

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – UFJF**  
**CURSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

**O PROCESSO QUE FECHOU O CICLO: UMA REVISÃO DOS ÚLTIMOS  
DEZ ANOS DO PROCESSO ANAMMOX COM ÊNFASE NA IMPORTÂNCIA DOS  
ÍONS FERRO E FÓSFORO PARA SUA ATIVIDADE**

**Gustavo Pereira Mesquita**

**Juiz de Fora**

**2016**

**O PROCESSO QUE FECHOU O CICLO: UMA REVISÃO DOS ÚLTIMOS  
DEZ ANOS DO PROCESSO ANAMMOX COM ÊNFASE NA IMPORTÂNCIA DOS  
ÍONS FERRO E FÓSFORO PARA SUA ATIVIDADE**

Trabalho final de curso apresentado ao departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de engenheiro sanitário e ambiental.

Área de concentração: engenharia ambiental e sanitária; microbiologia

Linha de pesquisa: tratamento biológico de efluentes

Orientador: Prof. Dr. Nathan Oliveira Barros

Co-Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Simone Jaqueline Cardoso

Juiz de Fora

Faculdade de Engenharia da UFJF

2016

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, que me apoiaram desde a escolha do curso até o final, me incentivando e exigindo quando necessário. Sem eles tudo isso não seria possível.

Aos meus amigos, que compartilharam comigo momentos de alegrias e de dificuldades, me aconselhando e me ensinando a cada dia, estes sempre levarei comigo.

Aos meus orientadores, Nathan e Simone, por todo o tempo dedicado a mim, pela paciência ao me ensinar, pela dedicação e profissionalismo a este trabalho, saibam que me orgulho em te-los como parte fundamental deste trabalho, sem vocês com certeza isso não seria possível.

À banca examinadora, em especial as professoras Juliana Calábria de Araújo e Sue Ellen Brottel, que dispuseram do seu tempo e disposição para vir de Belo Horizonte participar desta banca.

À Faculdade de Engenharia e Biologia da UFJF, em especial ao departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária e o seu coordenador, professor Otávio Eurico de Aquino Branco por toda a ajuda, e ao departamento de Ecologia Aquática, me acolhendo como um de seus alunos.

Agradeço também a todos os outros professores que me ajudaram nestes anos, me passando todo seu conhecimento e me tornando o engenheiro ambiental que serei.

Enfim, agradeço a todos que me ajudaram, de uma maneira ou de outra, nessa caminhada e na realização deste trabalho. Muito Obrigado!

## RESUMO

A eutrofização de rios e lagos se caracteriza principalmente pelo aumento das concentrações de nutrientes (nitrogênio e fósforo), que por sua vez pode favorecer a proliferação excessiva de cianobactérias. Muitas espécies de cianobactérias são potencialmente tóxicas, ou seja, podem produzir toxinas (cianotoxinas) prejudiciais à saúde dos seres vivos. Estas toxinas se apresentam como um risco à saúde humana, principalmente em áreas de abastecimento público e/ou recreação. A presença de nitrogênio no ambiente aquático, se dá diversas formas, devidos aos processos de fixação, nitrificação, desnitrificação, e o recentemente descoberto anammox. Anammox do inglês “*anaerobic ammonium oxidizer*”, assim como o processo, consiste em um grupo de bactérias autotróficas recentemente descobertas. Esta bactéria oxida o  $\text{NH}_4$  presente na água usando nitrito como aceptor de elétrons, produzindo gás nitrogênio. Esta tecnologia representa uma alternativa de alta relação custo-benefício aos métodos convencionais remoção de amônio. Neste sentido, há um grande potencial de uso da tecnologia anammox. Realizou-se, neste trabalho, um levantamento bibliográfico sobre publicações relacionando à atividade da anammox e/ou à eficiência do processo com ferro e fósforo nos últimos 10 anos. Ainda, determinou-se um intervalo de razões ótimas  $\text{Fe}^{3+}/\text{P}$  e  $\text{Fe}^{2+}/\text{P}$  para enriquecimento da solução. Para isso, foram determinadas 24 combinações de palavras-chave, utilizadas para buscas de artigos nos indexadores Web Of Science e Scielo. Com exceção de um artigo, todos os outros apresentaram resultados positivos quanto a adição de ferro à solução, sendo o maior valor ideal encontrado de 5,03  $\text{Fe}^{2+}/\text{mg/l}$ . Para fósforo, somente um artigo relata um intervalo de concentrações de incremento de atividade bacteriana de 474,86 a 4748,57  $\text{mg/l}$ . Após a análise crítica dos resultados, chegou-se aos intervalos de razões ideais teóricas de 0,003 a 0,011 para  $\text{Fe}^{2+}/\text{P}$  e 0,004 a 0,005 para  $\text{Fe}^{3+}/\text{P}$ . Além disso, verificou-se a tendência do uso deste processo no Brasil e no mundo, assim como ressaltou-se exemplos de aplicações práticas. Concluiu-se que com a falta de padronização e informação nos estudos relacionados ao tema, não foi possível chegar a uma razão ideal teórica definitiva, sendo necessário estudos práticos dos intervalos de razões encontrados por este trabalho, e também que apesar de ainda pouco explorada, principalmente nos países do hemisfério sul, esta tecnologia vem ganhando força e atenção do mundo acadêmico.

## ABSTRACT

The eutrophization process in lakes and rivers is characterized mostly by the raising of nutrients concentration (iron and phosphorus), which could enhance the proliferation of cyanobacteria's. Many species of cyanobacteria are potentially toxic, while they could produce toxins (Ciano toxins) harmful to the health of many living organisms. These toxins are also harmful to human health, predominantly in public water supplies reservatories or in recreational areas. Nitrogen in the aquatic environment exists in different forms, due to the processes of fixation, nitrification and denitrification and the recently discovered anammox. Anammox, or "anaerobic ammonium oxidizer", which named the process, consists in a group of autotrophic bacterium recently discovered. These bacteria oxidize the  $\text{NH}_4$  in the water using nitrite as an electron acceptor, producing nitrogen gas. This technology represents a highly cost-benefit-relation alternative to the traditional methods of nitrogen removal from the aquatic environments. In this context, its clear the high potential of its usage. In this study, was made a literature review about articles correlating the enhance of the anammox activity and/or the enhance of the process efficiency with the addition of iron and phosphorus in the past ten years. Besides, it was determinate a gap of optimal relations between  $\text{Fe}^{3+}/\text{P}$  and  $\text{Fe}^{2+}/\text{P}$  for the solution enrichment. For that, it was set 24 keyword combinations, used to the search for articles at Web of Science and Scielo. Except for one article, every other article found showed positive effects of iron addition in the solution, with the highest optimal value found of 5,03 mg  $\text{Fe}^{2+}/\text{l}$ . For phosphorus, only one article reports a concentration gap which enhanced the activity of anammox, between 474,86 and 4748,57 mg P/l. After critical analyses of the results, the study came up with theoretical optimal gaps of 0,003 to 0,011 for  $\text{Fe}^{2+}/\text{P}$  and 0,004 to 0,005 for  $\text{Fe}^{3+}/\text{P}$ . Likewise, it was verified the trend for usage of this process in Brazil and in the rest of the world, just as it was highlighted several practical examples, in different kinds of effluents. It came by as a conclusion that the lack of standards and information in these studies it was not possible to reach a theoretical optimal relation between iron and phosphorus, but gaps between them, showing the necessity of practical studies with the gaps found. It was clear also that, besides hardly explored, mostly in the country of the South hemisphere, this technology is gaining strength and attention in the academic world.

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>8</b>
2.1 GERAL .....	8
2.2 ESPECÍFICOS .....	8
<b>3. MÉTODOS .....</b>	<b>8</b>
3.1 DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	8
3.2 DA APLICAÇÃO DA ANAMMOX.....	11
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>12</b>
4.1 DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	12
4.2 DA APLICAÇÃO DA ANAMMOX.....	20
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
5.1 NÚMERO DE ARTIGOS ENCONTRADOS.....	24
5.2 ANAMMOX NO BRASIL E NO MUNDO E SUA APLICABILIDADE .....	25
5.3 O PAPEL DO FERRO PARA ANAMMOX.....	27
5.4 O PAPEL DO FÓSFORO PARA ANAMMOX .....	29
5.5 INTERVALO ÓTIMO DE RAZÃO Fe/P ENCONTRADO .....	30
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>31</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>33</b>

## Lista de Figuras

Figura 1: Ilustração do ciclo do nitrogênio, demonstrando as principais etapas de sua transformação no ecossistema. Fonte: <a href="http://wizznotes.com/biology/nutrient-cycles/nitrogen-cycle">http://wizznotes.com/biology/nutrient-cycles/nitrogen-cycle</a> .....	2
Figura 2: Estrutura celular comumente encontrada em bactérias (a). Estrutura celular da anammox (b). Figura modificada de van Niftrik et al., 2008.....	6
Figura 3: Modelo postulado para as reações catabólicas da anammox. Heme enzimas são mostradas em vermelho. nir: Nitrito reductase; hh: Hydrazine Hidrolase; hao: hidroxylamine oxidoreductase; cyt: citocromo;bc1 : complexo de citocromo bc1; Q: coenzima Q; a: compartimento anammoxosome; r: compartimento riboplasmático. Fonte: (Strous <i>et al.</i> , 2006).....	7
Figura 4: Total de artigos publicados por indexador por ano. ....	15
Figura 5: Linha do tempo da aplicação da anammox no mundo .....	22
Figura 6: Linha do tempo da aplicação da anammox no Brasil.....	23

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Combinações de palavras-chave adotadas para a busca do artigos científicos nos indexadores Web Of Science e Scielo. ....	10
Tabela 2: Número de artigos encontrados por combinação de palavras-chave e por indexador antes e a após remoção de artigos duplicados. ....	14
Tabela 3: Resultado das quatro filtragens realizadas para obtenção do universo amostral considerado. ....	16
Tabela 4: Tabela comparativa final dos resultados obtidos após revisão dos artigos da 4ª filtragem. Legenda: SAA: Atividade específica de anammox; TRN: Taxa de remoção de nitrogênio; ERA: Eficiência de remoção de amônio; ERN: Eficiência de remoção de nitrogênio. ....	19



## 1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um elemento químico essencial à vida, sendo responsável por compor diversas biomoléculas como o DNA, proteínas e a clorofila (Bernhard, 2012). Sem ele, ecossistemas aquáticos ou terrestres não se desenvolveriam como conhecemos hoje. Apesar de sua importância para a manutenção da vida em ambientes aquáticos, sua introdução excessiva a estes meios por ação antrópica (despejo de esgotos sanitários, efluentes de fermentação e fabricação de alimentos, insumos agrícolas) pode trazer inúmeras consequências, sendo a mais expressiva a eutrofização de rios e lagos. A eutrofização se caracteriza como o aumento das concentrações de nutrientes (p.ex., nitrogênio e fósforo) podendo levar a proliferação exagerada de produtores primários como macrófitas e algas, dentre elas as cianobactérias, em ecossistemas lóticos e lenticos. A proliferação destes organismos apresenta consequências como o consumo do oxigênio dissolvido no meio aquático, assim como o bloqueio dos raios solares essenciais à produção primária e manutenção das demais teias tróficas. Ainda, o afloramento de cianobactérias também tem potencial risco à saúde humana e de outros animais, uma vez que estes organismos podem liberar cianotoxinas em áreas de abastecimento público e/ou recreação.

Na natureza existem diversas fontes de nitrogênio para o ambiente aquático, sendo a fixação (processo de aprisionamento deste presente no ar em um sistema aquático, por exemplo pelas raízes de plantas) o mais comum, uma vez que a atmosfera terrestre na sua composição contém aproximadamente 78% de nitrogênio. Além da fixação de nitrogênio atmosférico, outras fontes naturais tais como a decomposição de material orgânico, ações vulcânicas e tempestades de raios tem fundamental importância no balanço dos ecossistemas. Esse equilíbrio entre a fixação e o desprendimento de nitrogênio do meio aquático é chamado de ciclo do nitrogênio (Figura 1).

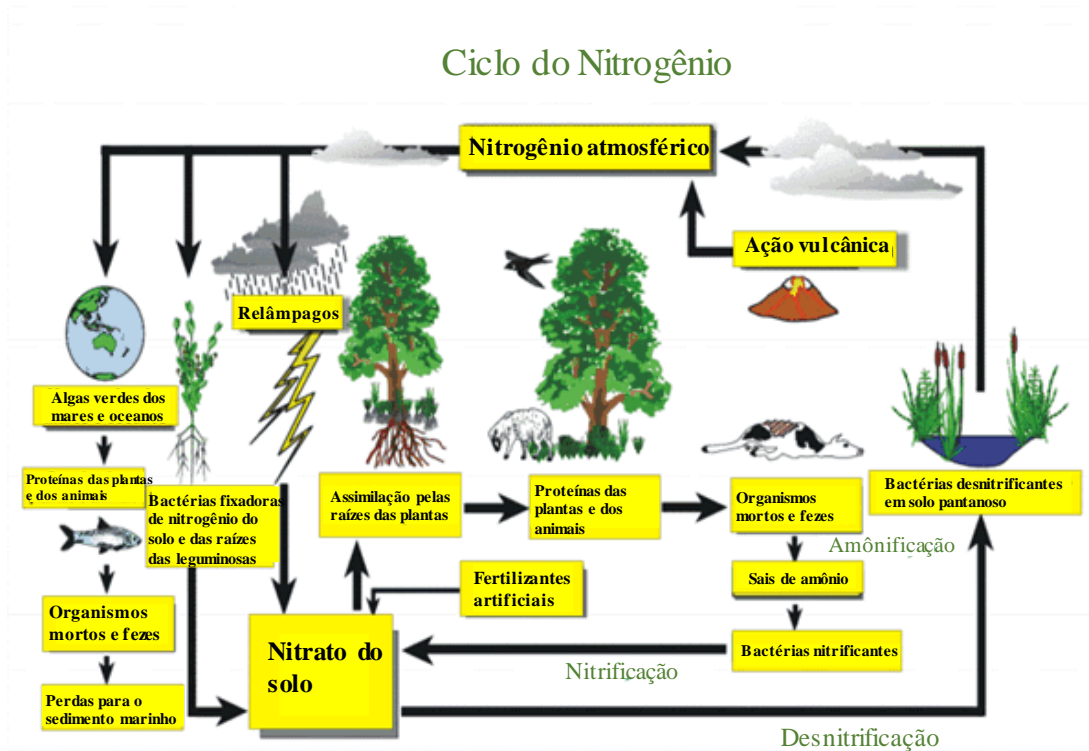


Figura 1: Ilustração do ciclo do nitrogênio, demonstrando as principais etapas de sua transformação no ecossistema. Fonte: <http://wizznotes.com/biology/nutrient-cycles/nitrogen-cycle>

No meio aquático este elemento se encontra no formato de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), amônia ( $\text{NH}_3^+$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Rouse, Bishop e Struger, 1999). Estas diferentes formas se devem aos processos que constituem o ciclo do nitrogênio. Usualmente, limitavam-se estes processos a: i) fixação, ii) nitrificação e iii) desnitrificação. A i) fixação é a transformação do nitrogênio presente no ar em amônia ( $\text{NH}_3^+$ ) solúvel em água; a ii) nitrificação é a redução da amônia a nitrato, tendo como composto intermediário o nitrito, realizado por grupos de bactérias oxidantes de amônia, do inglês *Ammonia-Oxidizing Bacteria* - AOB; e a iii) desnitrificação consiste no último processo deste Ciclo, com a redução do nitrato a novamente gás nitrogênio, realizado por grupos de bactérias oxidantes de nitrogênio, do inglês *Nitrogen-Oxidizing Bacteria* - NOB. As reações em cadeia dos

processos de fixação, nitrificação e desnitrificação são mostradas nas equações 1 a 4 (Bernhard,2012).



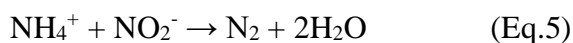
Atualmente um processo alternativo de conversão da amônia (ou de sua forma mais estável, o amônio) a gás nitrogênio já é conhecido: A anammox, do inglês *Anaerobic Ammonium Oxidation*, grupo de bactérias que da nome ao processo, foi primeiramente descoberto em 1995 em um reator de desnitrificação (Mulder *et al.*, 1995). O primeiro uso destas bactérias foi nas instalações de Dokhaven-Sluisjesdijk no tratamento de efluente domestico em Rotterdam (Van Der Star *et al.*, 2007).

Quando usado no tratamento de efluentes industriais, a anammox mostra-se ser uma alternativa sustentável e de excelente custo-benefício quando comparada com os processos usuais de remoção de amônio, uma vez que apresenta diversas vantagens como um baixo custo operacional, uma elevada taxa de remoção de nitrogênio (NRR), uma redução de até 90% nos níveis de emissão de CO<sub>2</sub> e um menor espaço requerido (Jin *et al.*, 2012).

Após sua primeira utilização, vários estudos mostraram o uso bem-sucedido destas bactérias para a remoção do nitrogênio em diferentes sistemas naturais e artificiais com baixas concentração de oxigênio e presença de NH<sub>4</sub> e NO<sub>x</sub> disponíveis na forma de NO<sub>2</sub> e NO<sub>3</sub>, tais como chorume, águas residuais de forno de coque, águas residuais de glutamate de monosódio e vários outros tipos de águas residuais.

O processo anammox é um passo importante no ciclo do nitrogênio, uma vez que antes de sua descoberta, pensava-se que todo o processo de redução do amônio a gás nitrogênio deveria ocorrer em habitat aeróbicos através da combinação dos processos de nitrificação e desnitrificação (Eqs.2 a 4) De Araujo *et al.*, (2010). Este processo consiste na oxidação do amônio a gás nitrogênio através de uma bactéria autotrófica. Sob condições

anóxicas, o amônio é oxidado pela bactéria anammox, usando nitrito como receptor de elétrons e CO<sub>2</sub> como a única fonte de carbono (Bi *et al.*, 2014), produzindo gás nitrogênio como mostrado de forma simplificada (Eq. 5) (Bernhard, 2012).



Apesar de ser uma tecnologia promissora, alguns aspectos podem ainda ser uma barreira contra a larga utilização destas bactérias. Conhecer essas limitações é essencial para o bom funcionamento de um reator anammox. Uma de suas grandes desvantagens é o seu longo período de *start-up*, que de acordo com Bi *et al.*, (2014) pode ser substancialmente reduzido promovendo o metabolismo da anammox através do reforço a atividade de oxidação do amônio. O mal funcionamento ou inibição da atividade bacteriana pode ocorrer pela intoxicação por substrato e matéria orgânica e/ou insuficiência de compostos essenciais ao seu metabolismo. Altas concentrações de amônio podem indicar um ambiente tóxico para a anammox, porém o verdadeiro substrato inibidor é a alta concentração de amônia (FA) consequente do aumento do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – N residual na presença de um elevado pH (acima de 8,7) (Jin *et al.*, 2012).

Estudos mostram diferentes concentrações limites para inibição por FA, variando de 1.7 mgL<sup>-1</sup> (Jung *et al.*, 2007) a 187 mg L<sup>-1</sup> (Tang *et al.*, 2011). Este fato, de acordo com Oshiki *et al.*, (2011) é dependente das características fisiológicas de cada espécie de anammox. Portanto, Jin *et al.*, (2012) acredita que a bactéria anammox não somente pode tolerar FA (ou elevados níveis de amônio) como também pode acomodar FA através de aclimatação, porém se esses níveis forem muito maiores do que o limite de inibição, poderá ocorrer a perda completa da atividade bacteriana.

A limitação por nitrito encontra divergências quanto ao seu composto inibidor. Strous, Kuenen e Jetten, (1999) e Lotti *et al.*, (2012), defendem que o real inibidor da anammox seja o íon NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, já Jin *et al.*, (2012), por exemplo, defende que assim como a limitação por amônia, altas concentrações de nitrito podem também indicar um ambiente tóxico para as bactérias anammox pela produção de ácido nítrico (FNA) afetando a estabilidade e eficiência deste processo. Apesar das divergências na sua forma de atuação,

sabe-se que a biotoxicidade do nitrito é superior a do amônio, tendo os valores limites para inibição encontrados (entre 5 e 280 mg L<sup>-1</sup>) menores do que os limites de inibição encontrados para o amônio (por volta de 700 mg L<sup>-1</sup>) (Dapena-Mora, Fernández, *et al.*, 2007).

Ademais de NH<sub>4</sub> (FA) e NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ou (FNA), material orgânico pode afetar também a eficiência do processo. A inibição por material orgânico ocorre geralmente em dois modos diferentes. No primeiro mecanismo proposto, a bactéria anammox compete com as bactérias heterotróficas no meio, as quais têm uma taxa de crescimento mais acelerada, reduzindo sua capacidade de remoção de nitrogênio (Jin *et al.*, 2012). O segundo mecanismo ainda de acordo com Jin *et al.* (2012) propõe que a anammox é dominante no meio, porém esta utiliza uma diferente via metabólica, usando a matéria orgânica ao invés de amônio e nitrito como substrato. A limitação por substrato tóxico (por exemplo, alcoóis, aldeídos, fenóis e antibióticos) podem também limitar e/ou inibir a atividade bacteriana.

A organização do envelope celular das anammox difere-se do envelope celular de outras bactérias (Strous *et al.*, 2006), contendo duas membranas na parte interior da parede celular e a inexistência de uma membrana externa (Figura 2). Dentre estas duas membranas características deste filo, a mais externa, foi definida como a membrana citoplasmática, baseado na presença de RNA em seu interior evidenciado pelo processo de rotulagem por RNase-gold (Lindsay, Webb e Fuerst, 1997). A segunda membrana foi então definida como a membrana intracitoplasmática. No caso da anammox, uma terceira e última membrana envolve uma organela ou vacúolo sem a presença de ribossomos, a anammoxosoma. Sendo assim, o citoplasma da bactéria anammox é dividido em três compartimentos separados ligados por membranas individuais de dupla camada (Van Niftrik, L. *et al.*, 2008).

Van Niftrik *et al.*, (2008), revelam partículas confinadas dentro ou próximo à organela anammoxosoma que mostraram conter altas concentrações de ferro através de análises com energia dispersiva de raio-x, as quais posteriormente foram distinguidas como enzimas contendo proteína citocromo c, que podem estar envolvidos na oxidação anaeróbica do amônio para gás dinitrogênio. As proteínas do citocromo c constituem cerca de 30% do complemento proteico da anammox (Bi *et al.*, 2014), sendo necessário íons ferro

para sua formação, podendo assim afirmar que com o aumento nas concentrações de ferro promoveria a maior síntese de enzimas que contém o grupo heme c (Qiao *et al.*, 2013).

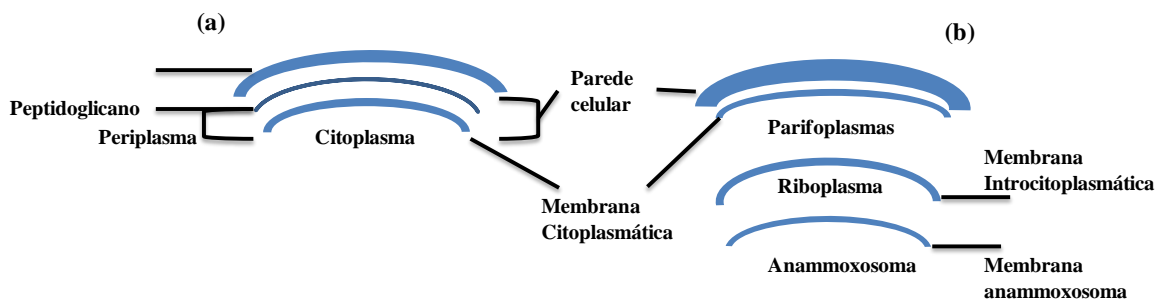


Figura 2: Estrutura celular comumente encontrada em bactérias (a). Estrutura celular da anamox (b). Figura modificada de van Niftrik *et al.*, 2008.

O grupo prostético heme c é considerado um componente indispensável para algumas enzimas presente na anamox, como a hidroxylamine oxidoreductase, hydrazine hidrolase, nitrite reductase e complexo de citocromo bc1, servindo de carreadores de elétrons na maioria dos citocromos c (Van Niftrik, Laura *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2012; Qiao *et al.*, 2013; Bi *et al.*, 2014). Deste modo, a maior síntese dessas enzimas pelo enriquecimento da solução com íons ferro, aceleraria o metabolismo da anamox, promovendo sua taxa de crescimento e sua eficiência na remoção de nitrogênio (Bi *et al.*, 2014). Com isso destaca-se a que a insuficiência destes íons poderá ocasionar uma diminuição ou inibição da atividade anamox.

Van Niftrik, Laura *et al.*, (2008) também concluíram que na anammososoma está presente um maior número de partículas que contém concentrações de fosfato mais elevado do que nos outros compartimentos da célula. Este fosfato na superfície do núcleo, ainda de acordo com Van Niftrik, L. *et al.*, (2008) não afetou a estequiometria da reação de oxidação do ferro II, mas aumentou a taxa de fixação de oxigênio, a qual esta envolvida em facilitar as reações de transferência interna de elétrons na superfície do núcleo, evidenciando assim a importância deste elemento para o processo. Por outro lado, Dapena-Mora, Fernandez, *et al.*, (2007) relataram que a presença de fosfato em uma concentração de 20 mM (apesar de

não ser usualmente encontrada em efluentes industriais) poderia causar uma diminuição de 50% da atividade da anammox.

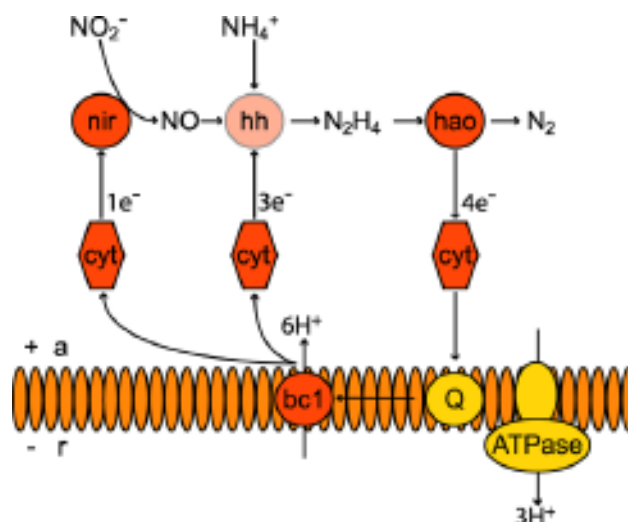


Figura 3: Modelo postulado para as reações catabólicas da anammox. Heme enzimas são mostradas em vermelho. nir: Nitrito reductase; hh: Hydrazine Hidrolase; hao: hidroxyamine oxidoreductase; cyt: citocromo;bc1 : complexo de citocromo bc1; Q: coenzima Q; a: compartimento anammoxosoma; r: compartimento riboplasmático. Fonte: (Strous *et al.*, 2006).

Tendo em vista a importância dos íons ferro e de fósforo (seja positivamente ou negativamente) para o processo e a falta de conhecimento acerca do assunto principalmente em âmbito nacional, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica dos últimos dez anos de pesquisas em anammox com ênfase na importância destes elementos para sua atividade, buscando relacionar através de resultados divulgados na bibliografia uma razão ferro/fósforo teórica ideal presente no meio no qual o processo ocorre para seu máximo desempenho.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Realizar uma revisão bibliográfica dos trabalhos publicados em bases indexadas sobre a importância de ferro e fósforo para o processo anammox nos últimos dez anos (2005 -2015).

### **2.2 Específicos**

- Sugerir uma razão ótima teórica de ferro/fósforo para o processo anammox com base nos estudos já publicados;
- Fornecer base teórica para o desenvolvimento de futuros trabalhos na área de tratamentos biológicos de efluentes.

## **3. MÉTODOS**

### **3.1 Da revisão bibliográfica**

Para a realização desta revisão bibliográfica foram realizadas buscas nos indexadores Web Of Science e Scielo. O período adotado para revisão foi de janeiro de 2005 a maio de 2015. Estes indexadores foram escolhidos devido à sua abrangência mundial (Web Of Science) e regional (Scielo). Foram utilizadas 24 combinações de palavras-chave para pesquisa (Tabela 1). Estas combinações foram criadas usando o critério de sempre utilizar a palavra ‘anammox’ em combinação com uma, duas ou três palavras. Como os artigos relacionados ao tema proposto, em sua maioria, não são nacionais e se



encontram em inglês, convencionou-se que as combinações de palavras-chave também seriam em inglês.

Para a realização das pesquisas dos artigos foram utilizados dois parâmetros presentes nos indexadores: 1) tópico, onde eram inseridas as 24 combinações e 2) ano de publicação, onde o período de pesquisa foi estabelecido como parâmetro (2005-2015). Os artigos pesquisados foram então salvos e organizados utilizando a ferramenta de uso livre MyEndNote Web <[www.myendnoteweb.com](http://www.myendnoteweb.com)>. Após a organização de todos os artigos encontrados no MyEndNote Web, foi realizado uma primeira filtragem por meio da ferramenta de busca de artigos duplicados. Uma vez notificada a duplicação, os artigos duplicados foram desconsiderados.

Tabela 1: Combinações de palavras-chave adotadas para a busca do artigos científicos nos indexadores Web Of Science e Scielo.

---

**Combinações de palavras-chave**

---

Anammox  
Anammox, Anammoxosome  
Anammox, Applicability, P, Fe  
Anammox, Fe, Inhibition, Specific Anammox Activity  
Anammox, P, Inhibition, Specific Anammox Activity  
Anammox, Fe  
Anammox, Fe Effects  
Anammox, Fe Effects, P Effects  
Anammox, Fe, P  
Anammox, Iron  
Anammox, Iron, Phosphorus  
Anammox, Nitrogen Removal, P  
Anammox, Nitrogen Removal, Fe  
Anammox, P  
Anammox, P Effects  
Anammox, Phosphorus  
Anammox, Organic Matter, Fe  
Anammox, Organic Matter, P  
Anammox, Oxygen, Fe  
Anammox, Oxygen, P  
Anammox, Substrate, Fe  
Anammox, Substrate, P  
Anammox, Process  
Anammox, Bacteria

---

Uma segunda filtragem dos artigos do universo amostral sem duplicados foi realizada tomando-se como critério a menção do assunto ‘anammox’ no título e/ou no abstract. Para a realização desta filtragem, utilizou-se a ferramenta de busca do MyEndNote Web pesquisando por “anammox”. Os artigos os quais não apresentavam a sigla em seu título e/ou abstract foram filtrados manualmente para garantir que os artigos utilizando a palavra por extenso também seriam considerados.

A terceira filtragem foi feita por meio da leitura individualizada do abstract de cada um dos artigos que passaram pela segunda filtragem. Nessa filtragem foram selecionados os artigos que abordavam a importância dos compostos de ferro e/ou fósforo, relatando seus

impactos tanto para a bactéria (caimento ou incremento da sua atividade metabólica) quanto para o processo (eficiência de remoção de nitrogênio).

A quarta e última filtragem, se deu pela leitura e revisão dos artigos remanescentes. Nessa filtragem considerou-se os artigos que apresentavam dados quantitativos para a elaboração de uma tabela quantificando os resultados obtidos. Nesta filtragem relacionou-se o nome do autor (referência), as concentrações de ferro e/ou fósforo para enriquecimento da solução, qual o composto destes elementos utilizado e seus efeitos no processo e/ou na bactéria.

Através de uma análise crítica dos resultados obtidos e considerando a falta de padronização das pesquisas sobre o tema, convencionou-se a determinação de um intervalo ótimo de concentrações para  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  na solução, eliminando o maior e o menor resultado, considerando os maiores e menores subsequentes como limites ideais, afim de amenizar disparidades entre os autores.

Para as concentrações de P, foi obtido um único resultado, o qual se apresentava no intervalo ideal sugerido por Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013) e representava o limite para inibição através da análise dos resultados obtido por Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013), Oshiki *et al.*, (2011) e Dapena-Mora, Fernandez, *et al.*, (2007).

No final, foi estabelecido, com base no maior e menor valor ideal para ferro, intervalos de razões  $Fe^{2+}/P$  e  $Fe^{3+}/P$  ideal teórica para o processo.

### **3.2 Da aplicação da anammox**

Nesta seção foram pesquisados exemplos de artigos de estudos e de aplicações da anammox no Brasil e no mundo para justificar a importância deste e de outros trabalhos sobre o tema. Para isso, foram pesquisados nos dois indexadores Web of Science e Scielo, além da utilização da ferramenta do Google Acadêmico, com a palavra-chave “anammox” seguida de “aplicação” e “efluente”, quando pesquisados artigos publicados em português e “application” e “effluent” quando pesquisadas em artigos publicados em inglês.

Os artigos escolhidos para fundamentar este trabalho, quando publicados fora do Brasil, foram escolhidos arbitrariamente, de modo que tivesse a maior diversidade de aplicação em diferentes tipos de efluente. Já nos artigos publicados no Brasil, todos que estudavam a aplicabilidade da anammox, ou seu enriquecimento, publicados no indexador Scielo, foram escolhidos, independente de qual tipo de efluente seria tratado.

Para nenhum dos casos, os artigos foram escolhidos com base no ano de sua publicação, e sim aleatoriamente, respeitando somente o parâmetro dito anteriormente.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Da revisão bibliográfica**

Em cada indexador, os grupos de palavras-chaves (Tabela 1) foram utilizados, resultando assim em um universo com um total de 4397 artigos, sendo 4375 do indexador Web Of Science e 22 do Scielo. Deste universo amostral, foi realizada, por meio da ferramenta de busca de duplicados do MyEndNote Web, a primeira filtragem, na qual os artigos que se encontravam duplicados dentro do universo amostral total foram desconsiderados. O número de artigos encontrados por cada grupo de palavras-chaves utilizado em cada um dos indexadores antes e depois da remoção de duplicados, encontram-se na tabela 2.

Dentro do universo amostral de artigos após a filtragem de duplicados (1678 artigos), foi realizado um levantamento de publicações por ano por indexador, a fim de se observar a tendência ou não de pesquisas e consequente uso desta tecnologia de remoção biológica de amônio (figura 4). Na segunda filtragem, os artigos não relacionados ao tema 'anammox' presentes nos grupos de palavras-chave restantes após a remoção de duplicados, ou que não apresentavam anammox como tema central de pesquisa foram também desconsiderados.

Após estabelecido os artigos que abordavam o tema de forma efetiva, a terceira filtragem foi realizada. Do total de 1276 artigos filtrados dos dois indexadores, apenas 32 artigos passaram a ser revisados, sendo estes em sua totalidade do indexador Web Of

Science, onde 18 abordavam o enriquecimento da solução com íon ferro (em sua maioria na forma de Fe(II) e Fe(III)), 8 abordavam fósforo na forma de fosfato e 6 abordavam revisões bibliográficas relevantes do tema.

Tabela 2: Número de artigos encontrados por combinação de palavras-chave e por indexador antes e a após remoção de artigos duplicados.

Combinações de palavras-chave	Número de artigos encontrados		Número de artigos após remoção de duplicados	
	Web of Science	Scielo	Web of Science	Scielo
Anammox	1659	11	1657	11
Anammox, Anammoxosome	37	0	0	0
Anammox, Applicability, P, Fe	0	0	0	0
Anammox, Fe, Inhibition, Specific Anammox Activity	1	0	0	0
Anammox, P, Inhibition, Specific Anammox Activity	0	0	0	0
Anammox, Fe	30	0	0	0
Anammox, Fe Effects	8	0	0	0
Anammox, Fe Effects, P Effects	0	0	0	0
Anammox, Fe, P	2	0	0	0
Anammox, Iron	59	0	0	0
Anammox, Iron, Phosphorus	8	0	0	0
Anammox, Nitrogen Removal, P	29	0	0	0
Anammox, Nitrogen Removal, Fe	13	0	0	0
Anammox, P	64	0	0	0
Anammox, P Effects	10	0	0	0
Anammox, Phosphorus	75	0	0	0
Anammox, Organic Matter, Fe	7	0	0	0
Anammox, Organic Matter, P	20	0	0	0
Anammox, Oxygen, Fe	13	0	0	0
Anammox, Oxygen, P	21	0	0	0
Anammox, Substrate, Fe	3	0	0	0
Anammox, Substrate, P	5	0	0	0
Anammox, Process	1066	5	1	5
Anammox, Bacteria	1245	6	0	4
<b>Total de artigos encontrados</b>	<b>4375</b>	<b>22</b>	<b>1658</b>	<b>20</b>

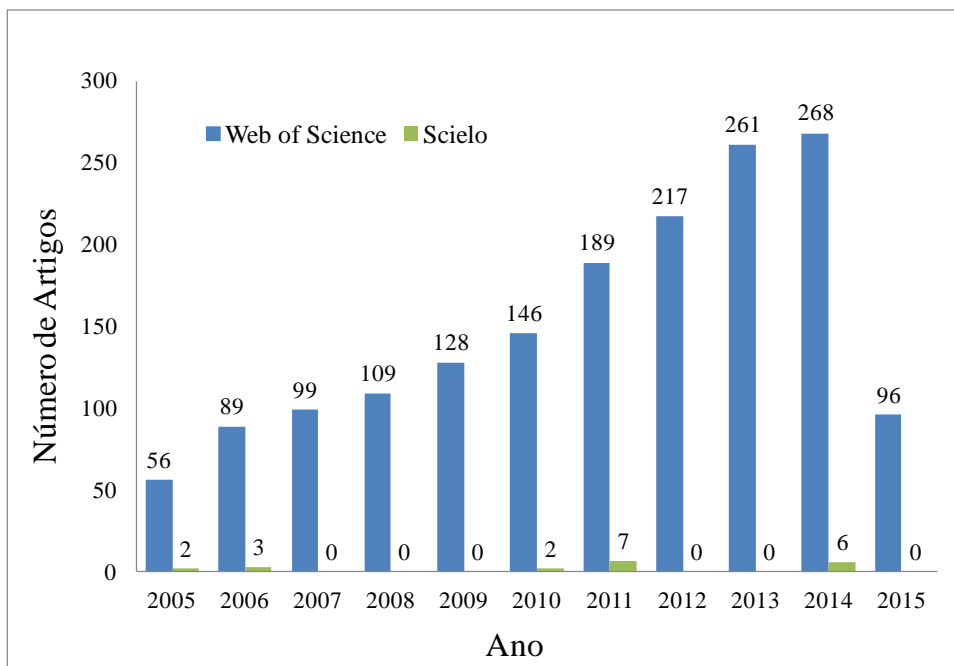


Figura 4: Total de artigos publicados por indexador por ano.

Por fim, a quarta e última filtragem, selecionou os artigos após revisão que apresentavam dados quantitativos de adição de compostos de ferro e fósforo na solução, relacionando-os com seus efeitos para a bactéria e/ou processo anammox. Os resultados das quatro filtrações são mostrados na tabela 3. Dentre os artigos considerados para a elaboração da tabela comparativa final (após a 4ª filtragem), com exceção de (Liu e Horn, 2012) que obtiveram severa inibição da bactéria com pequenas concentrações de  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  de 1,5 mgFe/L e 0,5 mgFe/L respectivamente, todos os outros autores obtiveram resultados significativamente positivos quanto a eficiência de remoção de nitrogênio pela bactéria através do enriquecimento da solução por íons ferro.

Tabela 3: Resultado das quatro filtrações realizadas para obtenção do universo amostral considerado.

Termos	Número de artigos após remoção de duplicados (1ª filtração)		Número de artigos após pesquisa por tema (2ª filtração)		Número de artigos após leitura de abstract (3ª filtração)		Número de artigos considerados após revisão (4ª filtração)	
	Web of Science	Scielo	Web of Science	Scielo	Web of Science	Scielo	Web of Science	Scielo
	Anammox	1657	11	1255	11			
Anammox, Process	1	5	1	5				
Anammox, Bacteria	0	4	0	4				
Adição de ferro					17	0	11	0
Adição de fósforo					8	0	3	0
Outros					7	0	1	0
<b>Total de artigos encontrados</b>	<b>1658</b>	<b>20</b>	<b>1256</b>	<b>20</b>	<b>32</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>0</b>

Tao e Gao, (2012) obtiveram um incremento de 12% na atividade específica da anammox em relação ao controle, com a adição de 2,23 mgFe<sup>3+</sup>/L, quando utilizada a biomassa na forma floculenta, formando biofilmes, em testes de batelada. Utilizando duas configurações de reatores, uma com um eletrodo constituído por uma placa de grafite e outra de ferro (R1) imersos na solução e uma segunda constituída de duas placas de grafite (R2), e aplicando-se uma voltagem entre elas, Zhang *et al.*, (2012) obtiveram uma remoção do nitrogênio total em R1, cerca de 24,3% maior do que em R2, além de um período de *start up* (considerado, nesse caso, o tempo necessário para se atingir a mesma taxa de adição de nitrogênio) 24% menor na primeira configuração do que na segunda. As concentrações de ferro foram medidas a partir da oxidação do ferro zero-valente liberado pelo anodo de ferro imerso na solução, em forma de Fe<sup>2+</sup>. Huang *et al.*, (2014) também relataram uma concentração ótima de Fe<sup>2+</sup> na faixa condizente com os outros autores. A uma concentração de 4,47 mgFe<sup>2+</sup>/L um aumento de 95% na eficiência de remoção de amônio e de 85% na eficiência de remoção do nitrogênio total foram obtidos. Waki *et al.*, (2013) obtiveram, para um curto período de aplicação, um aumento na faixa de 69 a 82% na atividade da anammox quando adicionado 2,23 mg Fe zero-valente/L na forma de pó, até que este deteriorou a biomassa.

Assim como Waki *et al.*, (2013), (Tao e Gao, 2012; Gao *et al.*, 2014) enriqueceram a solução com pó de ferro, porém neste caso, foram medidas as concentrações dos íons Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup> oxidados, obtendo assim a menor concentração ótima para estes íons dentre os



artigos revisados, de 0,6 mgFe/L e 1,9 mgFe/L respectivamente. Esta combinação de valores resultou em um aumento de 25,1% na atividade específica da bactéria em relação ao grupo controle. Já as maiores concentrações ótimas obtidas para a adição dos íons ferro, foi para Fe<sup>3+</sup> por Chen *et al.*, (2014), a uma concentração de 3,68 mgFe/L e para Fe<sup>2+</sup> por Qiao *et al.*, (2013), Bi *et al.*, (2014) e Liu e Ni, (2015) a uma concentração de 5,03 mgFe/L.

Para a adição de fósforo na forma de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, apenas Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013) relataram efeitos positivos para a anammox. Além de um intervalo de inibição entre 1842,45 e 2963,11 mgP/L, estes também encontraram um intervalo de concentrações que incrementaram sua atividade em 60%, estabelecido entre 474,86 e 4748,57 mgP/L. O menor valor de inibição foi encontrado por Dapena-Mora, Fernandez, *et al.*, (2007), sendo este superior a 1424,57 mgP/L. Oshiki *et al.*, (2011) também relata uma inibição da bactéria para valores superiores a 1899,43 mgP/L. Van Hulle *et al.*, (2006) especula valores de possível inibição por fósforo em seu estudo, porém como este não obteve uma operação estável do reator anammox, o mesmo não foi considerado para a elaboração da tabela comparativa.

Além dos artigos que correlacionavam a adição destes elementos com a eficiência do processo ou a atividade metabólica da bactéria, Van Niftrik, L. *et al.*, (2008) também foi considerado para a elaboração da tabela final, uma vez que, dentre os artigos revisados, este é de crucial importância para a fundamentação deste trabalho, quando relata a presença de ferro e fósforo dentro da organela anammoxosome e estabelece uma razão ótima entre estes no interior da bactéria de 0,83.

Neste estudo foi elaborado um possível intervalo de razões ótimas Fe/P para enriquecimento da solução, eliminando-se o maior e o menor valor encontrado para os íons Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup>, sendo estes 0,6 mgFe<sup>2+</sup>/L e 5,03 mgFe<sup>2+</sup>/L e 0,5 mgFe<sup>3+</sup>/L e 3,68 mgFe<sup>3+</sup>/L respectivamente, afim de reduzir grandes disparidades nos valores encontrados. Quando o enriquecimento da solução se deu a partir da adição de ferro zero-valente, correlacionando-o diretamente com impactos sobre a bactéria e/ou processo, este não foi considerado para a elaboração da razão ideal teórica devido à sua alta reatividade. A concentração de fósforo ótima na solução foi estabelecida em 1424,57 mgP/L, sendo este o menor valor para inibição, encontrado por Dapena-Mora, Fernandez, *et al.*, (2007), e respeitando o intervalo

de incremento na atividade bacteriana encontrada por Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013). Sendo assim, estabeleceu-se para o íon  $\text{Fe}^{2+}$ , o possível intervalo ótimo da razão Fe/P na solução para o processo entre 0,00323 - 0,01055 e para o íon  $\text{Fe}^{3+}$  entre 0,00409 0,0048. Todos os resultados obtidos estão explicitados na tabela 4.

Tabela 4: Tabela comparativa final dos resultados obtidos após revisão dos artigos da 4ª filtragem. Legenda: SAA: Atividade específica de anammox; TRN: Taxa de remoção de nitrogênio; ERA: Eficiência de remoção de amônio; ERN: Eficiência de remoção de nitrogênio.

Referência	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/l)	Fe <sup>3+</sup> (mg/l)	Fe <sup>2+</sup> (mg/l)	FeZV (mg/l)	Efeitos (%)	Fe <sup>2+</sup> /P	Fe <sup>3+</sup> /P
Dapena-Mora et al., 2007	< 1424,571				Não há inibição da AMX		
Van Niftrik et al., 2008						0,83**	0,83**
Oshiki et al., 2011	< 1899,43				Não há inibição da AMX		
Liu e Horn, 2012		<0,5	<1,5		Severa inibição da AMX		
Tao e Gao, 2012		2,23			12 SAA		
Zhang et al., 2012			4,9*	Não especificado	24,3 TRN / 24 PSU		
Qiao et al., 2013			5,03		63,1 ERN		
Waki et al., 2013				2,23	88,2 SAA		
Carvajal-Arroyo et al., 2013	1842,45 - 2963,11 474,86 - 4748,57				-50 AA 60 AA		
Bi et al., 2014			5,03		77,2 TRN		
Chen et al., 2014		3,68			533,2 SAA / 20 TRN		
Gao et al., 2014		1,9 */1,9	0,6 * / 0,75	Não especificado	25,1 SAA / 19,9 SAA		
Huang et al., 2014			4,47		95,2 RA / 85,35 ERN		
Liu e Ni, 2015			5,03		45 SAA		
Ren et al., 2015				5263,15	33,3 PSU		
Este estudo	1424,57	1,9 - 2,23	1,5 - 4,9			0,003 - 0,011	0,004 - 0,005

\* Concentrações obtidas a partir da oxidação de ferro zero-valente.

\*\* Valores encontrados por (Van Niftrik, L. *et al.*, 2008) dentro da membrana anammoxosome

## 4.2 Da aplicação da anammox

São vários os exemplos de uso bem-sucedido desta tecnologia no mundo, como alguns exemplos podemos citar: (Van Dongen, Jetten e Van Loosdrecht, 2001), (Van Loosdrecht *et al.*, 2004), (Qiao *et al.*, 2008), (Furukawa *et al.*, 2009), (Joss *et al.*, 2009) (Tang *et al.*, 2011), (Kartal, Kuenen e Van Loosdrecht, 2010), (De Lille *et al.*, 2015), (Ma *et al.*, 2015), (Malovanyy, Trela e Plaza, 2015), (Zhang *et al.*, 2015), (Strous *et al.*, 1997), os quais obtiveram resultados significativamente positivos quando utilizada a anammox para o tratamento de efluentes domésticos em diversas etapas do processo, com remoção mínima do amônio do efluente testado por volta de 80%.

Apesar da grande maioria dos estudos publicados focarem no uso desta bactéria para o tratamento de efluente doméstico, seu uso é abundante em diversos setores. Chen *et al.*, (2015) obteve sucesso ao utilizar anammox para o tratamento de um efluente com alta salinidade de uma indústria de mostarda em conserva com eficiência de remoção do nitrogênio total média de 86,2%. Tang *et al.*, (2011) foram capazes de tratar efluente de indústria farmacêutica com altas concentrações de nitrogênio, através da associação de um reator anammox com um reator SBA – do inglês “*Sequential biocatalyst reactor*”. Liang e Liu, (2008) trataram o efluente de lixiviado de aterro em uma combinação de um reator anammox, com um reator de nitrificação parcial e dois sistemas de infiltração no solo, obtendo, somente no reator anammox, uma eficiência de remoção de 60% de  $\text{NH}_4$  e 64% de  $\text{NO}_2$ . Waki *et al.*, (2007) por fim, mostrou a viabilidade do uso da anammox para o tratamento de efluente de suinocultura após três métodos diferentes para remoção biológica de odor, por UASB, lodo ativado e por bio-filtro.

Além da utilização da anammox para o tratamento de efluentes, diversas pesquisas no ramo de enriquecimento de cultura da bactéria, como feito por Gut *et al.*, (2006), o qual obteve uma eficiência média de remoção de nitrogênio de 84% com pico de 97%; no ramo de estudos sobre os efeitos em efluentes sintéticos como feito por Winkler, Kleerebezem e Van Loosdrecht, (2012); e no ramo do aprimoramento das configurações de reatores para a obtenção da melhor performance da anammox realizado por Du *et al.*, (2015) estão sendo desenvolvidos ao redor do mundo.

No Brasil, por sua vez, os estudos sobre esta bactéria continuam escassos, porém vem demonstrando uma modesta tendência para os próximos anos. Kunz *et al.*, (2008) utilizou com sucesso esta bactéria para o tratamento de efluente da suinocultura. Reginatto *et al.*, (2005) obteve uma alta remoção de nitrogênio para o efluente de abatedouros. Já De Araujo *et al.*, (2010) e Caroline G *et al.*, (2011) obtiveram sucesso no enriquecimento de culturas provenientes de lodo de uma estação de tratamento de efluentes domésticos e outra de efluentes de suinocultura, respectivamente.

Outra grande linha de pesquisa no Brasil, se trata do enriquecimento e otimização de culturas de anammox. De Araujo *et al.*, (2010) obtiveram sucesso no enriquecimento de bactérias anammox em um reator em batelada sequencial com a utilização de lodo proveniente do sistema de tratamento de efluentes domésticos de Belo Horizonte, Minas Gerais. Em seu trabalho, De Araújo *et al.*, (2010) atingiram o desenvolvimento de bactérias anammox a partir do lodo inoculado, no 87º dia de operação, o qual, em sua fase estável, atingiu eficiência de remoção de amônio também próximo a 95% . A presença de bactérias anammox foi confirmada pelo consumo estequiométrico de amônio e nitrito próximo ao apresentado na literatura, pela utilização da técnica da reação em cadeia da polimerase e por hibridação *in situ* fluorescente – FISH, do inglês *fluorescent in situ hybridization*.

Procurando ratificar a tendência não só das pesquisas sobre o tema, mas também da tendência do uso desta bactéria para o tratamento de efluentes reais, foram elaboradas as linhas do tempo mostrando a relação dos estudos sobre o uso desta bactéria no mundo e esta mesma relação no Brasil.

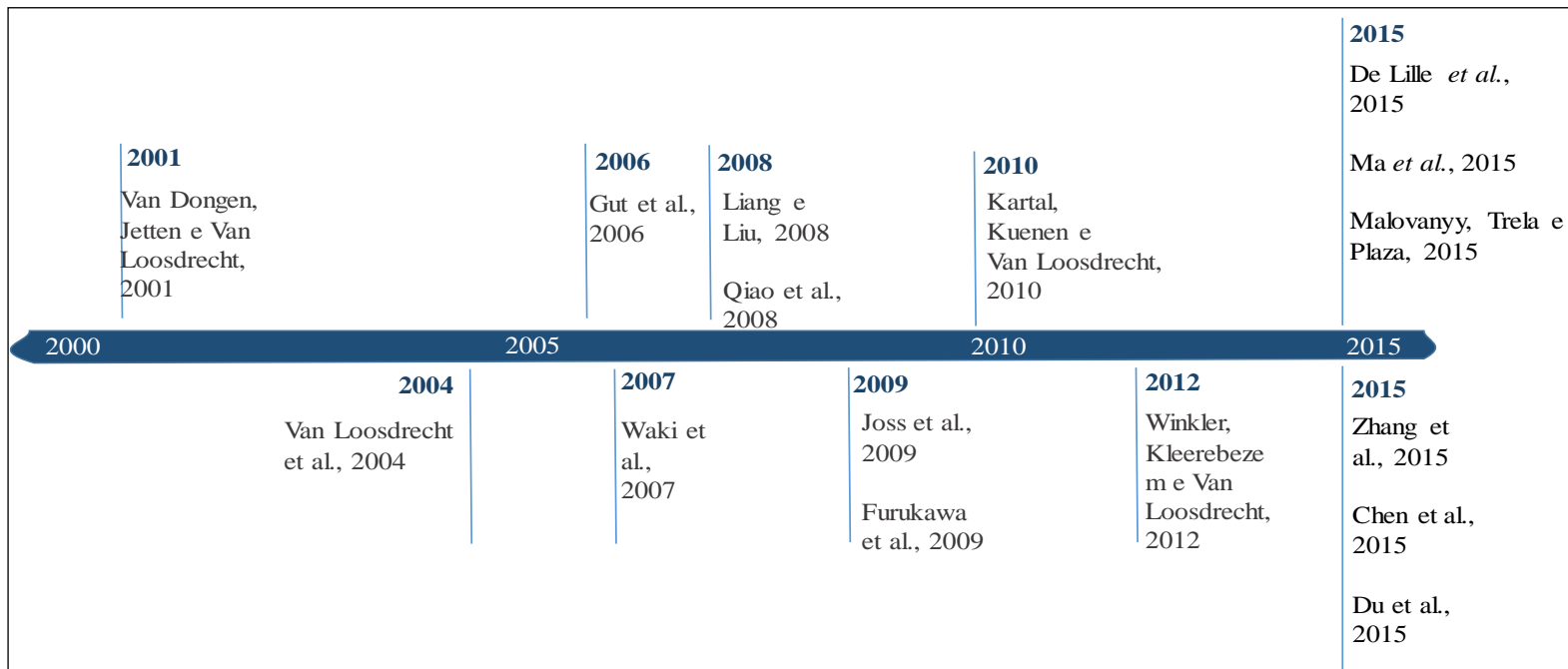


Figura 5: Linha do tempo da aplicação da anammox no mundo

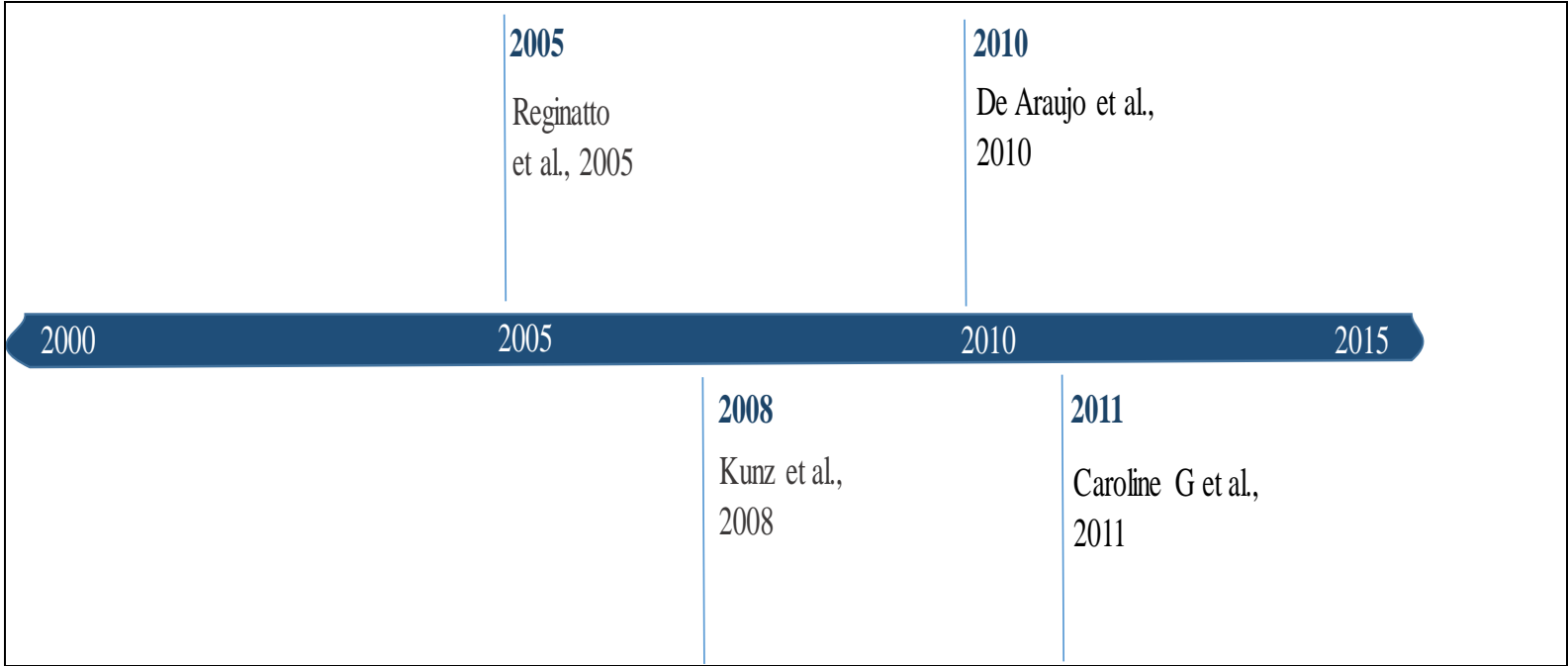


Figura 6: Linha do tempo da aplicação da anammox no Brasil

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Número de artigos encontrados

A utilização dos indexadores Web Of Science e Scielo, teve como objetivo abranger globalmente as publicações sobre bactéria a anammox e o seu uso na remoção de nitrogênio de efluentes. O primeiro, abrange em sua maioria artigos do continente Europeu, Asiático e a região norte do continente americano (EUA e Canadá), enquanto o segundo abrange grande parte da América Latina (América Central e América do Sul), além de países como África do Sul, Portugal e Espanha.

Apesar da ampla região de pesquisa, observa-se que dentre os 1678 artigos encontrados depois da remoção de duplicados, somente 20 foram encontrados pelo indexador Scielo, apontando uma limitação deste indexador em relação às pesquisas por parte do hemisfério sul em relação ao hemisfério norte, onde foram publicados os artigos restantes. Esse pequeno número de artigos, pode ser reflexo da falta de incentivos à pesquisa nesses países como também da falta de intercâmbio de cientistas entre países mais avançados na área de tratamento de efluentes. Outro fator que pode ter sido crucial nessa discrepância de números de artigos encontrados entre os dois indexadores, foi o local de descoberta desta bactéria em específico (Holanda), gerando assim, primeiramente, grande interesse pelas companhias europeias, asiáticas e as norte-americanas.

Após a remoção dos duplicados, o universo amostral caiu para menos do que a metade do montante encontrado originalmente, permanecendo em sua maioria, os artigos encontrados somente com a utilização da palavra ‘anammox’ separadamente. Este fato explicita que: i) o mecanismo de busca dos artigos foi em sua grande parte eficaz para encontra-los quando pesquisado somente a palavra ‘anammox’, ii) o mecanismo de busca foi capaz de realizar pesquisas de artigos que correlacionam as palavras separadas por vírgula, uma vez que, em sua grande maioria, os artigos encontrados pelas combinações de duas ou mais palavra-chaves formavam um sub-grupo dos artigos encontrados quando pesquisados somente por ‘anammox’. Estes dois fatos garantem a este estudo grande confiabilidade quanto a sua metodologia de busca. Por outro lado, alguns artigos



pesquisados pelas combinações ‘Anammox, Process’ e ‘Anammox, Bacteria’ não foram encontrados na pesquisa por ‘Anammox’, indicando uma falha na pesquisa ou por não reconhecer o tema ou pela pesquisa das palavras ‘Process’ e ‘Bacteria’ separadamente. Outra falha apresentada por este tipo de busca foi evidenciada após a realização da segunda filtragem, onde cerca de 400 artigos que não abordavam o tema ‘anammox’ como tema central da pesquisa foram encontrados, mesmo quando esta foi palavra foi utilizada para a busca.

O pequeno número de artigos revisados que pesquisavam a resposta da bactéria e/ou do processo quanto ao enriquecimento da solução com ferro e fósforo, mostram uma pequena tendência de estudo relacionado a este tema, enquanto diversos autores confirmaram sua fundamental importância para a eficiência deste microrganismo. Outra vez o indexador Web Of Science se sobressaiu ao indexador Scielo no número de artigos encontrados, refletindo a carência de publicações de estudos sobre o tema neste indexador.

Ainda menor foi o número de artigos considerados para a elaboração da tabela final, na qual correlacionava adições de ferro e/ou fósforo a solução com a resposta da bactéria. Este pequeno volume de artigos mostra a necessidade de mais pesquisas na área, com o objetivo de otimizar o processo para o efetivo uso no tratamento de efluentes industriais e domésticos.

## **5.2 Anammox no Brasil e no Mundo e sua aplicabilidade**

O levantamento de artigos publicados nos dois indexadores por ano, realizado após a remoção de duplicados, apesar de considerar os pouco mais de 400 artigos não relacionados ao tema ou que o abordavam de forma secundária, mostra uma tendência muito forte de pesquisa sobre anammox desde 2005 até o início de 2015 no mundo. O indexador Web Of Science mostra uma progressão de publicações de forma clara, enquanto o Scielo apresenta variações de publicações relevantes durante os anos.

As figuras 5 e 6 ratificam este fato. Enquanto nos artigos publicados fora do Brasil, o aumento do uso desta bactéria para o tratamento de diversos tipos de efluentes se mostra evidente com o passar dos anos, a utilização desta no âmbito nacional ainda é rara, e carece de maior atenção. Como era esperado, a tendência de pesquisas sobre o tema é mais forte

em regiões do hemisfério Norte, enquanto no hemisfério Sul, esta tecnologia ainda é pouco difundida.

Dos artigos encontrados publicados fora do Brasil, dois foram analisados para fundamentar a importância deste trabalho e evidenciar a aplicabilidade desta bactéria e diversos ramos. Tang *et al.*, (2011) relataram uma eficiência de remoção de 85% de amônio para um curto período de exposição da bactéria ao efluente farmacêutico (10 dias). Entretanto, a eficiência de remoção gradualmente decresceu com o tempo de exposição da bactéria. De acordo com autor, isso se deve ao fato da toxicidade pelos compostos presentes no efluente ser acumulativo. Por outro lado, quando houve a adição contínua de biomassa, a bactéria foi capaz de operar estável e superar a toxicidade entre os dias 40 a 170 (final do experimento), obtendo assim eficiência de remoção para amônio e nitrito de  $77.8\% \pm 8.0\%$  e  $84.3\% \pm 7.3\%$  respectivamente, com uma taxa de remoção de  $40\text{-}50 \text{ kgNm}^{-3} \text{ day}^{-1}$ .

Strous *et al.*, (1997) estudaram o comportamento da anammox no tratamento de efluente de um reator digestor de lodo da estação de tratamento de efluentes domésticos de Dokhaven, Rotterdam, Holanda. Neste estudo, em um reator de leito fluidizado, após o período de adaptação da biomassa (100 dias neste caso), o autor foi capaz de atingir uma alta porcentagem de remoção de nitrito (acima de 99%) e de amônio (cerca de 95%), atingindo uma taxa de remoção de máxima nitrogênio na forma amoniacal de  $1,2 \text{ Kg NH}_4^+ \text{ N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ .

Assim como foi feito anteriormente, alguns dos exemplos de publicações no Brasil citados previamente foram discutidos em particular. Kunz *et al.*, (2008) da Universidade Federal de Santa Catarina juntamente com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, utilizou com sucesso esta bactéria na remoção de nitrogênio de efluentes de suinocultura.

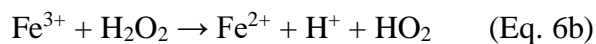
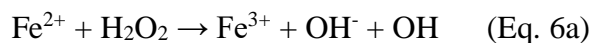
Kunz *et al.*, (2008) utilizaram uma configuração com dois reatores em sequência. No primeiro, uma nitrificação parcial foi estabelecida, onde aproximadamente 50% da amônia no efluente seria transformada em nitrito e no segundo reator, o restante da amônia juntamente com o nitrito produzido seria transformado em gás nitrogênio com a utilização de uma bactéria anammox. Neste estudo, o reator teve um período de start-up de 75 dias, e até a data da publicação do artigo, este funcionava estável por aproximadamente um ano.

Altas taxas de remoção de nitrogênio por volta de 1500 mgN L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> foram obtidas com essa configuração.

Reginatto *et al.*, (2005) , também da Universidade Federal de Santa Catarina, em parceria com pesquisadores da Universidad de la Republica, Uruguai, obteve sucesso com o uso desta tecnologia na remoção de nitrogênio de efluentes de abatedouros. Assim como o caso anterior, este utilizou-se da configuração de dois reatores em sequência, sendo o primeiro para estabilização do efluente com o uso de bactérias oxidantes de amônia (AOB) e o segundo para a remoção quase completa de nitrogênio com o uso de anammox. Reginatto *et al.*, (2005) obtiveram uma eficiência de remoção de nitrogênio de 95%, quando utilizada anammox. Apesar da alta eficiência, os autores não obtiveram uma remoção estável por um longo período. Ainda de acordo com estes, a inibição ocorreu por uma alta carga de nitrogênio, a qual posteriormente foi parcialmente reversível através da aclimatização da bactéria.

### 5.3 O papel do ferro para anammox

Nesta revisão, a adição de íons ferro se mostrou em sua maioria benéfica ao processo, como era esperado. Com exceção de Liu e Horn, (2012) os quais encontraram concentrações muito pequenas para a inibição por ferro (II) e ferro (III), em geral, os resultados obtidos pelos outros autores convergiram. Supõe-se que essa inibição pode ter ocorrido devido a produção de radicais livres de hidroxila através das equações 6a e 6b (Liu e Horn, 2012; Gao *et al.*, 2014).



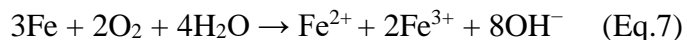
Ainda de acordo com os autores, sob altas concentrações dos íons Fe(II) e Fe(III), grandes quantidades de substâncias extracelulares teriam sido liberadas, as quais se mostraram posteriormente, através de análises dispersivas de raio-x, sítios preferenciais de adsorção de ferro, ao invés das células bacterianas. Outros autores também relataram a inibição por ferro, porém as concentrações foram muito acima às encontradas por Liu e Horn. Essa diferença pode-se explicar devido a não uniformidade nas pesquisas, sendo

desenvolvidas com diferentes espécies de anammox, em diferentes formas da biomassa e configurações de reatores. É importante ressaltar também, que as concentrações em geral dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  para inibição da bactéria são muito menores que as dos íons  $\text{Fe}^{2+}$ . Salvo a exceção, os autores encontraram uma faixa média de incremento da atividade bacteriana pela adição de ferro. Tao e Gao, (2012), sugere que o incremento na atividade da anammox, reflete o fato de íons ferros serem nutrientes limitantes do crescimento da bactéria, comprovado pela existência de ferritina em suas células, responsáveis pelo armazenamento ferro.

Outra importância fundamental do ferro para a bactéria, é a síntese das proteínas do citocromo c, contendo os grupos heme c, e conseqüentemente aumento da atividade das enzimas responsáveis pela transformação do amônio em gás nitrogênio. Este papel dos íons ferro é defendido por diversos autores (Zhang *et al.*, 2012; Qiao *et al.*, 2013; Bi *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2014; Liu e Ni, 2015). O aumento das concentrações dos grupos heme c presentes nas bactérias no meio de maior eficiência de remoção de nitrogênio (ótima concentração de ferro) foi comprovada por (Zhang *et al.*, 2012; Qiao *et al.*, 2013; Bi *et al.*, 2014). Ainda (Qiao *et al.*, 2013; Bi *et al.*, 2014) atribuíram a maior eficiência de remoção de nitrogênio ao aumento específico da atividade da enzima Hydrazine dehydrogenase (HDH), sendo esta 73,2% e 42% mais ativa nos reatores com maior eficiência em relação ao reator controle após o período de start up, respectivamente. Outra importância fundamental do íon  $\text{Fe}^{2+}$  é que este reduz a lavagem da biomassa para fora do reator (Zhang *et al.*, 2012). Huang *et al.*, (2014) descreve ainda outro papel importante dos íons  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  no processo anammox. De acordo com este, o íon  $\text{Fe}^{2+}$  serviria de doador de elétrons para a redução do nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) para nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), o qual poderia ser usado pela bactéria aumentando sua eficiência de remoção de nitrogênio total. Além disso,  $\text{Fe}^{3+}$  seria produzido nesta reação, sendo utilizado posteriormente para a oxidação do amônio sob condições anaeróbicas.

O enriquecimento da solução com ferro zero-valente e seu efeito sobre a anammox também foi discutido por alguns autores. Os resultados obtidos convergiram entre si, demonstrando a adição desse elemento ser benéfico em curto prazo, com o aumento do diâmetro da biomassa, consumo do oxigênio dissolvido residual, diminuição no período de *start up*, e produção dos íons ferro pela sua oxidação (Eq. 7) (Zhang *et al.*, 2012; Gao *et al.*,

2014; Ren *et al.*, 2015), e prejudicial a longo prazo com a precipitação de compostos férricos insolúveis nos grânulos, deteriorando-os (Xiong *et al.*, 2013).



#### 5.4 O papel do fósforo para anammox

Ao contrário da atuação do ferro para o processo, a maioria dos artigos convergiram no resultado obtido quanto a inibição da anammox para o fósforo, com exceção de Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013), que encontraram uma ampla faixa de concentrações na qual houve um incremento de 60% na atividade da bactéria, conforme visto na tabela 4. De acordo com os autores, a inibição da bactéria por fosforo é altamente dependente do nível de agregação da biomassa, já que em seu estudo, a atividade bacteriana foi favorecida quando se tratava de biomassa na forma granular e desfavorecida quando em forma floculenta (suspensa).

Quanto à inibição por este elemento, Dapena-Mora, Fernandez, *et al.*, (2007), utilizando biomassa suspensa, obteve o menor limite para inibição dentre os autores estudados, contudo, estes não consideram a presença de fósforo nos efluente um problema significativo para o uso da bactéria, uma vez que a concentração por eles encontrada, ainda está acima das concentrações usuais em efluentes industriais.

Oshiki *et al.*, (2011) utilizando a biomassa em forma agregada de biofilmes, encontrou um limite de inibição maior do que os encontrados por Dapena-Mora, Fernandez, *et al.*, (2007), indo ao encontro dos resultados obtidos por Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013), quando este atribui a forma da biomassa à sua tolerância a este elemento. Apesar da utilização de biofilme, os valores encontrados por Oshiki *et al.*, (2011), estão de acordo com os limites de inibição encontrados por Carvajal-Arroyo *et al.*, (2013), quando este utilizou-se de biomassa suspensa. Essa proximidade de valores, pode ser mais uma vez explicada pela forma em que a biomassa se encontra em cada estudo, sendo que quanto maior o nível de agregação da bactéria, mais tolerante esta será a concentrações de fósforo. A baixa quantidade de estudos na área torna difícil a conclusão exata da forma como o

fósforo atua no processo, sendo assim altamente recomendável mais estudos nesta área, uma vez que este pode ser, assim como o ferro, um elemento fundamental para o processo.

### **5.5 Intervalo ótimo de razão Fe/P encontrado**

Pesquisas como as realizadas por Van Niftrik, Laura *et al.*, (2008), vem sendo desenvolvidas aos longos dos anos, e apontam os íons ferro e o fósforo como elementos essenciais para as funções biológicas das bactérias anammox. Com base nas observações realizadas por estes estudos, teve-se como objetivo principal reunir pesquisas dos últimos dez anos sobre a importância destes elementos para o processo, afim de realizar um comparativo entre os resultados encontrados, sugerindo assim uma razão ótima entre estes para a otimização do uso desta bactéria para o tratamento de efluentes. Para isto, seria necessária a uniformização das informações coletadas para se chegar a um resultado concreto, porém a maior dificuldade encontrada foi a falta de padronização dos estudos realizados quanto a utilização de uma espécie específica de anammox, de um arranjo de reatores padrão, da maneira de como introduzir os compostos ao meio, e até mesmo das unidades de medidas tanto para a resposta do processo quanto para a concentração dos elementos no meio otimizado.

É conhecido que o desenvolvimento da ciência depende da variação de estudos e de métodos para a produção de conhecimento, contudo, para a utilização prática das tecnologias é necessária uma maior padronização dos métodos utilizados com o objetivo de se atingir a ótima performance. Estes estudos seriam de grande interesse para a iniciativa privada que as usam, sendo assim altamente recomendável e lucrativo a busca por parcerias pública-privada com ampla troca de informações e conhecimento com limitações contratuais firmados por ambas as partes, como em diversos países já ocorre.

Uma vez a inexistência de padronização das pesquisas, não foi possível se atingir uma razão Fe/P concreta e objetiva, mas sim um intervalo de razões recomendáveis para cada íon. Como já apresentado anteriormente, o maior e o menor valor de ferro e fósforo foram eliminados, o que, por um lado representou uma segurança operacional à inibição, por outro pode ter mascarado as razões ótimas, quando o maior valor do íon  $Fe^{2+}$  se repetiu por diversos autores como sua concentração ideal.

Outra limitação encontrada para se chegar a esta razão, foi a pequena quantidade de artigos publicados, quando comparados com o total de artigos sobre anammox, que relacionavam as concentrações dos compostos à resposta positiva ou negativa do processo, principalmente para a adição de fósforo. Também vale salientar, que por não existir trabalhos que enriqueçam a solução simultaneamente com ferro e fósforo, o intervalo de razões ótimas foi estabelecido com base em resultados de experimentos diferentes, não levando em consideração as interações entre eles.

Como sugerido pelos resultados encontrados, existe uma forte tendência de pesquisa sobre o tema abordado, principalmente no hemisfério norte, sendo assim, espera-se que nos próximos anos com a maior necessidade pela otimização desta forma de remoção de nitrogênio amoniacal de efluentes e com o maior envolvimento de empresas interessadas, tenha-se uma maior padronização dos estudos realizados assim como um maior número de artigos para subsidiar informações mais precisas para a elaboração de uma razão prática ideal de Fe/P para o processo.

## **6. CONCLUSÕES**

A sistematização e os indexadores escolhidos fizeram com que este estudo apresentasse alta acurácia e abrangência para reunir, no período adotado, os artigos que enriqueceram a solução tratada com ferro ou fósforo e correlacionaram este enriquecimento com o incremento ou declínio da atividade bacteriana e consequente remoção de nitrogênio do meio.

Foi possível observar, que a esmagadora maioria dos artigos foram publicados em países do hemisfério norte, e o baixo número de artigos publicados no hemisfério sul, assim como uma clara tendência de estudo sobre o tema abordado nestes países. No Brasil, apesar de recente, os estudos sobre anammox vem ganhando força nos principais centros acadêmicos do país. Evidentemente, não só os estudos sobre esta bactéria ocorrem em sua maioria nos países do Norte, mas também são nestes que este processo é mais aplicado ao tratamento de efluentes tanto industriais como domésticos. As altas porcentagens de remoção de nitrogênio amoniacal nesses países em diferentes tipos de efluentes mostra a

viabilidade e a versatilidade deste processo, reforçando a importância deste e de outros estudos para sua otimização.

O ferro foi provado como um elemento fundamental para processo em todas as suas formas, sendo a mais recomendável o íon  $\text{Fe}^{2+}$  devido aos seus maiores limites de inibição e melhor resposta da bactéria. Sua forma de atuação é unânime entre os autores, com o aumento de grupos heme c e conseqüente aumento das atividades enzimáticas. O ferro zero-valente também se mostrou eficaz para a redução no período de start up, porém prejudicial quando utilizando a médio e longo prazo.

Poucos foram os artigos encontrados sobre os impactos do fósforo para o processo, apesar de ser citado na literatura como outro componente fundamental para a bactéria. Sugere-se que o nível de agregação da biomassa esteja altamente relacionado com a reposta a esse elemento. É notável a necessidade de maiores estudos correlacionando o enriquecimento de soluções por este composto e a resposta do processo, para se obter os valores ideais de concentração assim como entender a atuação deste sobre a bactéria.

É notável também, a necessidade de padronização nas pesquisas, afim de se obter a real otimização do processo para o tratamento de efluentes. Estas pesquisas podem ser incentivadas pelo por público, mas também pela iniciativa privada, através de convênios entre as duas partes, trazendo resultados lucrativos para ambas.

Não foi possível a elaboração de uma razão Fe/P precisa devido à falta de informação e de padronização nos artigos revisados, porém, foi possível através de uma análise crítica dos resultados, a obtenção de intervalos de razões consideradas ótimas para cada íon de ferro a serem estudadas particularmente para cada aplicação da anammox. A metodologia utilizada para a obtenção destes intervalos, pode ter apresentado uma margem de segurança quanto a inibição da bactéria por estes compostos, mas é possível que se tenha mascarado a real razão ótima, sendo assim necessário pesquisas práticas das faixas sugeridas por este estudo.



## 7. BIBLIOGRAFIA

- TANG, C. J. et al. **Effect of substrate concentration on stability of Anammox biofilm reactors**. J. Central South Univ. Technol. 17 (1) (2010) 79–84.
- Bernhard, A. (2012); The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. **Nature Education Knowledge** 3(10):25.
- BI, Z. et al. Fast start-up of Anammox process with appropriate ferrous iron concentration. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 506-512, Oct 2014. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000341357600064 >.
- CAROLINE G, C. et al. Establishment of anammox process in sludge samples collected from swine wastewater treatment system - See more at: <http://search.scielo.org/?q=anammox&where=SCL#sthash.Jn7K1wkC.dpuf>. p. 1178, 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-69162011000600014](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162011000600014)<=pt >.
- CARVAJAL-ARROYO, J. M. et al. Inhibition of anaerobic ammonium oxidizing (anammox) enrichment cultures by substrates, metabolites and common wastewater constituents. **Chemosphere**, v. 91, n. 1, p. 22-27, Mar 2013. ISSN 0045-6535.
- CHEN, H. et al. Enhancement of anammox performance by Cu(II), Ni(II) and Fe(III) supplementation. **Chemosphere**, v. 117, p. 610-616, Dec 2014. ISSN 0045-6535.
- CHEN, Y.-P. et al. Start-Up of a Combined Anaerobic/Partial Nitritation/ANAMMOX Process for High-Salt Mustard Wastewater Treatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 1, p. 119-134, Jan 2015. ISSN 0273-2289. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000348102900009 >.
- DAPENA-MORA, A. et al. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 859-865, Mar 5 2007. ISSN 0141-0229. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000245015600049 >.
- DE ARAUJO, J. C. et al. Enrichment of anaerobic ammonium oxidizing bacteria - Anammox. **Engenharia Sanitaria E Ambiental**, v. 15, n. 2, p. 205-212, Jun 2010. ISSN 1413-4152. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000283256100013 >.
- DE LILLE, M. V. et al. Ammonium estimation in an ANAMMOX SBR treating anaerobically digested domestic wastewater. **Chemical Engineering Science**, v. 130, n., p. 109-119, Jul 7 2015. ISSN 0009-2509.

- DU, R. et al. Advanced nitrogen removal from wastewater by combining anammox with partial denitrification. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 497-504, Mar 2015. ISSN 0960-8524.
- FURUKAWA, K. et al. Innovative treatment system for digester liquor using anammox process. **Bioresource technology**, v. 100, n. 22, p. 5437-5443, 2009. ISSN 0960-8524.
- GAO, F. et al. The effects of zero-valent iron (ZVI) and ferrous iron (Fe<sup>2+</sup>) on anammox activity and granulation in anaerobic continuously stirred tank reactors (CSTR). **Process Biochemistry**, v. 49, n. 11, p. 1970-1978, Nov 2014. ISSN 1359-5113.
- GUT, L. et al. Combined partial nitritation/Anammox system for treatment of digester supernatant. **Water science and technology**, v. 53, n. 12, p. 149-159, 2006. ISSN 0273-1223.
- HUANG, X. et al. Effects of ferrous and manganese ions on anammox process in sequencing batch biofilm reactors. **Journal of Environmental Sciences-China**, v. 26, n. 5, p. 1034-1039, May 1 2014. ISSN 1001-0742.
- JIN, R. C. et al. **The inhibition of the Anammox process: A review**. 197: 67-79 p. 2012.
- JOSS, A. et al. Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitritation and anammox in one SBR. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 14, p. 5301-5306, 2009. ISSN 0013-936X.
- De Araújo, J.C. et al. Enriquecimento de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia - anammox Enrichment of anaerobic ammonium oxidizing bacteria - anammox. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 15, n. 2, p. 205-212, 2010. ISSN 1413-4152.
- JUNG, J. Y. et al. Factors affecting the activity of anammox bacteria during start up in the continuous culture reactor. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 1-2, p. 459-468, 2007 2007. ISSN 0273-1223. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245786000056 >.
- KARTAL, B.; KUENEN, J.; VAN LOOSDRECHT, M. Sewage treatment with anammox. **Science**, v. 328, n. 5979, p. 702-703, 2010. ISSN 0036-8075.
- KUNZ, A. et al. Development of a new generation low cost treatment of ammonia for livestock effluents using Anammox and nitritation. Proc. 13th Int. Conference of the FAO ESCORENA Network on Recycling of Agricultural, Municipal and Industrial Residues in Agriculture (RAMIRAN), Albena, Bulgaria, 2008. p.255-258.

- LIANG, Z.; LIU, J. Landfill leachate treatment with a novel process: Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) combined with soil infiltration system. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, n. 1, p. 202-212, 2008. ISSN 0304-3894.
- LINDSAY, M.; WEBB, R.; FUERST, J. Pirellulosomes: A new type of membrane-bounded cell compartment in planctomycete bacteria of the genus Pirellula. **Microbiology-Uk**, v. 143, p. 739-748, 1997. ISSN 1350-0872.
- LIU, S.; HORN, H. Effects of Fe(II) and Fe(III) on the single-stage deammonification process treating high-strength reject water from sludge dewatering. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 12-19, Jun 2012. ISSN 0960-8524.
- LIU, Y.; NI, B.-J. Appropriate Fe (II) Addition Significantly Enhances Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) Activity through Improving the Bacterial Growth Rate. **Scientific Reports**, v. 5, Feb 3 2015. ISSN 2045-2322. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000348703200015 >.
- LOTTI, T. et al. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. **Water Research**, v. 46, n. 8, p. 2559-2569, 2012. ISSN 0043-1354.
- MA, B. et al. Suppressing Nitrite-oxidizing Bacteria Growth to Achieve Nitrogen Removal from Domestic Wastewater via Anammox Using Intermittent Aeration with Low Dissolved Oxygen. **Scientific Reports**, v. 5, Sep 10 2015. ISSN 2045-2322.
- MALOVANYYY, A.; TRELA, J.; PLAZA, E. Mainstream wastewater treatment in integrated fixed film activated sludge (IFAS) reactor by partial nitrification/anammox process. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 478-487, Dec 2015. ISSN 0960-8524.
- MULDER, A. et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS microbiology ecology**, v. 16, n. 3, p. 177-184, 1995. ISSN 1574-6941.
- OSHIKI, M. et al. Physiological characteristics of the anaerobic ammonium-oxidizing bacterium 'Candidatus Brocadia sinica'. **Microbiology-Sgm**, v. 157, p. 1706-1713, Jun 2011. ISSN 1350-0872.
- QIAO, S. et al. Long term effects of divalent ferrous ion on the activity of anammox biomass. **Bioresource Technology**, v. 142, p. 490-497, Aug 2013. ISSN 0960-8524.
- \_\_\_\_\_. Anammox process for synthetic and practical wastewater treatment using a novel kind of biomass carriers. **Water Science & Technology**, v. 58, n. 6, 2008. ISSN 0273-1223.
- REGINATTO, V. et al. Anaerobic ammonium oxidation in a bioreactor treating slaughterhouse wastewater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 4, p. 593-600, 2005. ISSN 01046632.

- REN, L.-F. et al. Effect of zero-valent iron on the start-up performance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) process. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 4, p. 2925-2934, Feb 2015. ISSN 0944-1344. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000349319200056 >.
- ROUSE, J. D.; BISHOP, C. A.; STRUGER, J. Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. 10, p. 799-803, 1999. ISSN 0091-6765.
- STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 3248, 1999. ISSN 0099-2240  
00992240.
- STROUS, M. et al. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. **Nature**, v. 440, n. 7085, p. 790-794, 2006. ISSN 00280836.
- \_\_\_\_\_. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (anammox) process in different reactor configurations. **Water Research**, v. 31, n. 8, p. 1955-1962, 1997. ISSN 00431354.
- TANG, C.-J. et al. Enhanced nitrogen removal from pharmaceutical wastewater using SBA-ANAMMOX process. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 201-210, 2011. ISSN 0043-1354.
- TAO, Y.; GAO, D.-W. Impact of Ecological Factors on Anaerobic Ammonia-Oxidizing Bacteria Enrichments. **Environmental Engineering Science**, v. 29, n. 6, p. 479-485, Jun 2012. ISSN 1092-8758.
- VAN DER STAR, W. R. L. et al. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. **Water Research**, v. 41, n. 18, p. 4149-4163, Oct 2007. ISSN 0043-1354. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000250247800014 >.
- VAN DONGEN, U.; JETTEN, M. S.; VAN LOOSDRECHT, M. The SHARON®-Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater. **Water science and technology**, v. 44, n. 1, p. 153-160, 2001. ISSN 0273-1223.
- VAN HULLE, S. W. H. et al. Titrimetric monitoring of a completely autotrophic nitrogen removal process. **Water Science and Technology**, v. 53, n. 4-5, p. 533-540, 2006 2006. ISSN 0273-1223.
- VAN LOOSDRECHT, M. et al. Use of Anammox in urban wastewater treatment. **Water Science and Technology: Water Supply**, v. 4, n. 1, p. 87-94, 2004. ISSN 1606-9749.

- VAN NIFTRIK, L. et al. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: A membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. **Journal of Structural Biology**, v. 161, n. 3, p. 401-410, Mar 2008. ISSN 1047-8477. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000254349100018 >.
- WAKI, M. et al. Nitrogen removal from animal waste treatment water by anammox enrichment. **Bioresource technology**, v. 98, n. 14, p. 2775-2780, 2007. ISSN 0960-8524.
- \_\_\_\_\_. Effect of electron donors on anammox coupling with nitrate reduction for removing nitrogen from nitrate and ammonium. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 592-598, Feb 2013. ISSN 0960-8524.
- WINKLER, M.-K.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. Integration of anammox into the aerobic granular sludge process for main stream wastewater treatment at ambient temperatures. **Water research**, v. 46, n. 1, p. 136-144, 2012. ISSN 0043-1354.
- XIONG, L. et al. Start-Up Characteristics of a Granule-Based Anammox UASB Reactor Seeded with Anaerobic Granular Sludge. **Biomed Research International**, 2013 2013. ISSN 2314-6133.
- ZHANG, J. et al. Enhancement of nitrogen removal in a novel anammox reactor packed with Fe electrode. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 102-108, Jun 2012. ISSN 0960-8524.
- ZHANG, L. et al. Nitrogen removal performance and microbial distribution in pilot- and full-scale integrated fixed-biofilm activated sludge reactors based on nitrification-anammox process. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 448-453, Nov 2015. ISSN 0960-8524.