BIODEGRADACIÓN DE EFLUENTES ALTAMENTE CONTAMINADOS POR COMPUESTOS FENÓLICOS UTILIZANDO UNA ESTRATEGIA DE CONTROL ÓPTIMA

Germán Buitrón¹*, Iván Moreno-Andrade¹, Manuel J. Betancur² y Jaime A. Moreno²

Coordinaciones Bioprocesos Ambientales¹ y Automatización², Instituto de Ingeniería, UNAM. Apartado Postal 70-472, 04510 México D.F., México. * Email: gbm@pumas.iingen.unam.mx

RESUMEN

El presente trabajo presenta los resultados del uso de una nueva estrategia del control para optimizar la tasa de degradación de compuestos tóxicos. La estrategia de control de tiempo óptimo por eventos dirigidos (ED-TOC) fue aplicada para biodegradar un agua residual sintética conteniendo 4-clorofenol (4CF) como compuesto inhibitorio modelo. Se utilizó un reactor discontinuo secuencial (SBR). La estrategia ED-TOC fue desarrollada para estimar una variable llamada gamma, relacionada con la tasa de la degradación del sustrato, de manera que la tasa de degradación sea la máxima. Se encontró que es posible la implementación práctica de la estrategia ED-TOC. El reactor presentó un buen funcionamiento ya que la mineralización del 4CF fue terminada eficientemente. Las eficiencias medias de remoción fueron del 99% como demanda química de oxígeno, y 100% como 4CF. Los sólidos suspendidos totales en el efluente se mantuvieron debajo de 14 mg/L, el índice volumétrico de lodos alrededor de 38 mL/g, y de la velocidad de sedimentación de 6 m/h, esto último indica que el lodo tuvo una excelente sedimentabilidad.

Palabras clave: SBR, control óptimo, proceso discontinuo, 4-clorofenol, oxígeno disuelto

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de aguas por medio de lodos activados se ha aplicado tradicionalmente para tratar las aguas residuales industriales, pero la naturaleza de tales descargas causa a menudo problemas operacionales en sistemas de flujo continuos. Ésta es el caso de las aguas residuales que contienen compuestos tóxicos generados por industrias químicas y petroquímicas. En estos casos la cantidad de contaminantes tóxicos varía en tiempo y espacio.

Recientemente, las estrategias innovadoras como los procesos discontinuos se han explorado para aumentar las eficiencias del degradación de las aguas residuales (Buitrón *et al*, 2001). El término SBR (reactor discontinuo secuencial por sus siglas en inglés) se ha utilizado como sinónimo de la tecnología del tratamiento de aguas residuales donde el volumen del tanque del reactor es variable en el tiempo (Wilderer *et al.*, 2001), estos reactores puede trabajar con la biomasa suspendida, fija o combinada en un lecho móvil. En general, los procesos en un SBR presentan tres características importantes: repetición periódica de una secuencia de fases bien definidas; la

duración de cada fase del proceso puede ser determinada de acuerdo con el resultado de tratamiento que se espera y la realización de varias reacciones biológicas y físicas en función de tiempo. Por su flexibilidad, los sistemas SBR que pueden ser totalmente automatizados y controlados por una computadora.

Los sistemas de tipo SBR funcionan generalmente bajo cinco fases bien definidas: el llenado, reacción, sedimentación, vaciado, y tiempo muerto. En el modo de operación estándar, la duración de estas fases es determinada típicamente por un operador basado en su experiencia y en exhaustivas pruebas en el laboratorio con una planta experimental. En este modo de operación, la fase de reacción es suficientemente larga para permitir que las sustancias tóxicas sean degradadas. La duración de las fases de sedimentación y vaciado se fijan de acuerdo a las características del lodo activado y el reactor. Así, esta estrategia operacional se podría considerar como estrategia de tiempo fijo (FTC).

A pesar de las ventajas inherentes de los procesos discontinuos en lo referente a la biodegradación de sustancias tóxicas, un SBR que funciona bajo la estrategia de control FTC, tiene varios problemas cuando se emplea en la degradación de aguas residuales tóxicas: inhibición de los microorganismos, problemas con choques debido a un aumento repentino en la concentración del compuesto tóxico (picos de concentración), desaclimatación y problemas por ayuno de los microorganismos y bajas eficiencias en la remoción de compuestos tóxicos (Buitrón y Moreno 2004; Buitrón *et al.*, 2003).

Para superar los problemas discutidos sobre este modo de operación se han reportado el uso de la concentración de oxígeno disuelto (OD) o la tasa de variación del bióxido de carbono (Sheppard y Cooper, 1990; Buitrón et al., 1993; Nguyen et al., 2000). Moreno y Buitrón (1998) presentaron una metodología y simulaciones matemáticas para el control de tiempo óptimo de un SBR de lodos activados para la degradación de aguas residuales con compuestos tóxicos. La estrategia óptima para controlar el flujo de entrada fue obtenida usando las técnicas de la teoría de control óptimo, en las cuales el tiempo de reacción es tan pequeño como sea posible. El tiempo de la degradación es controlado con la concentración del sustrato estimada por medio de la concentración de oxígeno disuelto por medio del uso de un observador (filtro extendido de Kalman). Vargas et al. (2000) presentaron la calibración del observador y la validación experimental de la estrategia de tiempo óptimo basada en observadores. La desventaja de esta estrategia es que se necesita saber exactamente la concentración del sustrato en el flujo de entrada y las constantes del modelo de Haldane. Esto podría hacer que la estrategia sea difícil de aplicar en la práctica. Betancur et al., (2004) describieron el desarrollo matemático de una nueva estrategia de control de tiempo óptimo por eventos dirigidos (Event-Driven Time Optimal Control, ED-TOC) la cual emplea la medición del OD para realizar el control de la degradación de compuestos inhibitorios por medio de un proceso discontinuo.

Este trabajo presenta los resultados del uso de la estrategia ED-TOC para biodegradar, en un reactor discontinuo, aguas residuales sintéticas constituidas con 4-clorofenol (4CF) como compuesto inhibitorio modelo

METODOLOGÍA

Estrategia de control de tiempo óptimo por eventos dirigidos (ED-TOC)

La estrategia ED-TOC estima una variable (llamada γ) relacionada con la tasa de reacción. Esta variable se puede estimar en tiempo real usando la concentración de oxígeno disuelto y el volumen del reactor, como fue descrito detalladamente por Betancur *et al.* (2004). A continuación se describe brevemente el método de estimación. Se sabe que para compuestos tóxicos el comportamiento de la tasa de crecimiento de la biomasa (μ), o la tasa de degradación de sustrato, en función de la concentración del substrato (S) se puede describir por la ley de Haldane. En este modelo, μ alcanza un valor máximo, μ^* , cuando la concentración del substrato es S*. La concentración tóxica sobre o debajo de μ^* generará una disminución en la tasa de crecimiento y, por lo tanto, también en la tasa de reacción. Así, si se garantiza que S está cerca a S*, la tasa de degradación estará cerca de un valor máximo.

El problema consiste, por lo tanto, encontrar y mantener μ en su valor máximo durante todo el período de reacción del reactor. Un problema adicional es que μ es muy difícil en la práctica medir en línea la concentración del sustrato. Es interesante precisar que en la estrategia de ED-TOC se desarrolló un método para estimar γ y relacionarla con μ de manera tal que ambos se encuentren en su valor máximo. En este caso γ es proporcional a μ por una constante desconocida, que no es necesaria saber para los propósitos del control.

La ecuación 5 fue obtenida del modelo de un reactor discontinuo (ecuaciones 1 a 4):

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - K_d X - X \frac{Q_{en}}{V}$$
(1)
$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \mu X + (S_{en} - S) \frac{Q_{en}}{V}$$
(2)

$$\frac{dO}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/O}}\mu X - bX + K_{I}a(O_{s} - O) + (O_{en} - O)\frac{Q_{en}}{V}$$
(3)

$$\frac{dV}{dt} = Q \tag{4}$$

$$\gamma = \frac{XV}{Y_{X/O}} \mu + bXV = K_l a (O_s - O) V - OQ_{en} + V \frac{dO}{dt}$$
(5)

Donde:

X: Concentración de la biomasa dentro del reactor

S: Concentración del sustrato dentro del reactor

V: Volumen de agua dentro del reactor

O: Concentración de Oxígeno disuelto

 $Y_{X/S}$: Coeficiente de producción de Biomasa/sustrato

 $Y_{X/O}$: Coeficiente de producción Biomasa/oxígeno

*K*_l*a*: Coeficiente de transferencia de masa

b: Tasa específica de respiración endógena

 K_d : Tasa de decaimiento de la biomasa μ : Tasa específica de crecimiento S_{en} : Concentración de sustrato en el influente O_{en} : Concentración de oxígeno disuelto en el influente Q_{en} : tasa de flujo de entrada O_s : Concentración de oxígeno disuelto a saturación γ : variable proporcional a μ

Usando la estrategia ED-TOC, el flujo de entrada es controlado de tal manera que la tasa de reacción permanezca dentro de la zona gris de la figura 1. Esta zona está en el punto donde la tasa de consumo de sustrato es la máxima. La tasa de reacción es controlada manteniendo la concentración del sustrato oscilando en este punto durante el llenado del SBR. Cada vez que la concentración del sustrato intenta dejar este punto, un evento es reportado y la estrategia ED-TOC enciende o apaga la bomba del flujo de entrada. La estrategia funciona a pesar de cambios de actividad de los microorganismos presentes en el SBR, tampoco importa el valor de la concentración de sustrato en el influente.

Todas las variables en el lado derecho de la ecuación 5 pueden ser medidas en forma directa. Para estimar γ solamente se necesita el coeficiente de transferencia de masa, K_{la} y la concentración de oxígeno disuelto a la saturación, O_s . Incluso, estas variables no necesitan ser conocidas con precisión. Esta solución es por lo tanto un buen candidato a aplicaciones en ambientes industriales verdaderos.



Figura 1. Estrategia ED-TOC. Vo indica el volumen inicial en el tanque. El flujo es alimentado de manera tal que se mantiene la tasa de reacción cerca del valor óptimo (zona gris) Una vez que se alcance el volumen final, Vf, el reactor actúa como un proceso en lotes (batch) y la tasa de reacción disminuye

Reactor piloto

Se empleó un reactor aerobio discontinuo secuencial con una capacidad de 7L y un volumen de intercambio de 57% (figura 2). El flujo de aire empleado fue de 1.5 litros por minuto y se mantuvo una temperatura de 20 °C dentro del reactor. El biorreactor fue inoculado con

microorganismos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales (2000 mg SSV/L). Se empleo un agua sintética que contenía 4CF como única fuente de carbono y energía. Se agregaron nutrientes como nitrógeno, fósforo y oligoelementos siguiendo la recomendación de AFNOR (1985).

Para las condiciones consideradas como estándar, el reactor fue alimentado con una concentración en el influente de 350 mg4CF/L. Esto quiere decir que, tomando en cuenta el volumen intercambiado, dentro del reactor la concentración inicial fue de 200 mg4CF/L. Se evaluaron diversas concentraciones iniciales de 4CF entre 175 y 11200 mg/L para probar la estrategia de control, y también diversos flujos de aire (0.75, 1.5 y 2.25 litros por minuto). La duración de las fases del SBR fue la siguiente: tiempo de preaeración (15 minutos), llenando y reacción (variable, dependiendo de la concentración del influente), sedimentación (30 minutos) y vaciado (6 minutos).



Figura 2. Reactor piloto usado en la degradación de compuestos tóxicos

Métodos analíticos

La concentración del sustrato fue medida tomando muestras y procesándolas fuera de línea por medio de la técnica colorimétrica de la 4-aminoantipirina (Standard Methods, 1992). Los análisis de sólidos suspendidos totales y volátiles (SST y SSV) fueron determinados de acuerdo a Standard Methods (1992). El carbono orgánico disuelto (COD) fue determinado con por medio del sistema Shimadzu TOC-5050 y la demanda química de oxígeno (DQO) según Standard Methods (1992). Estos análisis fueron realizados para evaluar la mineralización del 4CF.

El metabolito (5-cloro-2hidroxi- ácido semialdehido mucónico) (Commandeur y Parson, 1990), es formado por una ruta alterna de la degradación de 4-CF por los microorganismos, y es inhibitorio para los microorganismos, fue determinado por espectrofotometría a 380 nm usando un espectrofotómetro HACH.

Se realizaron experimentos para conocer la tasa específica de consumo de oxígeno (TECO), por medio de un mini reactor de 160 ml donde se colocaban 10 mL del licor mezclado del SBR obtenido después de un ciclo de degradación. Se agregó una solución saturada de oxígeno con nutrientes y sustrato (acetato o 4CF) y la medición del oxígeno disuelto fue registrada. La respiración endógena fue medida agregando solamente nutrientes. La TECO fue obtenida de la pendiente de consumo de oxígeno dividida entre la concentración de SSV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aclimatación de la biomasa

La biomasa fue aclimatada por medio de la estrategia de tiempos variables, en la cual la duración de la fase de reacción fue detenida cuando la remoción del 4CF fuera igual o mayor a 95%. La aclimatación se realizó usando una concentración inicial 4CF de 175 mg/L en el influente. Cuando el tiempo de la degradación fue constante, la concentración inicial fue aumentada al doble, es decir, el reactor era mantenido degradando 350 mg/L de 4CF bajo estrategia ED-TOC. La figura 3 presenta la variación de la DQO inicial y final, así como los SST en el efluente.

La eficiencia promedio de remoción fue del 99% como DQO (483 y 5 mgDQO/L en el influente y el efluente, respectivamente) y 100% (como 4CF). Los sólidos suspendidos totales en el efluente fueron menores a 14 mg/L, de índice volumétrico de lodos se mantuvo alrededor de 38 mL/g y la velocidad de sedimentación del lodo de 6 m/h. Estos datos indican un buen funcionamiento del reactor operado con la estrategia de control ED-TOC.



Figura 3. Variación de la DQO en el influente y efluente, y SST en el efluente del proceso operado bajo la estrategia de control ED-TOC

Cinéticas de la condición estándar

La figura 4 presenta el comportamiento de la concentración de sustrato, medido como 4CF, DQO y COD durante un ciclo operado bajo estrategia de control ED-TOC. Es posible distinguir como funciona la estrategia de control siguiendo los cambios en la curva de degradación del sustrato y

el OD. En esta estrategia el reactor comienza operando como Fed-batch. Una vez que el sustrato comienza a ser alimentado al reactor, la reacción comienza. El OD disminuye (primeras 0.2 h, figura 4) como resultado del aumento en el consumo de oxígeno debido al aumento en la actividad metabólica de la biomasa para degradar el 4CF. Simultáneamente, el estimador calcula γ y monitorea este valor. Cuando se detecta el punto máximo de γ (antes de que exista una concentración mínima de OD), la bomba de alimentación se apaga. Después de que la concentración del sustrato disminuye (de 48 a 22 mg4CF/L, en 0.4 h en la figura 4) el sistema detecta que la concentración del sustrato se vuelve menor a la esperada para obtener una γ máxima (es decir, ya no es la óptima), por lo cual también se observa que la actividad de los microorganismos comienza a dejar de ser la máxima. Así, el sistema enciende la bomba de alimentación, y una nueva carga de sustrato se alimenta al reactor. Se repite este procedimiento hasta que se alcanza el volumen máximo del reactor y con lo cual la degradación continua como un proceso batch clásico.

Es posible observar en la figura 4 cómo la concentración dentro del reactor se mantiene alrededor de 30 mg/L durante la alimentación dosificada hecha por el sistema de control, esta concentración de sustrato corresponde a una concentración cercana a S* y por lo tanto alrededor de μ *. La producción del metabolito se incrementa cuando la reacción se lleva a cabo, pero después de que el ciclo ha terminado, la concentración del metabolito disminuye, indicando una buena operación del sistema.



Figura 4. Variación de la concentración del sustrato, medido como 4CF, DQO y COD durante el ciclo operado con la estrategia ED-TOC

Funcionamiento de la estrategia ED-TOC bajo diferentes concentraciones iniciales

Para probar el funcionamiento de la estrategia de ED-TOC bajo picos de concentración (exposición repentina a altas concentraciones de tóxico), se evaluaron varias concentraciones iniciales de 4CF. Se comparó la respuesta obtenida con la estrategia ED-TOC y la obtenida cuando el reactor operó con una estrategia de tiempo fijos (FTC). La tabla 1 resume los resultados obtenidos. El reactor que funcionó bajo la estrategia FTC pudo degradar picos de concentración de hasta 760 mg4CF/L en el influente con un incremento en el tiempo de

degradación del 50%. En este caso, fue necesaria una semana para recuperar el buen funcionamiento del reactor y la actividad inicial de los microorganismos. Concentraciones más altas de 4CF generaron un problema severo de inhibición a la biomasa del cual el reactor no se recuperó.

En caso contrario, la estrategia ED-TOC pudo manejar incrementos de la concentración en el influente de hasta 11200 mg4CF/L. En teoría, esta estrategia podría tratar cualquier concentración inicial en el tanque. Es fácil demostrar que no sólo una concentración más alta de compuesto tóxico se podría tratar con la estrategia de operación ED-TOC, sino que también es obtenida una reducción en tiempo de degradación. En las figuras 5 y 6 se presentan las cinéticas de degradación de 4CF y el OD durante la degradación de 2800 y 5600 mg4CF/L con la estrategia ED-TOC.

Considerando una concentración inicial de 550 mg/L, se obtuvieron tasas específicas de degradación de 21 y 46 mg 4CF/gSSV-h, para la estrategia FTC y la estrategia ED-TOC, respectivamente (tabla 1). La tasa de degradación fue casi del doble con la estrategia EDTOC para una misma concentración inicial de tóxico tratado.

Estrategia Pico de 4CF, de control mg/L (S _{in})	Eficiencia de remoción durante el pico (% of 4CF)	Tasa de degradación durante el pico (mg 4CF/gSSV-h)	Desarrollo del reactor después del pico
FTC 550	100	21.0	No hay problemas
FTC 760	85	18.5	Incremento del tiempo de
FTC 900	63	21.4	degradación en un 50%. Fue necesaria una semana para recuperar la eficiencia original Afectación severa sobre el desempeño del reactor. Fue necesario un mes para recobrar la eficiencia original
ED-TOC 440	100	48.4	No hay problemas
ED-TOC 530	100	45.8	No hay problemas
ED-TOC 634	100	60.4	No hay problemas
ED-TOC 700	100	63.5	No hay problemas
ED-TOC 1400	100	91.2	No hay problemas
ED-TOC 2800	100	114.3	No hay problemas
ED-TOC 5600	100	114.3	No hay problemas
ED-TOC 11200	100	114.3	No hay problemas

Tabla 1. Efecto de diferentes estrategias de operación sobre el desempeño de un reactor bajo la exposición a picos de concentración



Figura 5. Cinética de degradación para una concentración inicial de 2800 mg4CF/L usando la estrategia ED-TOC



Figura 6. Cinética de degradación para una concentración inicial de 5600 mg4CF/L usando la estrategia ED-TOC

Variación del oxígeno disuelto

Ya que la estrategia de tiempo óptimo depende del OD para controlar el flujo de alimentación de sustrato, es importante estudiar cuánto podría afectar la variación de este parámetro en el funcionamiento del reactor. Se realizaron dos experimentos variando el flujo del aire con respecto al valor estándar de 1.5 litros por minuto. La figura 7 presenta la evolución del oxígeno disuelto durante la variación de \pm 50 del flujo de aire en referencia a la condición estándar. Para todos los casos la concentración inicial de 4CF fue 350 mg/L. Cuando una condición de -50% fue aplicada, el OD en el reactor siempre fue superior a 2 mg/L. Con lo cual se puede considerar que no hubo limitaciones para este elemento en el reactor y que la estrategia puede operar bien aún en condiciones no óptimas.



Figura 7. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en función del tiempo

La figura 8 muestra la influencia de la variación del flujo del aire en la degradación del substrato (A) y en la producción del metabolito (B). En general, no hubo una influencia significativa en la operación de la estrategia cuando la tasa de flujo de aire varió en un $\pm 50\%$. Pero, es muy interesante observar que en el caso donde el flujo de aire fue reducido 50% hubo un aumento de la cantidad de metabolito producido (figura 8B). Por consiguiente, el tiempo de degradación para esta misma condición aumenta (figura 8A). Además de la influencia en la producción del metabolito, este subproducto tóxico no fue removido en el ciclo de degradación, lo cual puede causar problemas debido a la acumulación en los ciclos siguientes.



Figura 7. (A) Degradación del 4CF en diferentes concentraciones iniciales de 4CF y la producción de metabolito (B) para diferentes flujos de aire

CONCLUSIONES

Se demostró la factibilidad de la aplicación de una nueva estrategia del control para optimizar la tasa de degradación de compuestos tóxicos. La estrategia de control de tiempo óptimo por eventos dirigidos (ED-TOC) fue aplicada para biodegradar 4-clorofenol (4CF) como compuesto inhibitorio modelo en un reactor discontinuo secuencial (SBR). El reactor presentó un buen funcionamiento ya que la mineralización del 4CF fue terminada de manera eficiente. Las eficiencias medias del remoción fueron del 99% como demanda química de oxígeno, y 100% como 4CF. Los sólidos suspendidos totales en el efluente se mantuvieron debajo de 14 mg/L, el índice volumétrico de lodos alrededor de 38 mL/g, y de la velocidad de sedimentación de 6 m/h, esto último indica que el lodo tuvo una excelente sedimentabilidad.

Al operar el reactor con la estrategia ED-TOC se observó un excelente funcionamiento, superior al mostrado por la estrategia de tiempos fijos (FTC). La estrategia de ED-TOC puede manejar incrementos en la concentración de compuestos tóxicos en los influentes de 11200 mg4CF/L sin ningún problema. Fue demostrado que no sólo concentraciones más altas de tóxico se podrían tratar con la estrategia de ED-TOC, sino que también se obtuvo una reducción en tiempo de degradación. Para una concentración inicial dada de 4CF, la tasa de degradación fue más alta (casi el doble) con la estrategia de ED-TOC que con la estrategia FTC. En general, no hubo una influencia significativa en la operación de la estrategia ED-TOC cuando el flujo de aire se varió en $\pm 50\%$ con respecto a la condición estándar, pero se debe tener cuidado con los subproductos (metabolito) ya que se incrementaron cuando la aireación no fue suficiente

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo incluye resultados del proyecto EOLI el cual es patrocinado por el programa INCO de la Unión Europea (ICA4-CT-2002-10012). Iván Moreno agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM y a CONACYT por el apoyo otorgado.

REFERENCIAS

- AFNOR (1985). Evaluation en mileu aqueux de la biodegradabilité aérobie "ultime" des produits organiques solubles, *Normalisation française*, NFT 90-312.
- Betancur M.J., Moreno J. y Buitrón G. (2004). Event-driven control for treating toxicants in aerobic sequencing batch bioreactors. Proceedings of the 9th International Symposium on Computer Applications in Biotechnology (CAB9), March 28-31, Nancy, France.
- Buitrón G., Koefoed A. y Capdeville B. (1993). Control of phenol biodegradation by using CO2 evolution rate as an activity indicator. *Environmental Technology*, **14**, 227-236.
- Buitrón G., Soto G., Vite G. y Moreno J. (2001) Strategies to enhance the biodegradation of toxic compounds using discontinuous processes. *Water Science and Tecghnoloy* **43**(3), 283-290.
- Buitrón G. y Moreno J. (2004). Modeling of the acclimation/deacclimation processes of a mixed culture degrading 4-chlorophenol. *Water Science and Technology*, **49** (1), 79-86.
- Buitrón G., Schoeb M.-E. y Moreno J. (2003) Automated Sequencing Batch Bioreactor Under Extreme Peaks of 4-Chlorophenol *Water Science and Technology* **47** (10), 175–181.

- Commandeur L.C.M. y Parson J.R. (1990). Degradation of halogenated aromatic compound.. Biodegradation, 1, 2007-220.
- Moreno J. y Buitrón G. (1998) Respirometry based optimal control of an aerobic bioreactor for the industrial waste water treatment, *Water Science and Technology*, **38**, (3), 219-226.
- Moreno J. (1999) Optimal time control of bioreactors for the wastewater treatment. *Optimal Control; Applications and Methods*, **20**, 145-164.
- Nguyen A.L., Duff J.B. y Sheppard J.D. (2000) Application of feedback control based on dissolved oxygen to a fixed-film sequencing batch reactor for treatment of brewery wastewater. *Water Environment Research.* **72** (1), 75-83.
- Scheppard J.D. y Copper D.G. (1990) Development of computerized feedback control for continuous phasing of Bacillus subtilis. *Biotechnology and Bioengineering*, 36, 539-545.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1992). 18th ed., American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Vargas A., Soto G., Moreno J. y Buitrón G. (2000), Observer based time-optimal control of an aerobic SBR for chemical and petrochemical wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 42 No. 5-6, 163-170.
- Wilderer P.A., Irvine R.L. y Goronszy M.C. (2001). Sequencing batch reactor technology. *Scientific and technical report No 10*, IWA Publishing, London, 76 pp.