

1576 - IMPACTO DAS CONDIÇÕES NUTRICIONAIS E OPERACIONAIS DE REATORES ANAMMOX NA EMISSÃO DE ÓXIDO NITROSO DURANTE A REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Tiago Duarte Santos Pereira⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental (UFV), mestre e doutor em Hidráulica e Saneamento (USP). Realizou estágio pós-doutoral na Universidade Politécnica de Milão (POLIMI), Itália, e foi pesquisador visitante na Universidade Politécnica de Gdańsk (GUT), Polônia. Trabalhou como professor substituto (UFV) e professor adjunto (UNIP). Atualmente é Professor universitário do Instituto Tecnológico de Agropecuária de Pitangui (ITAP/EPAMIG) onde é coordenador da Pós-graduação e diretor do departamento de Meio Ambiente.

Guilherme Lelis Giglio⁽²⁾

Engenheiro Ambiental (UNESP) e mestre em Hidráulica e Saneamento (USP). Foi consultor ambiental em São José do Rio Pardo e professor universitário em Alfenas (UNIFENAS), Guaxupé (UNIFEG) e Ribeirão Preto (Estácio). Doutorando em Hidráulica e Saneamento (USP), com realização de doutorado sanduíche na Universidade de Tecnologia de Delft (TUD), Holanda.

Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic⁽³⁾

Engenheira Civil, mestre, doutora e pós-doutora em Hidráulica e Saneamento (USP). Pós-doutora (UFSCar), estágio pós-doutoral na Universidade de Valladolid (UVa), Espanha, e estágio pós-doutoral na Universidade de Vancouver, Canadá. Professora do departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC/USP).

Endereço⁽¹⁾: Estrada de acesso ao Casquilho via Parque de Exposições BR 352, Km 35, Zona Rural - Pitangui - MG – 35650-000 - Brasil - Tel: +55 (11) 985318980 e-mail: tiago.pereira@epamig.br

RESUMO

O óxido nitroso (N_2O), poderoso gás do efeito estufa, tem um potencial de aquecimento global quase 300 vezes maior que o CO_2 . Ainda não há evidências do N_2O como produto final ou intermediário da reação anammox, porém ele pode ser produzido pelas BOA e HET que coexistem nos grânulos anammox em sistemas biológicos de remoção de nitrogênio. Com o objetivo de avaliar os mecanismos de produção de N_2O em sistemas anammox, foram operados dois reatores contínuos com TDH de 3h, variando-se a taxa de recirculação, relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ e a concentração de DQO afluente. Para ambos os reatores foi observado maiores emissões de N_2O com o aumento da relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ de 1,0 para 1,5. A relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ igual a 1,5 na ausência de matéria orgânica resultou na produção de N_2O no sistema com e sem recirculação. A presença de matéria orgânica (100 mgCOD/L) aumentou a emissão de N_2O em sistemas submetidos à relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ igual a 1,5, porém a recirculação à taxa de 5x manteve a produção de N_2O menor que o sistema sem recirculação. Diante destes resultados pôde-se observar que a operação dos reatores sob relação menor que 1,32, de modo a não haver nitrito remanescente no efluente final dos reatores, constituiu uma eficiente estratégia para minimizar as emissões de N_2O .

PALAVRAS-CHAVE: Remoção biológica de nitrogênio; óxido nitroso; anammox; desnitrificação heterotrófica; acúmulo de nitrito.

INTRODUÇÃO

A substituição de processos biológicos tradicionais de tratamento de efluentes por processos inovadores é uma tendência nas estações de tratamento de efluentes (ETE) que buscam a sustentabilidade em seus sistemas. Muitas vezes, essa substituição é incentivada pela possibilidade de redução dos custos operacionais, mantendo a qualidade do tratamento. Neste ponto, o processo de oxidação anaeróbia de amônio (anammox), além de ser financeiramente atrativo, pode aumentar a eficiência da remoção de nitrogênio de efluentes com elevada carga nitrogenada, diminuindo a possibilidade de eutrofização em corpos d'água (CAREY; MIGLIACCIO, 2009).

Na maioria das ETE convencionais, a remoção de nitrogênio é baseada no processo de nitrificação/desnitrificação. Na etapa de nitrificação, em condições aeróbias, o íon amônio (NH_4^+) é oxidado a

nitrito (NO_2^-) por ação das bactérias oxidadoras de amônia (BOA). Posteriormente, o NO_2^- é oxidado a nitrato (NO_3^-) pelas bactérias oxidadoras de nitrito (BON). Ambos os processos requerem consumo de energia elétrica na operação de equipamentos de aeração. Na desnitrificação, em condições anaeróbias, as bactérias desnitrificantes heterotróficas (HET) convertem o NO_3^- , produzido na etapa anterior, em nitrogênio gasoso (N_2) utilizando a matéria orgânica como fonte doadores de elétrons (MADIGAN et al., 2015).

Já no processo anammox, na ausência de oxigênio dissolvido (OD), as bactérias anammox (AMX) são capazes de transformar o íon amônio (NH_4^+) diretamente a N_2 gasoso utilizando o nitrito (NO_2^-) como aceptor final de elétrons (STROUS et al., 1998). Desta forma pode-se economizar 60% de demanda energética da aeração que seria necessária para a oxidação da amônia a nitrato no processo biológico tradicional de remoção de nitrogênio via nitrificação/desnitrificação (CAO et al., 2017). Outra vantagem do processo anammox na comparação com o processo de nitrificação/desnitrificação é a baixa produção de lodo, cerca 90% inferior, devido as baixas taxas de crescimento celular, sendo o tempo de duplicação, em média, de 11-20 dias (KARTAL et al., 2008). Embora na literatura já tenha sido reportado tempo de duplicação de até 3 dias, em condições operacionais específicas (TSUSHIMA; KINDAICHI; OKABE, 2007). Além disso o sistema pode ser empregado como uma excelente alternativa de pós tratamento pela não necessidade de carbono orgânico e alta capacidade de remoção de carga orgânica nitrogenada em curtos tempos de detenção hidráulica (TDH) (ALI; OKABE, 2015).

Apesar dessas vantagens alguns estudos relataram que os processos baseados em anammox contribuem drasticamente para a emissão do óxido nitroso (N_2O) em reatores biológicos visando a remoção de compostos nitrogenados (FANG et al., 2020; PEREIRA et al., 2019). O N_2O é um potente gás de efeito estufa que persiste por mais de 120 anos na atmosfera e pode ser quase 300 vezes mais danoso que o CO_2 . Além de ser agente destruidor da camada de ozônio e formador da chuva ácida (MADIGAN et al., 2015). O aumento da concentração de N_2O na atmosfera é, provavelmente, a mais séria consequência da intervenção humana no ciclo do nitrogênio (BAKKEN; FROSTEGÅRD, 2017). Até agora, entretanto, o N_2O não foi incluído como produto final ou intermediário na estequiometria da reação anammox, embora tenha sido descoberto que um outro intermediário gasoso (NO) é produzido por bactérias anammox (SPETH et al., 2016). Porém a produção de óxido nitroso em sistemas biológicos anammox pode ser atribuída às BOA e HET, que são comumente reportados na literatura coexistindo com as bactérias anammox nos grânulos ou biofilmes. As BOA podem produzir o óxido nitroso pela oxidação parcial da amônia via hidroxilamina, em baixas concentrações de oxigênio dissolvido, e no processo de desnitrificação autotrófica do nitrito a N_2O (SPETH et al., 2016). As HET podem realizar a desnitrificação parcial do nitrato ou nitrito à óxido nitroso utilizando a matéria orgânica como fonte doadora de elétrons em baixas relações C/N. (PEREIRA et al., 2020).

As vias de produção e controle de N_2O nos processos de tratamento de águas residuárias, no entanto, ainda não foram documentados de forma robusta para os diferentes tipos de tratamento, o que dificulta o estabelecimento de estratégias para reduzir a emissão de N_2O . Portanto, é importante entender os mecanismos de emissão de N_2O em reatores de lodo anammox-granular para se compreender como minimizar essas emissões otimizando as condições de operação.

OBJETIVO

Avaliar, em um reator anammox de fluxo contínuo ascendente de biomassa granular, como as condições operacionais (taxa de recirculação variando entre 0 e 5 vezes a vazão efluente) e nutricionais (relação $\text{N-NO}_2^-/\text{N-NH}_4^+$ variando de 1.0 a 1.5 e DQO afluente entre 0 e 100 mg/L) alteram a produção e emissões de óxido.

METODOLOGIA UTILIZADA

Os experimentos foram conduzidos em dois reatores biológicos, R1 e R2 (Figura 1a) construídos em acrílico com dimensões iguais de 48,0 cm de altura útil, 6,7 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura na parte superior (3,5 cm de *headspace*). Os reatores foram acondicionados em uma câmara climática (Nova Ética, Brasil) à temperatura de $37,0 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Duas grades com furos de 3,0 mm de diâmetro foram fixadas acima e abaixo do volume de reação (1,7 L) de cada reator para reter a biomassa. Os reatores foram operados com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 3,0 h e o reator R1 foi submetido a uma taxa de recirculação do efluente igual a 5 vezes a vazão efluente. Para alimentação dos reatores foi utilizado o meio sintético conforme descrito por Van de Graaf et al. (1996). Antes da alimentação, a mistura gasosa argônio e gás carbônico, na proporção de 95/5%, foi

purgada no tanque de alimentação para a redução da concentração de oxigênio dissolvido do meio sintético ($OD \leq 0,50 \text{ mg/L}$).

A alimentação foi bombeada, até a entrada dos reatores, por meio de bombas dosadoras da marca Grundfos, Dinamarca, modelo DDC (Figura 1b), de um reservatório de $1,0 \text{ m}^3$, construído em polietileno e mantido a 25°C . Para a recirculação do efluente líquido, no reator R1, também foi utilizada uma bomba dosadora da mesma marca e modelo. Na parte superior dos reatores um septo de butil permitia a amostragem gasosa e uma saída de gás conduzia a fração gasosa ao selo hídrico e posteriormente ao medidor de gás (Ritter, Alemanha, modelo MCG), Figura 1c. A biomassa era retida dentro do volume útil do reator por grades circulares de separação com orifícios de $3,0 \text{ mm}$ de diâmetro. Estas grades foram posicionadas nas extremidades superior e inferior da parte central do reator.

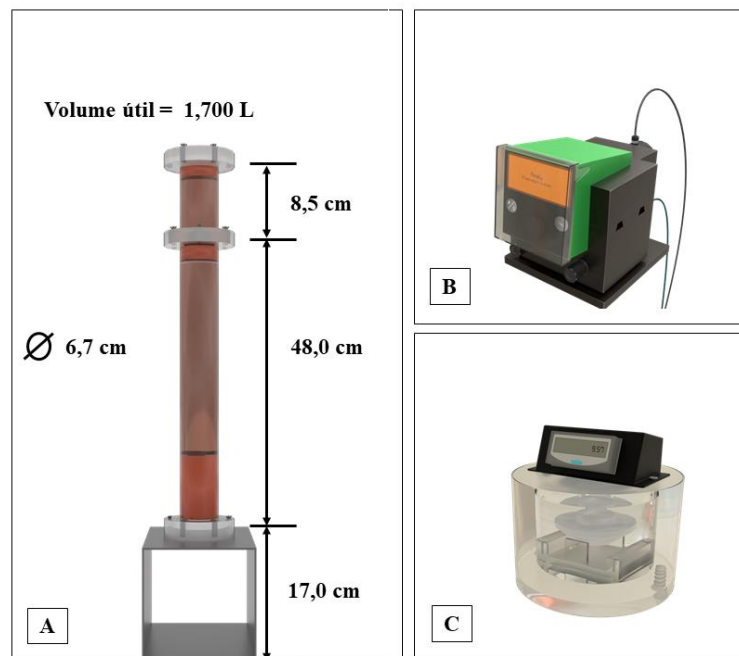


Figura 1: Aparato experimental utilizado: (a) Reatores biológicos, (b) bombas dosadoras, (c) medidor de vazão de gás do tipo Ritter

O lodo anammox granular utilizado no experimento foi previamente coletado em um reator contínuo de 20 L na “Embrapa Suínos e Aves”, localizada no município de Concórdia (Santa Catarina). O lodo de inóculo já apresentava atividade anammox e a presença de bactérias anammox foi constatada por Viancelli et al. (2009).

Os experimentos foram conduzidos em dois reatores biológicos, R1 e R2 (Figura 1a) construídos em acrílico com dimensões iguais de $48,0 \text{ cm}$ de altura útil, $6,7 \text{ cm}$ de diâmetro e $8,5 \text{ cm}$ de altura na parte superior ($3,5 \text{ cm}$ de *headspace*). Os reatores foram acondicionados em uma câmara climática (Nova Ética, Brasil) à temperatura de $37,0 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Duas grades com furos de $3,0 \text{ mm}$ de diâmetro foram fixadas acima e abaixo do volume de reação ($1,7 \text{ L}$) de cada reator para reter a biomassa. Os reatores foram operados com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de $3,0 \text{ h}$ e o reator R1 foi submetido a uma taxa de recirculação do efluente igual a 5 vezes a vazão efluente. Para alimentação dos reatores foi utilizado o meio sintético conforme descrito por Van de Graaf et al. (1996). Antes da alimentação, a mistura gasosa argônio e gás carbônico, na proporção de $95/5\%$, foi purgada no tanque de alimentação para a redução da concentração de oxigênio dissolvido do meio sintético ($OD \leq 0,50 \text{ mg/L}$).

As análises de temperatura, pH, N-amônio, N-nitrito e N-nitrato e DQO, foram realizadas semanalmente, conforme (APHA, 2012). A interferência do NO_2^- nas análises de NO_3^- e DQO foi atenuada utilizando $95,0 \text{ mg}$ de solução de ácido sulfâmico em $1,0 \text{ L}$ de água destilada, pois a reação do NO_2^- com o ácido sulfâmico produz N_2 e íon sulfato, reduzindo sua interferência. Cada $1,0 \text{ mL}$ de solução mostrou-se eficiente para a remoção de até $0,014 \text{ mg}$ de N-NO_2^- .

A análise de composição gasosa foi realizada por cromatografia gasosa em comatrógrafo Shimadzu® (GC-2014) equipado com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna HP-PLOT/Q (3,0 m x 0,53 mm x 40,0 µm) utilizando como gás carreador o hidrogênio. As análises foram realizadas conforme metodologia proposta por Pereira, 2020.

Tabela 1: Configurações e condições operacionais aplicadas aos dois reatores.

FASES	REATORES	DIAS (d)	TDH (h)	TAXA DE RECIRCULAÇÃO	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ /N-NH ₄ ⁺ -	DQO (mg/L)
I	R1	180	3.0	5x	100	100	1.0	-
	R2	227	3.0	-	100	100	1.0	-
II	R1	92	3.0	5x	100	150	1.5	-
	R2	92	3.0	-	100	150	1.5	-
III	R1	18	3.0	5x	100	150	1.5	100
	R2	18	3.0	-	100	150	1.5	100

RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados de eficiência de remoção de nitrogênio e carga nitrogenada volumétrica removida (CNVR), de acordo com a carga nitrogenada volumétrica aplicada (CNVA), para ambos dois reatores, durante todas as fases do experimento são mostrados na Tabela 2.

FASES	CNVA (KgN/m ³ .d)		CNVR (KgN/m ³ .d)		EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO (%)	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
I	1.7 ± 0.3	1.5 ± 0.4	1.5 ± 0.4	1.2 ± 0.4	86.5 ± 13.9	87.3 ± 14.5
II	1.9 ± 0.3	1.8 ± 1.7	1.5 ± 0.3	1.5 ± 1.0	76.5 ± 8.1	79.8 ± 6.2
III	1.9 ± 0.4	1.8 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.2 ± 0.5	73.1 ± 15.8	69.3 ± 24.5

A remoção de N-total pelo processo anammox foi similar durante as Fases I, II e III. Ao nível de significância de 5%, o teste ANOVA, comprovou que não houve diferença estatística significativa entre as médias ao nível de significância 5%. Portanto, o aumento da relação N-NO₂⁻/N-NH₄⁺ da Fase I para a Fase II e a adição de matéria orgânica durante a Fase III não prejudicaram a eficiência do sistema.

Outro importante resultado a ser enfatizado é a conservação da eficiência de remoção mesmo com o aumento da concentração de nitrito afluente. Em determinados momentos, a concentração de nitrito afluente atingiu valores maiores que 200 mgN/L, considerando inibitório para o processo anammox por alguns autores (JIN et al., 2012). Nesta presente pesquisa, entretanto, não foi observada diferença significativa entre as médias das eficiências de remoção de nitrogênio.

Em relação a adição de matéria orgânica, durante a terceira fase, o reator que não apresentavam recirculação (R2) apresentou uma redução drástica da eficiência de remoção de nitrogênio nos primeiros dias. A eficiência reduziu de 87,55% para 29,55% nos 15 dias iniciais. No reator com recirculação (R1) foi observada a redução relevante na eficiência apenas no 295º dia de operação. Conforme pode ser observado na Figura 1. Provavelmente a recirculação reduziu os efeitos inibitórios da matéria orgânica devido ao efeito diluição da concentração inicial. Como já é de conhecimento, a matéria orgânica pode inibir de forma parcial ou completa a atividade anammox (JIN et al., 2012; NI et al., 2012).

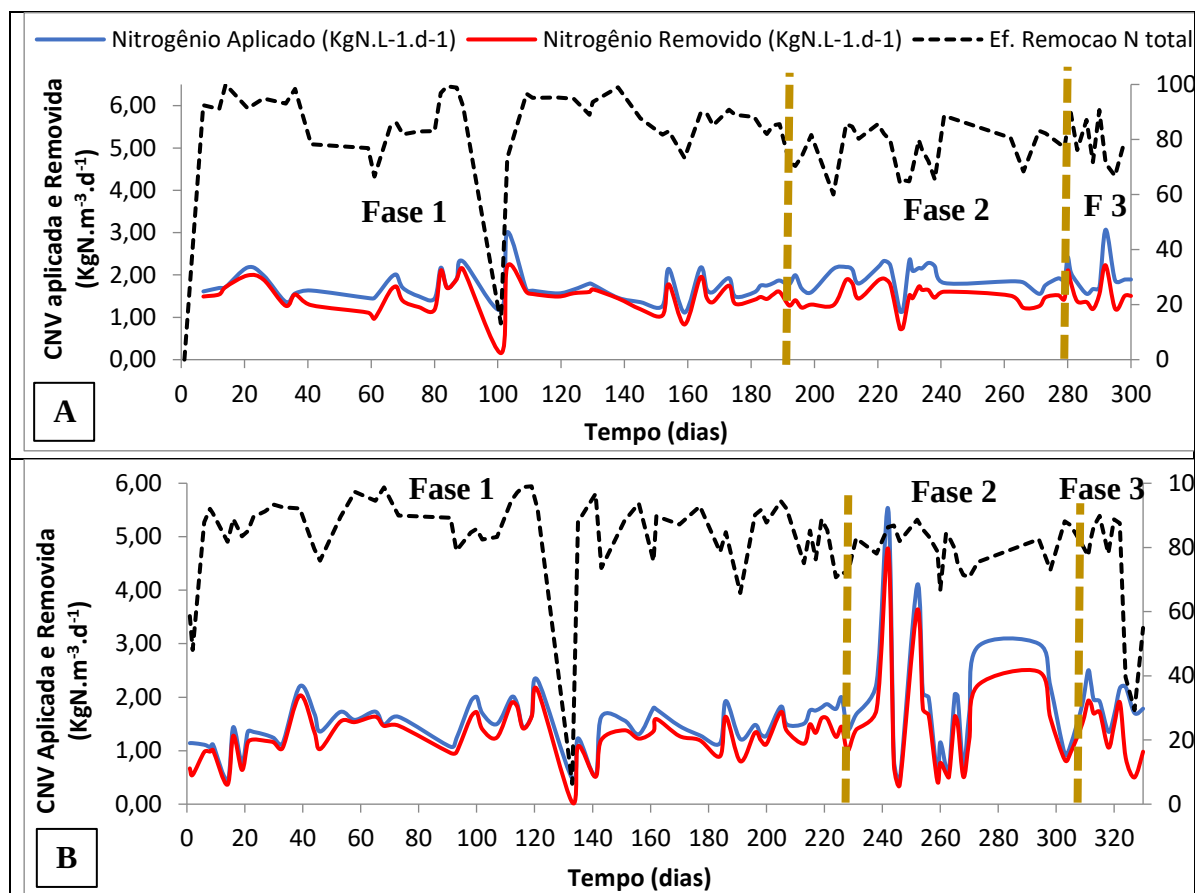
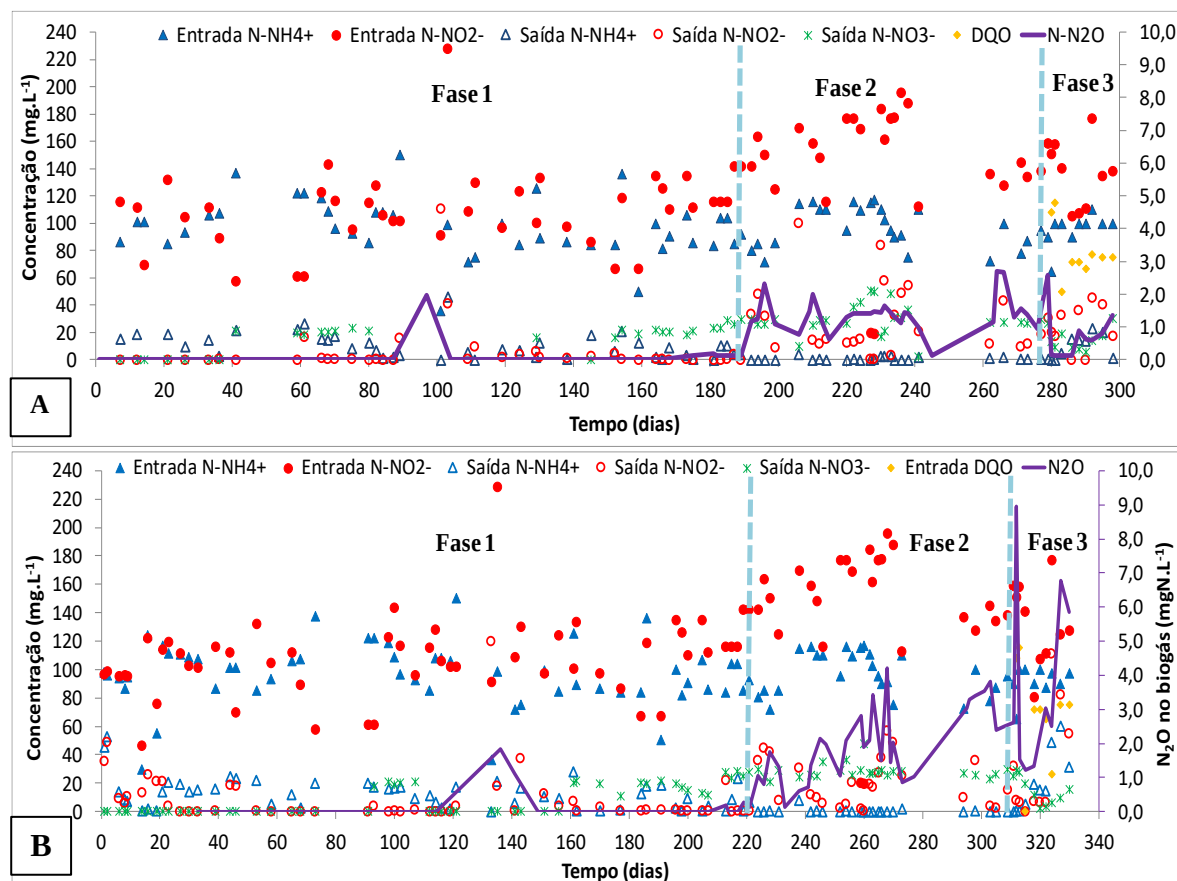


Figura 1: Variação das cargas nitrogenadas aplicadas e removidas e eficiência de remoção nas diferentes fases experimentais para o reator R1 com taxa de recirculação de 5x -(A) e R2 sem recirculação (B).

Durante a Fase 1 os reatores foram operados com a relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ igual a 1, buscando-se manter no meio sintético afluente a concentração de 100 mgN.L-1 de NO_2^- e 100mgN.L-1 de NH_4^+ . Dessa forma, de acordo com a estequiometria da reação anammox, era esperado que não houvesse acúmulo de nitrito, o que foi confirmado durante quase toda a Fase 1. Entretanto, foi observado acúmulo de nitrito apenas no 135º dia de operação para os reatores R2 e no 103º dia para o reator R1. Estes foram, justamente, os únicos dias da Fase 1 onde o N_2O foi detectado na amostra gasosa dos reatores, na concentração de aproximadamente 2,0 mgN/L, como pode ser observado na Figura 2.

Na Fase 2 se promoveu o aumento da concentração de nitrito afluente, de 100 mgN/L para 150 mgN/L, objetivando o acúmulo de nitrito em meio líquido. Durante a maior parte dos 92 dias de operação dos reatores, foi observado o acúmulo de NO_2^- no efluente líquido dos reatores. Muito provavelmente em consequência deste fato, o N_2O foi detectado na fração gasosa durante toda a fase nas concentrações de $1,22 \pm 0,73$ mgN/L e $1,70 \pm 1,21$ mgN/L para os reatores R1 e R2, respectivamente. Não houveram diferenças significativa entre as médias das concentrações de N_2O durante as Fases 1 e 2. Estes resultados evidenciam correlação entre o acúmulo NO_2^- em meio líquido e a emissão de N_2O .

Figura 2: Concentração de N_2O , DQO e das espécies nitrogenadas afluente e efluente durante a operação



dos reatores contínuos R1, operado com taxa de recirculação de 5x (A) e R2 sem recirculação-(B).

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nos resultados apresentados evidenciaram que o efeito da variação da concentração afluente de nitrito, via relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$, na emissão de óxido nítrico. Percebe-se que o perfil de concentrações de N_2O responde de forma proporcional ao aumento e diminuição da relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ quando essa variação se dá para valores acima da linha do valor estequiométrico da relação anammox (1,32). Como a razão entre nitrito e amônia na estequiometria da reação anammox é 1,32 é de se esperar que o nitrito comesse a acumular a partir deste ponto, ficando disponível para a desnitrificação heterotrófica. Mesmo que a água residuária afluente ao reator biológico não contenha carbono orgânico, a atividade das HET presentes no grânulo anammox pode ser suportada pela utilização de produtos microbianos solúveis provenientes do decaimento celular ou pela reserva interna de carbono, produzindo assim o N_2O (LOTTI et al., 2014). A condição citada pode favorecer da desnitrificação heterotrófica incompleta pela falta de elétrons. Nessa condição, a elevação da relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ contribui para geração do N_2O . Os resultados do presente estudo, entretanto, mostram que se mantendo a concentração de NO_2^- em relação à de NH_4^+ , na água residuária afluente, próxima a 1,3 pode-se minimizar as emissões de N_2O assim como a velocidade de produção e os fatores de emissão de N_2O mantendo-se a alta eficiências de remoção de nitrogênio, independentemente da concentração de matéria orgânica.

Essa correlação entre o acúmulo de nitrito e as emissões de óxido nítrico também foi observada por outros autores em biofiltros durante a nitrificação (BOLLON et al., 2016), em diferentes estações de remoção biológica de nitrogênio em escala plena combinando fases anaeróbias, anóxicas e aeróbias (FOLEY et al., 2010) e durante a desnitrificação em um reator de lodos ativados operando em baixas concentrações de OD (VON SCHULTHESS; WILD; GUJER, 1994).

A adição de matéria orgânica (Fase 3) aumentou a média das concentrações de N_2O no efluente gasoso de ambos os reatores sem recirculação. No reator R2 a concentração média de óxido nitroso em meio líquido aumentou de $1,11 \pm 0,74$ mgN/L para $4,10 \pm 3,55$ mgN/L, sendo 10,63 mgN/L o maior valor observado. No R2 o aumento foi de $1,70 \pm 1,21$ mgN/L para $3,71 \pm 2,79$ mgN/L. A concentração máxima observada foi 8,94 mgN/L. No reator com recirculação (R1), entretanto, a adição de matéria orgânica não influenciou a concentração média de N_2O no headspace do reator. Estes resultados são condizentes com os resultados observados por Pereira et al. 2020. A recirculação promove a diluição da matéria orgânica, diminuindo a concentração afluente. A concentração de DQO afluente exerce influência linear no fator de emissão de N_2O . Dessa forma, se espera que para menores concentrações de DQO, menos óxido nitroso seja emitido por CNVA, uma vez que menos elétrons estarão disponíveis para a desnitrificação do nitrito a N_2O .

CONCLUSÕES/RECOMENDAÇÕES

Para valores de relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ maiores que 1,3, foi observada a presença de N_2O na fase gasosa proporcional ao acúmulo de nitrito no efluente dos reatores contínuos contendo biomassa anammox enriquecida. Essa produção de óxido nitroso, provavelmente se deu por ação das Bactérias heterorólicas desnitrificantes utilizando compostos internos de armazenamento ou produtos do decaimento celular como fonte doadora de elétrons.

Na fase 3, quando relação $N-NO_2^-/N-NH_4^+$ igual era 1,5, a adição de matéria orgânica na concentração de 100 mgDQO/L aumentou a emissão de óxido nitroso no reator operado sem recirculação (R2). Em contrapartida, a adição de matéria orgânica, nas mesmas condições e concentrações dos reatores anteriores, não exerceu influência na média das emissões de N_2O do reator operado com recirculação de 5x (R1). Neste caso a diluição pode ter sido o fator determinante devido a diluição da concentração de matéria orgânica na entrada do reator.

Estes resultados apontam que a operação dos reatores sob relação menor que 1,32, de modo a não haver nitrito remanescente no efluente final dos reatores, constitui uma eficiente estratégia para minimizar as emissões de N_2O independente da presença de DQO no afluente.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, recomenda-se:

- avaliar a produção de N_2O sob diferentes concentrações de nitrito afluente em reatores contendo biomassa granular anammox;
- adicionar matéria orgânica de em concentrações superiores a 100 mg/L;
- realizar este estudo em diferentes configurações de reatores como, por exemplo, biofilme aderido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAREY, R. O.; MIGLIACCIO, K. W. *Contribution of wastewater treatment plant effluents to nutrient dynamics in aquatic systems. Environmental Management*, v. 44, n. 2, p. 205–217, 2009.
2. MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. *Microbiologia de Brock*. 14ª. ed., Porto Alegre: Artmed, 2015.
3. Strous, M., Heijnen, J. J., Kuenen, J. G., & Jetten, M. S. M. *The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. Applied microbiology and biotechnology* 50 (5), 589-596, 1998.
4. CAO, Y., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., DAIGGER, G. T. *Mainstream partial nitrification–anammox in municipal wastewater treatment: status, bottlenecks, and further studies. Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 101, n. 4, p. 1365–1383, 2017.
5. KARTAL, B. et al. *Candidatus “Brocadia fulgida”: An autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. FEMS Microbiology Ecology*, v. 63, n. 1, p. 46–55, 2008.
6. TSUSHIMA, I.; KINDAICHI, T.; OKABE, S. *Quantification of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in enrichment cultures by real-time PCR. Water Research*, v. 41, n. 4, p. 785–794, 2007.
7. ALI, M., OKABE, S. *Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. Chemosphere*, v. 141, p. 144–153, 2015.
8. Fang, F., Li, H., Jiang, X., Deng, X., Yan, P., Guo, J., Chen, Y., Yang, J. *Significant N_2O emission from a high rate granular reactor for completely autotrophic nitrogen removal over nitrite. J. Environ. Manage.*

- 266, 110586, 2020.
9. Pereira, T.D.S., Dos Santos, C.E.D., Lu, X., Al-Hazmi, H.E., Majtacz, J., Pires, E.C., Damianovic, M.H.R.Z., Makinia, J., 2019. *Effect of operating conditions on N₂O production in an anammox sequencing batch reactor containing granular sludge*. *Water Sci. Technol.* 80, 37–47, 2019.
10. Pereira, T.D.S., R.H. Spindola, C.A.B.S. Rabelo, N.C. Silveira, M.A.T. Adorno, A. Kunz, E.C. Pires, M.H.R.Z. Damianovic. *A predictive model for N₂O production in anammox-granular sludge reactors: Combined effects of nitrite/ammonium ratio and organic matter concentration*. *Journal of Environmental Management*, 297, 113295, 2020.
11. SPETH, D. R. et al. *Genome-based microbial ecology of anammox granules in a full-scale wastewater treatment system*. *Nature communication*, v. 7, p. 11172, 2016.
12. BAKKEN, L. R.; FROSTEGÅRD, Å. *Sources and sinks for N₂O, can microbiologist help to mitigate N₂O emissions?* *Environmental Microbiology*, v. 19, n. 12, p. 4801–4805, 2017.
13. VIANCELLI, A. et al. *Analysis of bacterial community from a sludge reactor with anammox activity*. Paper presented at 1o Simpósio Internacional sobre gerenciamento de resíduos de animais, 11-13 March, Florianópolis, Santa Catarina, p. 11–13, 2009.
14. VAN DE GRAAF, A. A. et al. *Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor*. *Microbiology*, v. 142, n. 8, p. 2187–2196, 1996.
15. APHA, 2012. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.
16. LOTTI, T. et al. *Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture*. *Water Research*, v. 60, p. 1–14, 2014.
17. BOLLON, J. et al. *N₂O emissions from full-scale nitrifying biofilters*. *Water Research*, v. 102, p. 41–51, 2016.
18. FOLEY, J. et al. *Nitrous oxide generation in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants*. *Water Research*, v. 44, n. 3, p. 831–844, 2010.
19. VON SCHULTHESS, R.; WILD, D.; GUJER, W. *Nitric and nitrous oxides from denitrifying activated sludge at low oxygen concentration* *Water Science and Technology*, 1994.