados en la categoría “otros”. Aquellos ASV cuyo género no pudo clasificarse (NA) se muestran entre paréntesis su clasificación a nivel de familia.

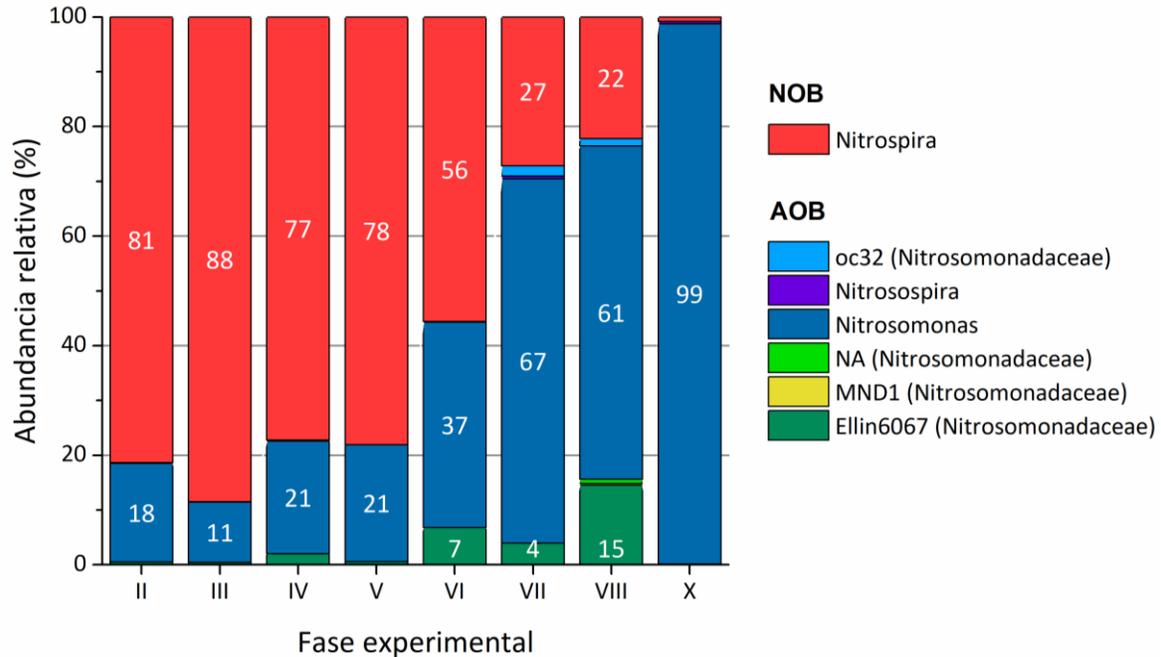


Figura 9. Cambios en la abundancia relativa de los géneros de bacterias oxidadoras de nitrito (NOB) y oxidadoras de amonio (AOB) con respecto a la totalidad de bacterias nitrificantes identificadas. Para aquellos géneros bacterianos con identificación ambigua se muestra su clasificación taxonómica a nivel de familia entre paréntesis.

Estudios recientes reportan que la combinación de bajas concentraciones de OD (entre 0.2–1.0 mg O₂/L) con cargas de amonio por debajo de 10 g/m³ h son favorables para la predominancia de bacterias COMAMMOX, las cuales pueden realizar la oxidación completa de amonio a nitrato (Tian et al. 2017; Roots et al. 2019; Shao y Wu 2021). Por el contrario, altas cargas de amonio resultan inhibitorias para bacterias COMAMMOX (Peng et al. 2012; Regmi et al. 2014), las cuales pertenecen al género *Nitrospira*, reportándose especies como *Candidatus N. nitrosa*, *Candidatus N. nitrificans*, *Candidatus N. defluvii* y *N. inopinata* (Daims et al. 2015; Van Kessel et al. 2015; Camejo et al. 2017; Dimitri Kits et al. 2017). Durante las fases de operación I a VI el principal producto de oxidación de N-NH₄⁺ fue N-NO₃⁻ (Figura 6), aun cuando la concentración promedio de OD fue menor a 1 mg/L, lo cual sugirió que otro

factor controlaba el proceso de oxidación de amonio. Los resultados obtenidos demuestran que a bajas concentraciones de OD y cargas de amonio de entre 2.5 y 5.1 g/m³ h favorecieron la predominancia de *Nitrospira* sobre *Nitrosomonas*, probablemente pertenecientes a especies COMAMMOX debido a la baja e intermitente producción de nitrito observada en estas fases experimentales I–VI. Las especies de *Nitrospira* que son COMAMMOX poseen una alta afinidad por O₂, presentando una constante de saturación media (K_o) de 0.31 mg O₂/L, que es un valor menor al reportado para AOB (0.7 mg O₂/L) (Pacek et al. 2015; Wang et al. 2020). Por otra parte, se ha reportado que cargas de amonio entre 1.0 y 1.67 g/m³ h tienen una influencia positiva para el crecimiento de *Nitrospira* COMAMMOX dada su alta afinidad por N-NH₄⁺ con una constante de saturación media (K_N) de 0.026 µg N-NH₄⁺/L (Camejo et al. 2017; Mehrani et al. 2020), en comparación con la especie *Nitrosomona europaea* AOB que presentan valores de K_N en el orden de 77–550 µg N-NH₄⁺/L (Park et al. 2010; Qin et al. 2017). Estas evidencias experimentales reportadas sugieren que las condiciones de operación utilizadas en las fases I–VI favorecieron el desarrollo de bacterias COMAMMOX, razón por la cual no se observó un proceso estable de nitrificación durante esas fases.

En las fases VIII–X se incrementó la carga de amonio a 10.1 g N-NH₄⁺/m³ h, observándose una selectividad creciente en la oxidación a nitrito, lo cual estuvo relacionado con una reducción drástica de la abundancia de *Nitrospira*. Las abundancias relativas de *Nitrospira* con respecto al total de bacterias nitrificantes fueron de 22% y 1% en las fases experimentales VIII y X, respectivamente (Figura 9). Esto demostró que el incremento en la carga de amonio resultó ser inhibitoria para *Nitrospira* lo que sugieren que las bacterias

Nitrospira enriquecidas en las fases experimentales I a VI fueron COMAMMOX. Esto implica que el incremento en la carga de amonio tiene un efecto muy importante en la composición de la comunidad microbiana y por lo tanto es un parámetro de control crítico junto con la concentración de OD. Escasos estudio han mencionado haber observado un cambio en la comunidad microbiana debido a la carga de amonio (Peng et al. 2012; Regmi et al. 2014). Sin embargo, el presente trabajo es el primer estudio sistemático que reporta la carga de amonio como parámetro de control en procesos de nitrificación específicamente en un sistema operado en continuo, el cual junto con el adecuado control de la concentración de O₂ disuelto permite la implementación de procesos con alta selectividad de oxidación a nitrito. Este trabajo demostró que el incremento en la carga de amonio implicó un cambio en la comunidad bacteriana, inhibiendo el crecimiento del género *Nitrospira* y favoreciendo la predominancia de *Nitrosomonas*. Dicho cambio en las poblaciones microbianas explicó el incremento en la selectividad de oxidación a nitrito al predominar bacterias AOB sobre otras bacterias nitrificantes presentes en el reactor. Estudios previos han identificado a *Nitrosomonas* como el género de bacterias AOB con mayor abundancia en procesos de oxidación selectiva de amonio a nitrito operados en continuo (Sui et al. 2020), a bajas concentraciones de OD (Park y Noguera 2007; Liu y Yang 2017) y cargas de amonio entre 0.8–6.24 g/m³ h (Raszka et al. 2011; Sui et al. 2020; Shao y Wu 2021), coincidente con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

La hipótesis relacionada con el control de OD como parámetro central para obtener una alta selectividad de conversión de amonio a nitrito se cumplió parcialmente, ya que además del control del OD, se requiere del control de la carga de amonio para obtener un adecuado proceso de nitrificación en un sistema operado en continuo.

En el presente trabajo se desarrollaron dos estrategias de dosificación de O₂. Una utilizó un sistema de control por valores consigna de OD y la segunda una aireación por tiempo en ciclos repetitivos de 100 s. Ambas estrategias permitieron mantener las concentraciones de OD promedio por debajo de 1 mg/L en todas las fases experimentales. Además, fueron estrategias de fácil implementación y operación que no requirieron de una instrumentación sofisticada.

Se implementó un proceso de nitrificación en un reactor de tipo tanque agitado operado en continuo, sistema poco reportado en la literatura para este tipo de proceso biológico. En este trabajo se obtuvieron eficiencias de remoción de amonio por encima del 90% con concentraciones de OD entre 0.5 – 0.9 mg O₂/L. Se observó que mantener concentraciones de OD por debajo de 1 mg/L no garantizó una alta selectividad de oxidación de amonio a nitrito cuando las cargas de amonio fueron de 2.5 y 5.1 g/m³ h. Se demostró que la carga de amonio fue un parámetro crítico para establecer la nitrificación ya que al incrementar la carga a 10.1 g/ m³ h se registró una selectividad a nitrito máxima de 94 ± 0.6%.

Se caracterizaron las poblaciones bacterianas presentes en el reactor en diferentes fases experimentales. Se observó la predominancia de bacterias del género *Nitrospira* a

concentraciones de OD < 1mg/L y con cargas de 2.5 y 5.1 g/m³ h (fases experimentales I–VII), condiciones bajo las cuales la selectividad de oxidación a nitrito fue baja e inestable. Por el contrario, al incrementarse la carga de amonio a 10.1 g/m³ h (fases experimentales VIII–X) cambio la comunidad microbiana al predominar bacterias AOB del género *Nitrosomonas* promoviendo la alta selectividad de oxidación a nitrito.

PERSPECTIVAS A FUTURO

Dado la poca información relacionada al estudio de la nitrificación en sistemas continuos, el presente trabajo demostró que dicho modo de operación permite llevar a cabo la nitrificación de forma exitosa si se controla la concentración de O_2 disuelto y la carga de amonio. Como trabajos a futuro se proponen experimentos donde se controlen tanto la carga de amonio como el O_2 disuelto, esto con el fin de evaluar la robustez del proceso en operaciones a largo plazo. Por otra parte, es necesario estudiar la estrategia de aireación con valores consigna de O_2 disuelto operando el reactor a altas cargas de amonio con el fin de confirmar su potencial para ser implementado en procesos a gran escala. Asimismo, se deben realizar estudios de nitrificación con los parámetros de control determinados en la presente tesis utilizando efluentes reales, tales como lixiviados de rellenos sanitarios y fracción líquida de digestato. Finalmente, el trabajo futuro también debe considerar cuantificar posibles emisiones de N_2O durante el proceso de nitrificación, sobre todo en sistemas que utilicen efluentes reales. Esto tiene particular relevancia ya que el N_2O es un potente gas de efecto invernadero y debe evitarse su emisión durante los procesos de nitrificación y de otros procesos de remoción de nitrógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TBS, Srinath EG (1976) Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J (Water Pollut Control Fed)* 835–852
- Aoi Y, Miyoshi T, Okamoto T, Tsuneda S, Hirata A, Kitayama A, Nagamune T (2000) Microbial ecology of nitrifying bacteria in wastewater treatment process examined by fluorescence in situ hybridization. *J Biosci Bioeng* 90:234–240 .
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80075-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80075-4)
- Apha A (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20. Washington, DC Am Public Heal Assoc
- Bae W, Baek S, Chung J, Lee Y (2001) Optimal operational factors for nitrite accumulation in batch reactors. *Biodegradation* 12:359–366
- Bao P, Wang S, Ma B, Zhang Q, Peng Y (2017) Achieving partial nitrification by inhibiting the activity of Nitrospira-like bacteria under high-DO conditions in an intermittent aeration reactor. *J Environ Sci (China)* 56:71–78 .
<https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.09.004>
- Bao Z, Ribera-Guardia A, Spinelli M, Sun D, Pijuan M (2018) The effect of temperature shifts on N₂O and NO emissions from a partial nitrification reactor treating reject wastewater. *Chemosphere* 212:162–169 .
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.090>
- Bassin JP (2018) New processes for biological nitrogen removal. In: *Advanced Biological Processes for Wastewater Treatment*. Springer, pp 143–203
- Bernet N, Spérandio M (2009) Principles of nitrifying processes. *Environ Technol to treat nitrogen Pollut* 23–37
- Blackburne R, Yuan Z, Keller J (2008) Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation* 19:303–312 .
<https://doi.org/10.1007/s10532-007-9136-4>
- Brito J, Valle A, Almenglo F, Ramírez M, Cantero D (2018) Progressive change from nitrate to nitrite as the electron acceptor for the oxidation of H₂S under feedback control in an anoxic biotrickling filter. *Biochem Eng J* 139:154–161 .
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.08.017>
- Caffaz S, Lubello C, Canziani R, Santianni D (2006) Autotrophic nitrogen removal from anaerobic supernatant of Florence's WWTP digesters. *Water Sci Technol* 53:129–137 .
<https://doi.org/10.2166/wst.2006.414>
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 13:581–583 .
<https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

- Camejo PY, Santo Domingo J, McMahon KD, Noguera DR (2017) Genome-enabled insights into the ecophysiology of the comammox bacterium “*Candidatus Nitrospira nitrosa*” . *Front Microbiol* 8:1337 . <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01337>
- Cano PI, Colón J, Ramírez M, Lafuente J, Gabriel D, Cantero D (2018) Life cycle assessment of different physical-chemical and biological technologies for biogas desulfurization in sewage treatment plants. *J Clean Prod* 181:663–674 . <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.02.018>
- Cervantes-Carrillo F, Pérez J, Gómez J (2000) Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. *Rev Latinoam Microbiol* 42:73–82
- Cervantes FJ (2009a) Anthropogenic sources of N-pollutants and their impact on the environment and on public health. *Environ Technol to Treat Nitrogen Pollut* 1–17
- Cervantes FJ (2009b) Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution
- Chan-Pacheco CR, Valenzuela EI, Cervantes FJ, Quijano G (2021) Novel biotechnologies for nitrogen removal and their coupling with gas emissions abatement in wastewater treatment facilities. *Sci Total Environ* 797:149228 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149228>
- Chen F, Li X, Gu C, Huang Y, Yuan Y (2018) Selectivity control of nitrite and nitrate with the reaction of SO₂ and achieved nitrite accumulation in the sulfur autotrophic denitrification process. *Bioresour Technol* 266:211–219 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.062>
- Chen X, Guo J, Xie G-J, Liu Y, Yuan Z, Ni B-J (2015) A new approach to simultaneous ammonium and dissolved methane removal from anaerobic digestion liquor: A model-based investigation of feasibility. *Water Res* 85:295–303 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.046>
- Chuang HP, Ohashi A, Imachi H, Tandukar M, Harada H (2007) Effective partial nitrification to nitrite by down-flow hanging sponge reactor under limited oxygen condition. *Water Res* 41:295–302 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.10.019>
- Claros Bedoya JA (2012) Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno amoniacal. *Appl Environ Microbiol* 230
- Cui B, Yang Q, Liu X, Huang S, Yang Y, Liu Z (2020) The effect of dissolved oxygen concentration on long-term stability of partial nitrification process. *J Environ Sci (China)* 90:343–351 . <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.12.012>
- Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M, Jehmlich N, Palatinszky M, Vierheilig J, Bulaev A (2015) Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528:504–509
- Deng L, Chen H, Chen Z, Liu Y, Pu X, Song L (2009) Process of simultaneous hydrogen sulfide removal from biogas and nitrogen removal from swine wastewater. *Bioresour Technol* 100:1055–1062 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.025>

Technol 100:5600–5608 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.012>

Dimitri Kits K, Sedlacek CJ, Lebedeva E V., Han P, Bulaev A, Pjevac P, Daebeler A, Romano S, Albertsen M, Stein LY, Daims H, Wagner M (2017) Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature* 549:269–272 . <https://doi.org/10.1038/nature23679>

Doğan EC, Türker M, Dağaçsan L, Arslan A (2012) Simultaneous sulfide and nitrite removal from industrial wastewaters under denitrifying conditions. *Biotechnol Bioprocess Eng* 17:661–668 . <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0677-3>

Duan Y, Liu Y, Zhang M, Li Y, Zhu W, Hao M, Ma S (2020) Start-up and operational performance of the partial nitrification process in a sequencing batch reactor (SBR) coupled with a micro-aeration system. *Bioresour Technol* 296: . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122311>

Dumont E (2015) H₂S removal from biogas using bioreactors: a review. *Int J Energy Environ* 6:479–498

Durán U, del Río AV, Campos JL, Mosquera-Corral A, Méndez R (2014) Enhanced ammonia removal at room temperature by pH controlled partial nitrification and subsequent anaerobic ammonium oxidation. *Environ Technol* 35:383–390 . <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.829110>

Erguder TH, Boon N, Vlaeminck SE, Verstraete W (2008) Partial nitrification achieved by pulse sulfide doses in a sequential batch reactor. *Environ Sci Technol* 42:8715–8720

Eskicioglu C, Galvagno G, Cimon C (2018) Approaches and processes for ammonia removal from side-streams of municipal effluent treatment plants. *Bioresour Technol* 268:797–810 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.020>

Etcharren PA (2005) Diseño de un sistema de biofiltración para la eliminación de olores en la fábrica Lubascher y Krause

Fernández M, Ramírez M, Gómez JM, Cantero D (2014) Biogas biodesulfurization in an anoxic biotrickling filter packed with open-pore polyurethane foam. *J Hazard Mater* 264:529–535 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.10.046>

Fernández M, Ramírez M, Pérez RM, Gómez JM, Cantero D (2013) Hydrogen sulphide removal from biogas by an anoxic biotrickling filter packed with Pall rings. *Chem Eng J* 225:456–463

Fitzgerald CM, Camejo P, Oshlag JZ, Noguera DR (2015) Ammonia-oxidizing microbial communities in reactors with efficient nitrification at low-dissolved oxygen. *Water Res* 70:38–51 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.041>

Flores-Cortés M, Pérez-Trevilla J, de María Cuervo-López F, Buitrón G, Quijano G (2021) H₂S oxidation coupled to nitrate reduction in a two-stage bioreactor: Targeting H₂S-rich biogas desulfurization. *Waste Manag* 120:76–84 .

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.11.024>

- Frison N, Lampis S, Bolzonella D, Pavan P, Fatone F (2012) Two-stage start-up to achieve the stable via-nitrite pathway in a demonstration SBR for anaerobic codigestate treatment. *Ind Eng Chem Res* 51:15423–15430 . <https://doi.org/10.1021/ie3009742>
- Fudala-Ksiazek S, Luczkiewicz A, Fitobor K, Olanczuk-Neyman K (2014) Nitrogen removal via the nitrite pathway during wastewater co-treatment with ammonia-rich landfill leachates in a sequencing batch reactor. *Environ Sci Pollut Res* 21:7307–7318 . <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2641-1>
- Furukawa K, Inatomi Y, Qiao S, Quan L, Yamamoto T, Isaka K, Sumino T (2009) Innovative treatment system for digester liquor using anammox process. *Bioresour Technol* 100:5437–5443 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.055>
- Gabarró J, Ganigué R, Gich F, Rusalleda M, Balaguer MD, Colprim J (2012) Effect of temperature on AOB activity of a partial nitrification SBR treating landfill leachate with extremely high nitrogen concentration. *Bioresour Technol* 126:283–289 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.011>
- Galí A, Dosta J, van Loosdrecht MCM, Mata-Alvarez J (2007) Two ways to achieve an anammox influent from real reject water treatment at lab-scale: Partial SBR nitrification and SHARON process. *Process Biochem* 42:715–720 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.12.002>
- Ganigué R, López H, Balaguer MD, Colprim J (2007) Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban landfill leachates. *Water Res* 41:3317–3326
- Gao CD, Sun DY, An R, Zhao N, Jiao EL, Zhu HB (2018) Stability of Nitritation Combined with Limited Filamentous Bulking Under Intermittent Aeration. *Huan jing ke xue= Huanjing kexue* 39:3271–3278
- Garcia-Ochoa F, Gomez E (2009) Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnol Adv* 27:153–176 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.006>
- Ge S, Wang S, Yang X, Qiu S, Li B, Peng Y (2015) Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. *Chemosphere* 140:85–98 . <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.004>
- González-Cortés JJ, Almenglo F, Ramírez M, Cantero D (2021) Simultaneous removal of ammonium from landfill leachate and hydrogen sulfide from biogas using a novel two-stage oxic-anoxic system. *Sci Total Environ* 750:141664 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141664>
- Gu S, Wang S, Yang Q, Yang P, Peng Y (2012) Start up partial nitrification at low temperature with a real-time control strategy based on blower frequency and pH. *Bioresour Technol* 112:34–41

- Guo J, Peng Y, Huang H, Wang S, Ge S, Zhang J, Wang Z (2010) Short- and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *J Hazard Mater* 179:471–479 .
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.027>
- Gupta V, Goel R (2019) Managing dissolved methane gas in anaerobic effluents using microbial resource management-based strategies. *Bioresour Technol* 289:121601 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121601>
- He Y, Tao W, Wang Z, Shayya W (2012) Effects of pH and seasonal temperature variation on simultaneous partial nitrification and anammox in free-water surface wetlands. *J Environ Manage* 110:103–109 . <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.06.009>
- He Z, Wang J, Zhang X, Cai C, Geng S, Zheng P, Xu X, Hu B (2015) Nitrogen removal from wastewater by anaerobic methane-driven denitrification in a lab-scale reactor: heterotrophic denitrifiers associated with denitrifying methanotrophs. *Appl Microbiol Biotechnol* 99:10853–10860
- Horak REA, Qin W, Schauer AJ, Armbrust EV, Ingalls AE, Moffett JW, Stahl DA, Devol AH (2013) Ammonia oxidation kinetics and temperature sensitivity of a natural marine community dominated by Archaea. *ISME J* 7:2023–2033 .
<https://doi.org/10.1038/ismej.2013.75>
- How SW, Nittami T, Ngho GC, Curtis TP, Chua ASM (2020) An efficient oxic-anoxic process for treating low COD/N tropical wastewater: Startup, optimization and nitrifying community structure. *Chemosphere* 259:127444 .
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127444>
- Huang H, Chen Y, Jiang Y, Ding L (2014) Treatment of swine wastewater combined with MgO-saponification wastewater by struvite precipitation technology. *Chem Eng J* 254:418–425
- Jaramillo F, Orchard M, Muñoz C, Zamorano M, Antileo C (2018) Advanced strategies to improve nitrification process in sequencing batch reactors - A review. *J Environ Manage* 218:154–164 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.019>
- Jiang H, Liu G, Ma Y, Xu X, Chen J, Yang Y, Liu X, Wang H (2018) A pilot-scale study on start-up and stable operation of mainstream partial nitrification-anammox biofilter process based on online pH-DO linkage control. *Chem Eng J* 350:1035–1042 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.06.007>
- Jianlong W, Ning Y (2004) Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions. *Process Biochem* 39:1223–1229 . [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00249-8)
- Karri RR, Sahu JN, Chimmiri V (2018) Critical review of abatement of ammonia from wastewater. *J Mol Liq* 261:21–31 . <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.03.120>
- Katsogiannis AN, Kornaros M, Lyberatos G (2003) Enhanced nitrogen removal in SBRs

- bypassing nitrate generation accomplished by multiple aerobic/anoxic phase pairs. *Water Sci Technol* 47:53–59 . <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0586>
- Kumar A, Singh JS (2020) *Microalgal bio-fertilizers*. Elsevier Inc.
- La H, Hettiaratchi JPA, Achari G, Dun PF (2018) Bioresource Technology Bio filtration of methane. *268:759–772* . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.043>
- Lackner S, Gilbert EM, Vlaeminck SE, Joss A, Horn H, van Loosdrecht MCM (2014) Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey. *Water Res* 55:292–303 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.032>
- Le LT, Lee S, Bui XT, Jahng D (2020) Suppression of nitrite-oxidizing bacteria under the combined conditions of high free ammonia and low dissolved oxygen concentrations for mainstream partial nitrification. *Environ Technol Innov* 20:101135 . <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101135>
- Lemaire R, Marcelino M, Yuan Z (2008) Achieving the nitrite pathway using aeration phase length control and step-feed in an SBR removing nutrients from abattoir wastewater. *Biotechnol Bioeng* 100:1228–1236 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bit.21844>
- Li J, Elliott D, Nielsen M, Healy MG, Zhan X (2011) Long-term partial nitrification in an intermittently aerated sequencing batch reactor (SBR) treating ammonium-rich wastewater under controlled oxygen-limited conditions. *Biochem Eng J* 55:215–222 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.05.002>
- Liu G, Wang J (2013) Long-Term Low DO Enriches and Shifts Nitrifier Community in Activated Sludge. *Environ Sci Technol* 47:5109–5117
- Liu T, Hu S, Yuan Z, Guo J (2019) High-level nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and nitrite/nitrate-dependent anaerobic methane oxidation. *Water Res* 166:115057
- Liu W, Yang D (2017) Evaluating the feasibility of ratio control strategy for achieving partial nitrification in a continuous floccular sludge reactor: Experimental demonstration. *Bioresour Technol* 224:94–100 . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.100>
- Liu X, Kim M, Nakhla G (2017) Operational conditions for successful partial nitrification in a sequencing batch reactor (SBR) based on process kinetics. *Environ Technol (United Kingdom)* 38:694–704 . <https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1209246>
- Liu X, Kim M, Nakhla G, Andalib M, Fang Y (2020) Partial nitrification-reactor configurations, and operational conditions: Performance analysis. *J Environ Chem Eng* 8:103984 . <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103984>
- López JC, Quijano G, Souza TSO, Estrada JM, Lebrero R, Muñoz R (2013) Biotechnologies for greenhouse gases (CH₄, N₂O, and CO₂) abatement: state of the art and challenges. *Appl Microbiol Biotechnol* 97:2277–2303 .

<https://doi.org/10.1007/s00253-013-4734-z>

- López ME, Rene ER, Veiga MC, Kennes C (2012) Biogas Technologies and Cleaning Techniques. In: Lichtfouse E, Schwarzbauer J, Robert D (eds) Environmental Chemistry for a Sustainable World: Volume 2: Remediation of Air and Water Pollution. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 347–377
- Lücker S, Wagner M, Maixner F, Pelletier E, Koch H, Vacherie B, Rattei T, Damsté JSS, Spieck E, Le Paslier D, Daims H (2010) A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria. *Proc Natl Acad Sci* 107:13479 LP – 13484 . <https://doi.org/10.1073/pnas.1003860107>
- Luo J-H, Wu M, Liu J, Qian G, Yuan S (2019) Microbial chromate reduction coupled with anaerobic oxidation of methane in a membrane biofilm reactor. *Environ Int* 130:
- Macé S, Dosta J, Galí A, Mata-Alvarez J (2006) Optimization of biological nitrogen removal via nitrite in a SBR treating supernatant from the anaerobic digestion of municipal solid wastes. *Ind Eng Chem Res* 45:2787–2792 . <https://doi.org/10.1021/ie0509140>
- Magrí A, Corominas L, López H, Campos E, Balaguer M, Colprim J, Flotats X (2007) A Model for the Simulation of the SHARON Process: pH as a Key Factor. *Environ Technol* 28:255–265 . <https://doi.org/10.1080/09593332808618791>
- Mahmood Q, Zheng P, Cai J, Wu D, Hu B, Li J (2007) Anoxic sulfide biooxidation using nitrite as electron acceptor. *J Hazard Mater* 147:249–256 . <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.01.002>
- Malamis S, Katsou E, Fabio S Di, Bolzonella D, Fatone F (2014) Biological nutrients removal from the supernatant originating from the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste. *Crit Rev Biotechnol* 34:244–257 . <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.791246>
- Martens-Habbena W, Berube PM, Urakawa H, de la Torre JR, Stahl DA (2009) Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature* 461:976–979 . <https://doi.org/10.1038/nature08465>
- Mehrani M, Sobotka D, Kowal P, Ciesielski S (2020) The occurrence and role of *Nitrospira* in nitrogen removal systems. *Bioresour Technol* 303: . <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122936>
- Montebello AM, Fernández M, Almenglo F, Ramírez M, Cantero D, Baeza M, Gabriel D (2012) Simultaneous methylmercaptan and hydrogen sulfide removal in the desulfurization of biogas in aerobic and anoxic biotrickling filters. *Chem Eng J* 200–202:237–246 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.06.043>
- Mousavi SA, Mehralian M, Khashij M, Ibrahim S (2018) Effect of air flow rate and C/N ratio on biological nitrogen removal through the CANON process treating reject water. *Environ Technol* 39:2891–2899

- Pacek L, Svehla P, Bartacek J, Radechovsky J, Hrcirova H, Shejbalova S, Balik J, Jenicek P (2015) Direct and indirect effects of oxygen limitation on nitrification process applied to reject water treatment. *Desalin Water Treat* 56:598–607 . <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.950336>
- Padín JRV (2010) Autotrophic nitrogen removal in granular sequencing batch reactors. *Univ Santiago de Compostela*
- Paredes D, Kusch P, Mbwette TSA, Stange F, Müller RA, Köser H (2007) New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment - A review. *Eng Life Sci* 7:13–25 . <https://doi.org/10.1002/elsc.200620170>
- Park B-J, Park S-J, Yoon D-N, Schouten S, Sinninghe Damsté JS, Rhee S-K (2010) Cultivation of Autotrophic Ammonia-Oxidizing Archaea from Marine Sediments in Coculture with Sulfur-Oxidizing Bacteria. *Appl Environ Microbiol* 76:7575 LP – 7587 . <https://doi.org/10.1128/AEM.01478-10>
- Park H-D, Noguera DR (2007) Characterization of two ammonia-oxidizing bacteria isolated from reactors operated with low dissolved oxygen concentrations. *J Appl Microbiol* 102:1401–1417 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03176.x>
- Park H-D, Wells GF, Bae H, Criddle CS, Francis CA (2006) Occurrence of Ammonia-Oxidizing Archaea in Wastewater Treatment Plant Bioreactors. *Appl Environ Microbiol* 72:5643 LP – 5647 . <https://doi.org/10.1128/AEM.00402-06>
- Park HD, Noguera DR (2004) Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge. *Water Res* 38:3275–3286 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.04.047>
- Peeters SH, van Niftrik L (2019) Trending topics and open questions in anaerobic ammonium oxidation. *Curr Opin Chem Biol* 49:45–52 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.09.022>
- Peng L, Carvajal-Arroyo JM, Seuntjens D, Prat D, Colica G, Pintucci C, Vlaeminck SE (2017) Smart operation of nitrification/denitrification virtually abolishes nitrous oxide emission during treatment of co-digested pig slurry centrate. *Water Res* 127:1–10
- Peng Y, Guo J, Horn H, Yang X, Wang S (2012) Achieving nitrite accumulation in a continuous system treating low-strength domestic wastewater: Switchover from batch start-up to continuous operation with process control. *Appl Microbiol Biotechnol* 94:517–526 . <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3702-8>
- Peng Y, Zhu G (2006) Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Appl Microbiol Biotechnol* 73:15–26 . <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0534-z>
- Qin W, Meinhardt KA, Moffett JW, Devol AH, Virginia Armbrust E, Ingalls AE, Stahl DA (2017) Influence of oxygen availability on the activities of ammonia-oxidizing archaea. *Environ Microbiol Rep* 9:250–256 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1758->

2229.12525

- Ramírez M, Gómez JM, Cantero D, Ramírez M, Gómez J, Cantero D (2015) Biogas: sources, purification and uses. *Hydrog Other Technol* 296–323
- Raszka A, Surmacz-Górska J, Żabczyński S, Miksch K (2011) The Population Dynamics of Nitrifiers in Ammonium-Rich Systems. *Water Environ Res* 83:2159–2169 .
<https://doi.org/10.2175/106143011x12989211841331>
- Regmi P, Miller MW, Holgate B, Bunce R, Park H, Chandran K, Wett B, Murthy S, Bott CB (2014) Control of aeration, aerobic SRT and COD input for mainstream nitrification/denitrification. *Water Res* 57:162–171 .
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.035>
- Ren Y, Hao Ngo H, Guo W, Wang D, Peng L, Ni BJ, Wei W, Liu Y (2020) New perspectives on microbial communities and biological nitrogen removal processes in wastewater treatment systems. *Bioresour Technol* 297:122491 .
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122491>
- Roots P, Wang Y, Rosenthal AF, Grif JS, Sabba F, Petrovich M, Yang F, Kozak JA, Zhang H, Wells GF (2019) Comammox Nitrospira are the dominant ammonia oxidizers in a mainstream low dissolved oxygen nitrification reactor. *Water Res* 157:396–405 .
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.03.060>
- Ruiz G, Jeison D, Chamy R (2003) Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Res* 37:1371–1377 . [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00475-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00475-X)
- Shao Y, Wu J (2021) Comammox Nitrospira Species Dominate in an Efficient Partial Nitrification – Anammox Bioreactor for Treating Ammonium at Low Loadings. *Environ Sci Technol* 55:2087–2098 . <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05777>
- Sheng L, Lei Z, Dzakpasu M, Li YY, Li Q, Chen R (2020) Application of the anammox-based process for nitrogen removal from anaerobic digestion effluent: A review of treatment performance, biochemical reactions, and impact factors. *J Water Process Eng* 38: . <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101595>
- Sinha B, Annachatre AP (2007a) Assessment of partial nitrification reactor performance through microbial population shift using quinone profile, FISH and SEM. *Bioresour Technol* 98:3602–3610 .
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.034>
- Sinha B, Annachatre AP (2007b) Partial nitrification - Operational parameters and microorganisms involved. *Rev Environ Sci Biotechnol* 6:285–313 .
<https://doi.org/10.1007/s11157-006-9116-x>
- Sinthusith N, Terada A, Hahn M, Noophan P, Munakata-Marr J, Figueroa LA (2015) Identification and quantification of bacteria and archaea responsible for ammonia oxidation in different activated sludge of full-scale wastewater treatment plants. *J*

- Environ Sci Heal - Part A Toxic/Hazardous Subst Environ Eng 50:169–175 .
<https://doi.org/10.1080/10934529.2014.975535>
- Soliman M, Eldyasti A (2018) Ammonia-Oxidizing Bacteria (AOB): opportunities and applications—a review. Springer Netherlands
- Sui Q, Di F, Yue W, Chen Y, Wang H (2020) Multiple strategies for maintaining stable partial nitrification of low-strength ammonia wastewater. *Sci Total Environ* 742:140542 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140542>
- Terada A, Sugawara S, Yamamoto T, Zhou S, Koba K, Hosomi M (2013) Physiological characteristics of predominant ammonia-oxidizing bacteria enriched from bioreactors with different influent supply regimes. *Biochem Eng J* 79:153–161 .
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.07.012>
- Thornton A, Pearce P, Parsons SA (2007) Ammonium removal from digested sludge liquors using ion exchange. *Water Res* 41:433–439 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.10.021>
- Tian Q, Zhuang L, Ong SK, Wang Q, Wang K, Xie X, Zhu Y, Li F (2017) Phosphorus (P) recovery coupled with increasing influent ammonium facilitated intracellular carbon source storage and simultaneous aerobic phosphorus & nitrogen removal. *Water Res* 119:267–275 . <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.050>
- Vadivelu VM, Keller J, Yuan Z (2006) Stoichiometric and kinetic characterisation of *Nitrosomonas* sp. in mixed culture by decoupling the growth and energy generation processes. *J Biotechnol* 126:342–356 . <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.04.017>
- Valenzuela EI, Ortiz-Zúñiga MF, Carrillo-Reyes J, Moreno-Andrade I, Quijano G (2021) Continuous anaerobic oxidation of methane: Impact of semi-continuous liquid operation and nitrate load on N₂O production and microbial community. *Chemosphere* 278:130441 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130441>
- Van Hulle SWH, Volcke EIP, Teruel JL, Donckels B, van Loosdrecht MCM, Vanrolleghem PA (2007) Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process. *J Chem Technol Biotechnol* 82:471–480 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jctb.1692>
- Van Kessel MAHJ, Speth DR, Albertsen M, Nielsen PH, den Camp HJMO, Kartal B, Jetten MSM, Lücker S (2015) Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 528:555–559
- Wang G, Xu X, Zhou L, Wang C, Yang F (2017) A pilot-scale study on the start-up of partial nitrification-anammox process for anaerobic sludge digester liquor treatment. *Bioresour Technol* 241:181–189 .
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.125>
- Wang S, Zhang S, Peng C, Akio T (2008) Intercross real-time control strategy in alternating

- activated sludge process for short-cut biological nitrogen removal treating domestic wastewater. *J Environ Sci* 20:957–963 .
[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62193-2](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62193-2)
- Wang Z, Zhang L, Zhang F, Jiang H, Ren S, Wang W, Peng Y (2020) Nitrite accumulation in comammox-dominated nitrification-denitrification reactors: Effects of DO concentration and hydroxylamine addition. *J Hazard Mater* 384: .
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121375>
- Wei D, Du B, Xue X, Dai P, Zhang J (2014) Analysis of factors affecting the performance of partial nitrification in a sequencing batch reactor. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:1863–1870
- Wett B, Jardin N, Katehis D (2009) Environmental technologies to remove nitrogen from high-strength wastewaters. *Environ Technol to Treat Nitrogen Pollut Princ Eng* 115–138
- Wiesmann U (1994) Biological nitrogen removal from wastewater. *Biotechnics/wastewater* 113–154
- Xiang S, Liu Y, Zhang G, Ruan R, Wang Y, Wu X, Zheng H, Zhang Q, Cao L (2020) New progress of ammonia recovery during ammonia nitrogen removal from various wastewaters. *World J Microbiol Biotechnol* 36:1–20 .
<https://doi.org/10.1007/s11274-020-02921-3>
- Yang L (1997) Investigation of nitrification by co-immobilized nitrifying bacteria and zeolite in a batchwise fluidized bed. *Water Sci Technol* 35:169–175
- Yang L (1991) Investigation of nitrite build-up within an enriched nitrification process.
- You J, Das A, Dolan EM, Hu Z (2009) Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. *Water Res* 43:1801–1809 . <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.016>
- Zerriouh O, Reinoso-Moreno JV, López-Rosales L, del Carmen Cerón-García M, Sánchez-Mirón A, García-Camacho F, Molina-Grima E (2017) Biofouling in photobioreactors for marine microalgae. *Crit Rev Biotechnol* 37:1006–1023 .
<https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1299681>
- Zhang D, Zhang D, Liu Y, Cao W-W, Chen G-X (2004) Community analysis of ammonia oxidizer in the oxygen-limited nitrification stage of OLAND system by DGGE of PCR amplified 16S rDNA fragments and FISH. *J Environ Sci* 16:838–842
- Zhang T, Ye L, Tong AHY, Shao MF, Lok S (2011) Ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria in six full-scale wastewater treatment bioreactors. *Appl Microbiol Biotechnol* 91:1215–1225 . <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3408-y>
- Zhou Y, Oehmen A, Lim M, Vadivelu V, Ng WJ (2011) The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants. *Water Res* 45:4672–4682 .
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.06.025>