

II-253 – CULTIVO DE BACTÉRIA ANAMMOX ORIUNDA DE SISTEMA DE LODO ATIVADO COM AERAÇÃO PROLONGADA: PROCEDIMENTO E METODOLOGIA EM ESCALA DE BANCADA

Paula Gois de Lima⁽¹⁾

Engenheira de Alimentos pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Mestranda em Engenharia Industrial pela Escola Politécnica da Universidade Federal da Bahia (PEI/UFBA)

Louisa Wessels Perelo

Doutora em Ciências Naturais pela Universidade Técnica de Munique na Alemanha. Professora Adjunta do Departamento de Engenharia Ambiental da Escola Politécnica da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Luciano Matos Queiroz

Doutor em Engenharia Civil pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Ambiental da Escola Politécnica da Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Asher Kiperstosk

Doutor em Engenharia Química/ Tecnologias Limpas. Pesquisador do CNPq. Coordenador da Rede de Tecnologias Limpas da Universidade Federal da Bahia. Professor Associado da Escola Politécnica da Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Endereço⁽¹⁾: Rua Aristides Novis, nº 02, Federação – Salvador/Ba - CEP: 40210-630 – País: Brasil - Tel: +55 (71) 9246-1309 e-mail: pgl.gois@gmail.com

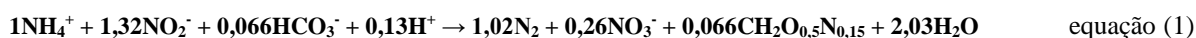
RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar o comportamento da remoção simultânea de NH_4^+ e NO_2^- , segundo equação estequiométrica do processo *Anammox* proposta por Strous *et al.* (1998) durante um período de adaptação de lodo extraído de um sistema de lodo ativado operando na variante aeração prolongada alimentado com esgoto sanitário. Ao longo de 261 dias de operação, foram operados dois reatores em paralelo e as análises físico-químicas de monitoramento do processo revelaram que NH_4^+ e NO_2^- foram removidos do sistema, entretanto a remoção dessas espécies químicas não ocorreu de forma simultânea. A maior parte do NO_2^- foi reduzido por bactérias heterotróficas desnitrificantes. O trabalho permitiu concluir que para a ocorrência estável do processo, se faz necessária uma proporção de $\text{NH}_4^+:\text{NO}_2^-$ afluente superior a proposta pela equação global da reação *Anammox* (1:1,32). As máximas taxas volumétrica de remoção de N-NH_4^+ foram iguais a 0,021 $\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e 0,026 $\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ nos reatores 01 e 02, respectivamente. Para o N-NO_2^- a taxa volumétrica de remoção no reator 01 variou entre (0,009 a 0,036) $\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e no reator 02 entre (0,009 a 0,029) $\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$.

PALAVRAS-CHAVE: Amônio, Nitrito, *Anammox*.

INTRODUÇÃO

Nitrogênio amoniacal (N-NH_3) quando disposto em corpos d'água pode ser tóxico a vida aquática, causar a depleção do oxigênio dissolvido e contribuir para eutrofização (METCALF e EDDY, 2003). Tradicionalmente, a remoção de N-NH_3 presentes em águas residuárias tem sido alcançada através do processo biológico de nitrificação-desnitrificação. Mulder *et al.* (1995), trabalhando com reator desnitrificante de leito fluidizado identificou um novo processo de remoção biológica de N-NH_3 , no qual o nitrato (NO_3^-) era o aceptor de elétrons. Esse processo foi batizado por esses pesquisadores como *Anammox* (*Anaerobic Ammonium Oxidation*). Posteriormente, estudos revelaram que a reação de oxidação anaeróbia da amônia, também, pode ser conduzida com o nitrito (NO_2^-) como aceptor de elétrons (VAN de GRAAF *et al.*, 1995). A reação que governa o processo *Anammox* (Equação 1) foi proposta por Strous *et al.* (1998). O principal produto da reação é o N_2 , porém cerca de 10% do nitrogênio afluente é convertido a nitrato (NO_3^-) (AHN J-H, 2006).



Trabalhos posteriores permitiram concluir que o processo *Anammox* ocorre em ambiente anóxico (presença de óxido de nitrogênio e ausência de oxigênio livre), com temperatura variando de 20 a 43°C e pH entre 6,7 e 8,3 (STROUS *et al.*, 1999; AHN J-H, 2006). Nesse processo, amônia é convertida a gás nitrogênio (N_2) por

bactérias quimiolitotróficas, que utilizam o NH_4^+ ou NH_3 como doadores de elétrons e NO_2^- comoceptor de elétrons (VAN de GRAAF *et al.*, 1996; STROUS *et al.*, 1999). De acordo com Strous *et al.* (1999) e Jetten *et al.* (2001), a oxidação do amônio por bactérias *Anammox* é inibida em presença de oxigênio livre, porém, essa inibição é reversível. Segundo Van de Graaf *et al.* (1995) e Jetten *et al.* (2001), organismos *Anammox* se desenvolvem tendo o CO_2 como única fonte de carbono para a produção de material celular. Entretanto, alguns autores têm encontrado bons resultados a partir de outras fontes de carbono inorgânico. Liao *et al.* (2008), estudando o efeito do bicarbonato de sódio (NaHCO_3) sobre o desenvolvimento de organismos *Anammox*, concluiu que as eficiências de remoção de amônio pelo processo eram mais pronunciadas quando 1,5 g de NaHCO_3/L eram adicionados ao sistema como fonte de carbono.

Quando comparado ao processo convencional de remoção biológica de nitrogênio amoniacal, nitrificação autotrófica-desnitrificação heterotrófica, o processo *Anammox* apresenta algumas vantagens: gás oxigênio e carbono orgânico não são requeridos como fonte de energia e carbono, respectivamente, e gás nitrogênio é obtido por rota mais curta (Figura 1). Além disso, como a taxa específica máxima de crescimento desses organismos é lenta ($0,003 \text{ h}^{-1}$) há menor produção de lodo no sistema, reduzindo os custos operacionais (STROUS *et al.*, 1997). Paradoxalmente, esse baixo rendimento da biomassa limita a aplicação do processo *Anammox*, pois a dificuldade de cultivar e manter grandes quantidades desses microrganismos nos sistemas de tratamento resulta em tempos de partida muito longos e instabilidade operacional. O enriquecimento de consórcios *Anammox* oriunda de comunidade mista de bactérias requer a otimização e controle das condições que favorecem o processo *Anammox* em detrimento do crescimento de outros grupos de microrganismos. (STROUS *et al.*, 1998; DAPENA-MORA *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2010).

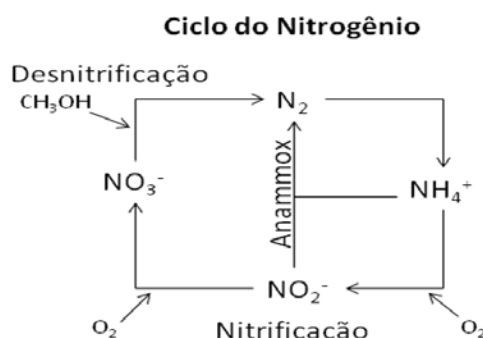


Figura 1: Dois processos biológicos de remoção de nitrogênio: Nitrificação-Denitrificação e *Anammox*.
Fonte: Adaptado de PAQUES, 2010.

Microrganismos *Anammox* tem sido detectados em diversos tipos de processos de tratamento de águas residuais, que incluem sistemas de lodo ativado (DAPENA-MORA *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2010), sistemas de tratamento de efluentes de matadouro frigorífico (REGINATTO *et al.*, 2005) entre outros. Araújo *et al.* (2010) defendem que estudos voltados para o enriquecimento e desenvolvimento de biomassa *Anammox* são necessários e importantes, como forma de viabilizar o uso dessa biomassa como inóculo e otimizar a partida de reatores.

O presente estudo objetiva avaliar o comportamento de um processo biológico de remoção simultânea de NH_4^+ e NO_2^- (processo *Anammox*), durante um período de adaptação de lodo extraído de um sistema de lodo ativado operado na variante aeração prolongada alimentado com esgoto sanitário.

MATERIAL E MÉTODOS

INÓCULO E MEIO DE CULTURA

O lodo utilizado na presente pesquisa foi oriundo de uma estação de tratamento de esgotos sanitários (ETE) operada pela Empresa Baiana de Águas e Saneamento (EMBASA), com vazão média de 20L/s e configuração de processo apresentada na Figura 2. Essa escolha baseou-se na experiência de alguns trabalhos, como o de Araújo *et al.* (2010), que conseguiram desenvolver o processo *Anammox* a partir da utilização de lodo oriundo de sistema de lodo ativado. Coletou-se 1,8L de lodo no tanque de aeração da ETE e inocularam-se dois reatores operados em paralelo, aqui denominados reator 01 (R.01) e reator 02 (R.02).

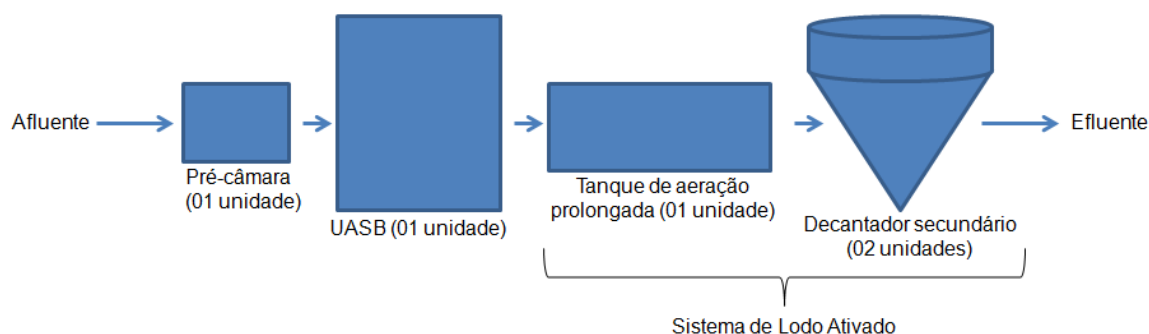


Figura 2: Esquema das unidades operacionais da etapa biológica do sistema de lodo ativado da ETE de Iberostar.

Um meio mineral autotrófico e uma solução de micronutrientes, descritos na Tabela 1, eram adicionados aos reatores. A concentração de nitrogênio como amônio e nitrogênio como nitrito alimentados nos reatores variou entre 13,1 – 95,0 mg N-NH₄⁺/L e 17,7 – 123,5 mg N-NO₂⁻/L no reator 01, e entre 11,8 – 85,1 mg N-NH₄⁺/L e 17,92 – 100,0 mg N-NO₂⁻/L no reator 02.

Tabela 1: Composição da água residuária sintética e da solução de micronutrientes.

REAGENTES	ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA CONCENTRAÇÃO ¹ / (mg/L)	SOLUÇÃO DE MICRONUTRIENTES CONCENTRAÇÃO ² / (mg/L)
FeSO ₄ .7H ₂ O	126,2	4.990,8
CaCl ₂	53	5.540
MnSO ₄ .H ₂ O	59,3	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	675,8	-
KH ₂ PO ₄	200	-
NH ₄ Cl	100 – 600	-
NaNO ₂	100 – 2.000	-
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	-	1.100,1
MnCl ₂ .4H ₂ O	-	5.062,3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	-	21.994,2
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	1.612,0
CuSO ₄ .5H ₂ O	-	1.570,2

Fonte: Adaptado de ¹Van de Graaf *et al.* (1996) e ¹Dapena-Mora *et al.* (2004); ²Campos, 1999.

DESCRIÇÃO E OPERAÇÃO DOS REATORES

Durante os primeiros 130 dias de operação, os reatores utilizados eram construídos em acrílico e selados com placas de madeira (Figura 3a). A partir do 131º dia de operação dos reatores, optou-se pela aplicação de reatores construídos em vidro, selados com rolha de silicone, algodão e plástico adesivo (Figura 3b). Essa alteração justifica-se pela suspeita de difusão do oxigênio atmosférico para o meio em análise.

Inicialmente, aproximadamente durante dois meses, o lodo foi mantido sob condições anóxicas com o nitrato como aceptor de elétrons, de forma a inibir a ocorrência de anaerobiose. Esses dois meses de operação foram caracterizados pela realização de testes exploratórios. Durante essa fase, identificou-se que a concentração de N-NO₃⁻ no sistema era superior a 300 mg/L, pois o sistema de lodo ativado do qual o inoculo foi originado opera para nitrificação completa do afluente. Portanto, cada reator recebeu 2 mL de etanol (1,58g) como fonte de carbono visando acelerar o processo de redução desse nitrato a nitrogênio gasoso pelas bactérias heterotróficas desnitrificantes. A massa de etanol adicionada foi baseado na relação 8,6 mg DQO/ mg N-NO₃⁻ reduzido.

As proporções afluentes de NH₄⁺ e NO₂⁻ inicialmente estabelecidas para os reatores 01 e 02 foram 1:1,3 e 1:1, respectivamente. Essas proporções eram as predominantes durante os primeiros 130 dias de operação. As razões NH₄⁺:NO₂⁻ afluentes aos reatores foram progressivamente manipuladas, de modo a observar o

comportamento da remoção de N-NH_4^+ . Essas razões de $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$ no afluente variaram entre 1,17 e 2,58 no reator 01 e, entre 1,00 e 2,06 no reator 02.

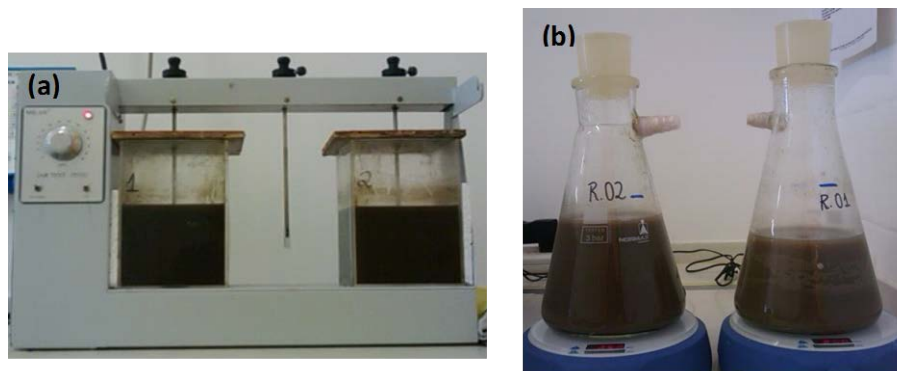


Figura 3: Aparato experimental utilizado para o enriquecimento do cultivo. (a) Aparato utilizado durante os 6 primeiros meses de operação e (b) Configuração atual – 4 meses de operação.

A partir do 202º dia de operação, buscando verificar a influência da desnitrificação endógena sobre o processo, retirou-se metade do lodo do reator 01 e inoculou-se outro reator com configuração semelhante ao reator 01. Esse reator foi batizado de reator 03 (R.03). Completou-se os volumes de R.02 e R.03 com água destilada. A concentração de N-NO_2^- afluente ao R.03 era próxima a do R.01, como o objetivo era avaliar a desnitrificação endógena, R.03 não recebia N-NH_4^+ .

Os reatores foram operados em bateladas, monitorando-se as concentrações de N-NH_4^+ e N-NO_2^- até que a concentração de uma dessas substâncias se aproximava ou igualava a zero. O pH e temperatura foram monitorados quatro vezes ao dia, sendo que a temperatura foi mantida ambiente e o pH, a cada monitoramento, estabilizado para próximo da neutralidade (7,0) com soluções de NaOH (1mol/L) e/ou H_2SO_4 (0,5 mol/L). Os reatores foram operados com tempo de detenção hidráulica (TDH) máximo de 232 horas, volume útil máximo de 1,5L e retenção total da biomassa.

Como fonte de carbono inorgânico, foram adicionados aos sistemas 1,5g/L de NaHCO_3 (bicarbonato de sódio). Essa fonte de carbono foi escolhida, pois Liao *et al.* (2008), estudando o efeito do carbono inorgânico sobre o enriquecimento de bactéria *Anammox*, identificaram aumento significativo na remoção de amônio e nitrito quando a concentração afluente de bicarbonato de sódio utilizada era de 1,5g/L.

Os testes em batelada objetivaram investigar o desaparecimento de N-NH_4^+ e N-NO_2^- , buscando também, identificar condições operacionais e parâmetros abióticos importantes para o crescimento de organismos *Anammox* tais como: pH, temperatura, concentração de N-NO_2^- e N-NH_4^+ limitantes e proporção $\text{N-NH}_4^+:\text{N-NO}_2^-$ ideais.

MÉTODOS ANALÍTICOS

Todos os procedimentos analíticos foram realizados de acordo com APHA; AWWA; WEF, (2005): determinação de nitrogênio amoniacal pelo método analítico titulométrico precedido de destilação; nitrito pelo método colorimétrico; sólidos em suspensão por gravimetria; pH e temperatura por método eletrométrico. Para análise de nitrito, logo após coleta, as amostras eram filtradas em membrana de diâmetro de poro de 0,45µm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante todo o período de operação, o comportamento da remoção de N-NH_4^+ tanto para o reator 01 como para o reator 02 foi bastante similar. De acordo com a Figura 4, até a 17ª batelada (130º dia de operação), a remoção de N-NH_4^+ foi mais acentuada. Observando a Figura 5, verifica-se que a taxa volumétrica de remoção do N-NO_2^- foi, durante todo o estudo, maior que a taxa volumétrica de remoção do N-NH_4^+ , levando a acreditar que a remoção de N-NH_4^+ era em parte, função do processo de volatilização. A mudança do aparato experimental para recipientes de vidro selados com rolhas de silicone permitiu melhor vedação do sistema e

com isso minimizou-se os efeitos do fenômeno de volatilização. Porém os resultados mostram que atividade desnitrificante, ainda poderia ser favorecida no processo.

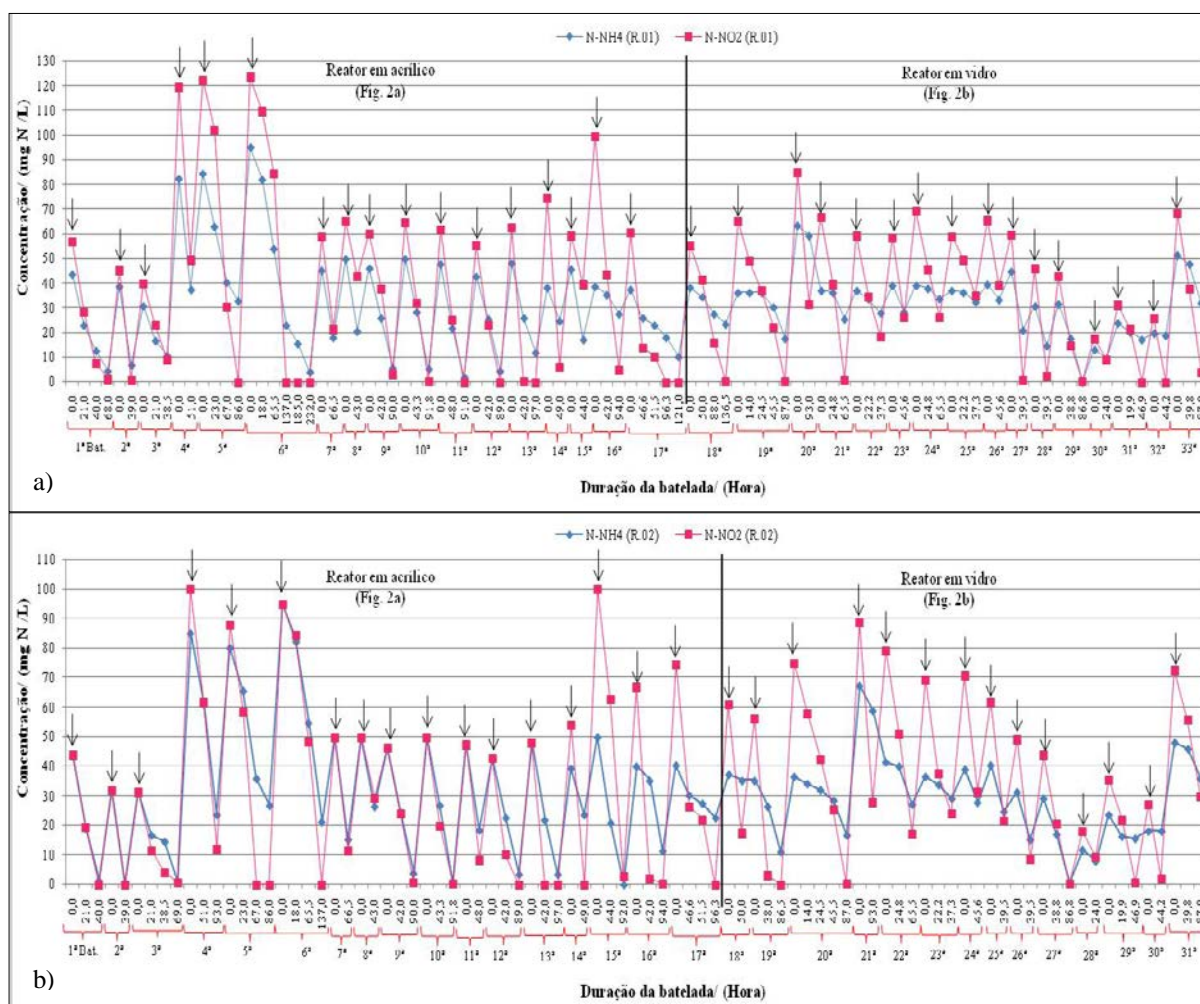


Figura 4: Operação do reator 01 (a) e reator 02 (b) em bateladas com água residuária sintética. Consumo de N-NH_4^+ e N-NO_2^- em horas ao longo de cada batelada, durante os 261 dias de operação. O símbolo (\downarrow) indica o início de nova batelada.

Nota-se (Figura 5) que a remoção dessas espécies químicas não foi simultânea e que NO_2^- era consumido mais rapidamente. A taxa volumétrica de remoção de N-NH_4^+ para ambos os reatores, não se aproximou da taxa volumétrica de remoção do N-NO_2^- ao final dos 261 dias. Segundo Mulder *et al.* (1995) e Strous, *et al.* (1998), a remoção simultânea de NH_4^+ e NO_2^- é indicativo da ocorrência de reação *Anammox*. No reator 01 a máxima taxa volumétrica de remoção de N-NH_4^+ foi igual a $0,021 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$, enquanto a taxa volumétrica de remoção de N-NO_2^- variou entre $(0,009 \text{ a } 0,036) \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Para o reator 02, a máxima taxa volumétrica de remoção de N-NH_4^+ foi igual a $0,026 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e a taxa volumétrica de remoção de N-NO_2^- variou entre $(0,009 \text{ a } 0,029) \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Apesar da atividade *Anammox* ainda não ser constatada, essas taxas de remoção aproximam-se de outras taxas encontradas na literatura. Toh, Webb e Ashbolt (2002), depois de identificarem atividade *Anammox*, observaram durante 90 dias que amônia desaparecia a uma taxa de $0,018 \text{ kg N-NH}_4^+/\text{m}^3.\text{dia}$. Vale ressaltar que nesse estudo, os autores utilizaram compostos fenólicos para inibir a redução do nitrito via desnitrificação e identificaram atividade *Anammox* a partir de culturas isoladas. Liao *et al.* (2008), com o mesmo intervalo de tempo e utilizando cultura mais seletiva, observou uma taxa de remoção de $0,015 \text{ kg N-NH}_4^+/\text{m}^3.\text{dia}$. Após 90 dias os autores observaram uma redução significativa no tempo de remoção de N-NH_4^+ e N-NO_2^- . Dapena-Mora *et al.*, 2004 e Third *et al.*, 2005, relataram presença de atividade *Anammox* após 70 e 120 dias de operação, respectivamente. Ressalta-se que nesses trabalhos argônio (Ar) era introduzido no meio para inibir a difusão do oxigênio.

Os resultados obtidos indicam que, possivelmente, ocorria uma competição entre as bactérias *Anammox* (autotróficas) e bactérias heterotróficas desnitrificantes pelo aceptor de elétrons. Mesmo na ausência de fonte externa de carbono orgânico, as bactérias heterotróficas desnitrificantes são capazes de obter energia para suas atividades se alimentando do material celular e, assim, continuar a consumir parte do NO_2^- disponível no meio, afetando o equilíbrio da reação *Anammox*. Diante disso, o processo ainda não pode ser considerado como *Anammox*.

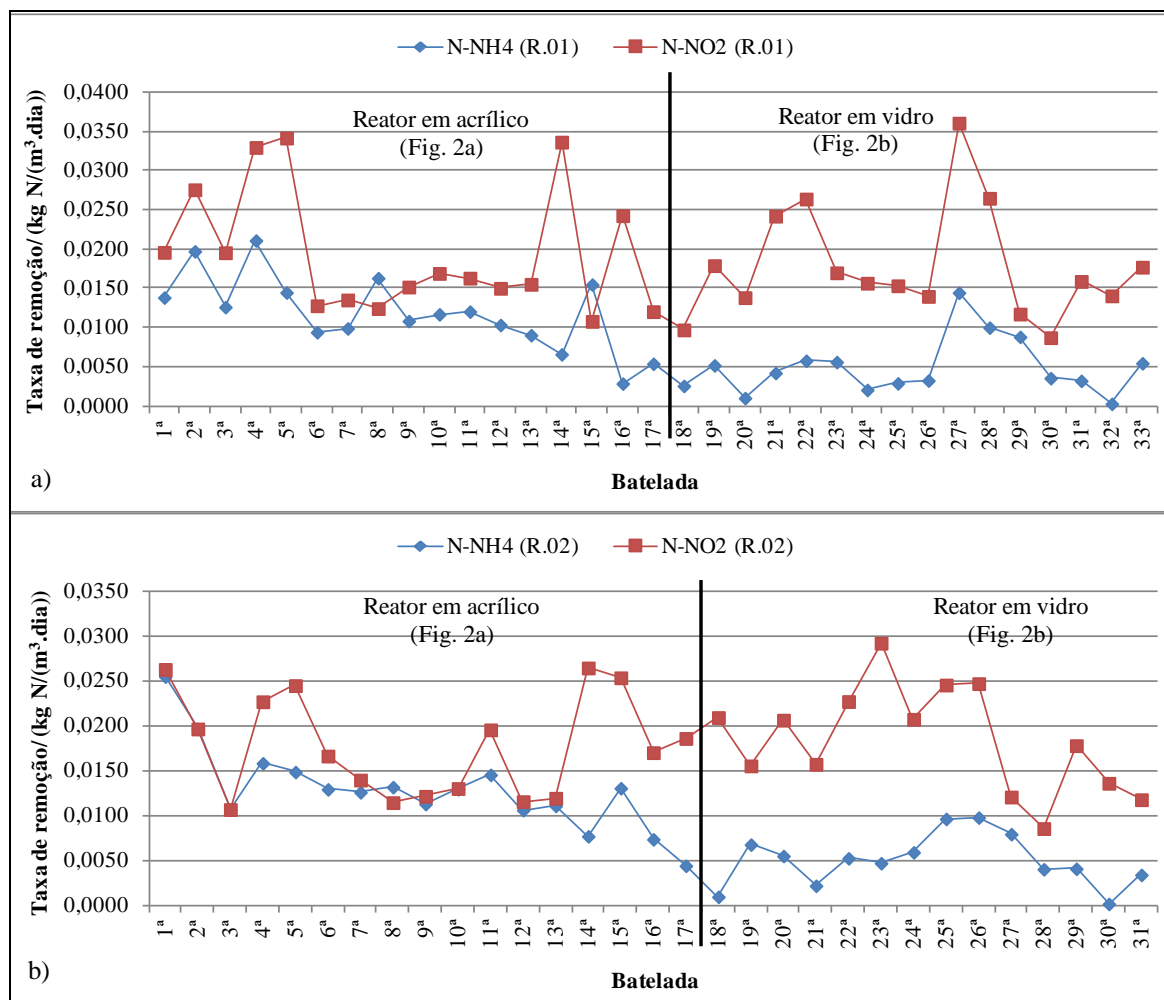


Figura 5: Série temporal da taxa volumétrica de remoção de nitrogênio nos reatores 01(a) e 02 (b) ao longo dos 261 dias operação. Comportamento das taxas de remoção utilizando reator de acrílico selado com tampa de madeira (operado por 130 dias) e reator de vidro selado com rolha de silicone (operado por 131 dias).

A montagem de um terceiro reator (R.03) inoculado com metade do lodo do reator 01 possibilitou avaliar o desempenho da reação de desnitrificação. O reator 03 era dotado da mesma composição e configuração do reator 01, porém NH_4^+ não era adicionado a esse reator. Observando a Figura 6, nota-se que a taxa volumétrica de remoção de N-NO_2^- no R.03 foi maior que a no R.01. Como esses dois reatores diferem quanto à presença de NH_4^+ , duas hipóteses foram ser levantadas: 1) a velocidade de redução do NO_2^- no R.03 estava vinculada a respiração endógena; 2) a presença de NH_4^+ no R.01 estava retardando o consumo do NO_2^- pela desnitrificação endógena, uma vez que, se suspeita da existência de competição entre bactérias *Anammox* e desnitrificantes nesse reator. Um decréscimo da taxa volumétrica de remoção de N-NO_2^- em ambos os reatores foi observado do 205º até o 224º dia, a partir desse ponto, a taxa volumétrica de remoção de N-NO_2^- para os dois reatores aparentemente se estabilizou e aproximou-se bastante. Isso pode ser indicativo da redução da atividade das bactérias heterotróficas desnitrificantes.

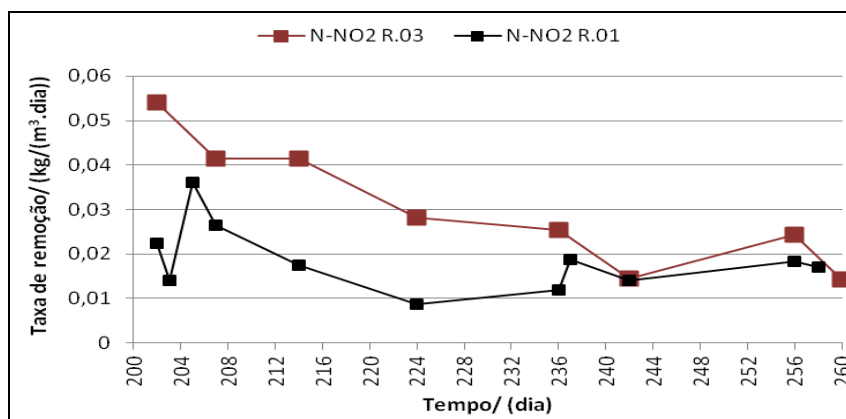


Figura 6: Taxa volumétrica de remoção de N-NO_2^- em $\text{kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ no reator 03. Análise do comportamento da desnitrificação endógena quando amônio não era adicionado ao reator.

Acredita-se que a adição de etanol aos reatores (16/06/2011) na fase de testes exploratórios contribuiu para o retardo do desenvolvimento dos microrganismos *Anammox*, uma vez que etanol é fonte de carbono orgânico para bactérias heterotróficas desnitrificantes. Isso é bem evidenciado na Figura 7, que apresenta a concentração de sólidos em suspensão voláteis (SSV) ao longo do tempo.

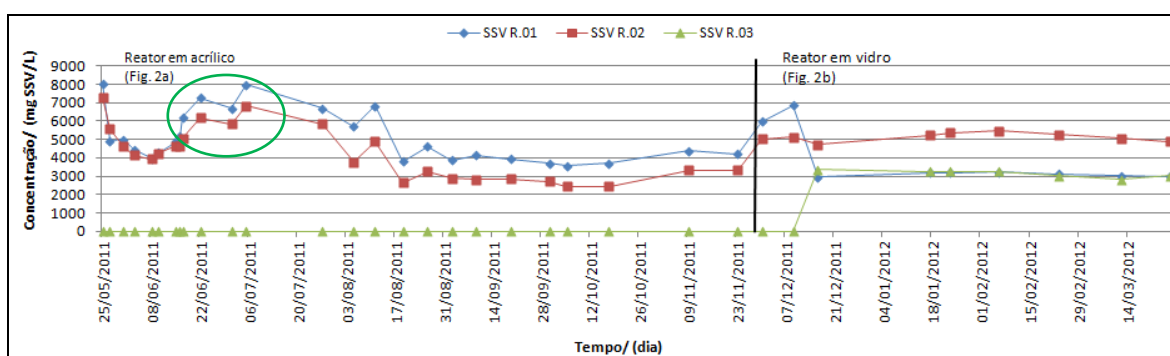


Figura 7: Concentração de sólidos em suspensão voláteis (SSV) em mg/L. Após a data 20/07/2011 a concentração de SSV refere-se a fase de adaptação do lodo, utilizando o NO_2^- como aceptor de elétrons.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

As máximas taxas volumétrica de remoção de N-NH_4^+ foram iguais a $0,021 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e $0,026 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ nos reatores 01 e 02, respectivamente. Para o N-NO_2^- a taxa volumétrica de remoção no reator 01 variou entre $(0,009 \text{ a } 0,036) \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e no reator 02 entre $(0,009 \text{ a } 0,029) \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$.

Os valores das taxas de remoção volumétrica de N-NH_4^+ e N-NO_2^- permitem concluir que a remoção de N-NH_4^+ e N-NO_2^- não foi simultânea, não sendo possível caracterizar o processo como *Anammox*.

A análise de agrupamento permitiu concluir que o emprego de razão $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$ maior que a sugerida na literatura para partida de processo *Anammox* (1,32), deve ser realizado quando há necessidade de enriquecer cultivo. Isso pode garantir maior disponibilidade de nitrito no sistema para que consórcios *Anammox* sejam capazes de competir com bactérias desnitrificantes.

Recomenda-se a aplicação de análise de hibridação in situ fluorescente (FISH, do inglês *fluorescent in situ hybridization*) para confirmar a presença de bactérias *Anammox*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA; AWWA; WEF. Standard Methods for the examination of water & wastewater. 21ª edição. 2005.
2. ARAÚJO, J. C.; CAMPOS, A. P.; CORREA, M. M. S.; SILVA, E. C.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Enriquecimento de bactérias anaeróbias oxidadores de amônia – Anammox. Revista ABES - Eng. Sanitária e Ambiental, v. 15, n. 2, p. 205-212; 2010.
3. CAMPOS, J. L.; GARRIDO-FERNANDEZ, J. M.; MENDEZ, R.; LEMA, J. M.; Nitrification at high ammonia loading rates in a activated sludge unit. Revista Bioresource Technology, nº 68, p. 141-148; 1999.
4. DAPENA-MORA, A.; VAN HULE, S. W.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R.; VANROLLEGHEM, P. A.; JETTEN, M. Enrichment of Anammox biomass from municipal activated sludge: experimental and modeling results. Revista Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 79, p. 1421-1428. Ano 2004.
5. JETTEN, M. S. M.; WAGNER, M.; FUERST, J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN, J. G.; STROUS, M. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) process. Curr Opin Biotechnol, v. 12, p. 283-288; 2001.
6. LIAO, D.; LI, X.; YANG, Q.; ZENG, G.; GUO, L.; YUE, X. Effect of inorganic carbon on anaerobic ammonium oxidation enriched in sequencing batch reactor. Revista Journal of Environmental Sciences, v.20, p. 940-944. Ano 2008.
7. METCALF and EDDY. Wastewater engineering-treatment and reuses. 4th ed., McGraw-Hill; 2003.
8. MULDER, A.; VAN DE GRAAF, A. A.; ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. Revista FEMS Microbiology Ecology, v. 16, p. 177-184. Ano 1995.
9. PAQUES. <http://www.paques.nl/en/home>. Abril, 22/2010.
10. REGINATTO, V.; TEIXEIRA, R. M.; PEREIRA, F.; SCHMIDELL, W.; FURIGO, A. J.; MENES, R.; ETCHEBEHERE, C.; SOARES, H. M.; Anaerobic ammonium oxidation in a bioreactor treating slaughterhouse wastewater. Revista Brazilian Journal of Chemical Engineering, São Paulo, vol. 22, p. 593-600; 2005.
11. STROUS, M.; VAN GERVEN, E.; ZHENG, P.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) process in different reactor configurations. Revista Water research, vol. 31, nº 8, p. 1955-1962; 1997.
12. STROUS, M.; HEIJNEN, J. J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. The Sequencing batch reactor as a power tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. Revista Appl. Microbiol Biotechnology, v. 50, p. 589-596. Ano 1998.
13. STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Key physiology of anaerobic ammonia oxidation. Revista Appl Environ Microbiol, vol. 65, p. 3248-3250; 1999.
14. THIRD, K. A. *et al.* Enrichment of Anammox from activated sludge and its application in the CANON Process. Revista Microbiol Ecology, vol. 49, nº 2, p. 236-244; 2005.
15. TOH, S. K.; WEBB, R. I.; ASHBOLT, N. J. Enrichment of autotrophic anaerobic ammonium-oxidizing consortia from various wastewaters. Revista Microbial Ecology, v.43, p. 154-167. Ano 2002.
16. VAN de GRAAF, A. A.; MULDER, A.; de BRUIJN, P.; JETTEN, M. S. M.; ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G.; Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. Revista: Appl. Environ. Microbiol, v. 61, p. 1246-1251; 1995.
17. VAN de GRAAF, A. A.; BRUIJN, P. de; ROBERTSON, L. A.; JETTEN, M. S. M.; KUENEN, J. G. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. Revista Microbiology, v. 142, p. 2187-2196. Ano 1996.
18. YOUNG-HO AHN. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. Revista Process Biochemistry, v. 41, p. 1709-1721; 2006.