

# Ambiente

## (REVISIÓN)

### El proceso Anammox

#### *The Anammox process*

#### *O processo Anammox*

Pedro J. López Guaimacuto<sup>1</sup> José Luis Fuentes Z.<sup>2</sup>

Recibido: 7-1-14; Aprobado: 6-3-14

RESUMEN	ABSTRACT	RESUMO
<p>De todos los ciclos biogeoquímicos, el del nitrógeno es el más íntimamente ligados a los microbios. Pasos únicos y esenciales en su ciclo son realizados por un amplio conjunto de bacterias, <i>Archaea</i>, y <i>eucariotas</i>. La conversión de nitrógeno fijado a gas nitrógeno es una etapa esencial en el ciclo del nitrógeno, a través del cual el inventario total de nitrógeno fijado es disminuido. Esta pérdida tiene importantes implicaciones para el balance del nitrógeno en los ecosistemas y para el control de la productividad primaria y la respiración, a escalas que varían del microambiente de sedimentos a los sistemas oceánicos regionales y globales. En 1995, se identificó un nuevo proceso biológico (Anammox) mediante el cual el amonio es oxidado anaeróbicamente por el nitrito a gas nitrógeno. Las bacterias que realizan el proceso Anammox no han sido obtenidas en cultivo puro. Las bacterias anammox usan un complejo mecanismo de reacción que involucra a la hidrazina como un intermediario. Ellas poseen un único organelo procarionótico intracelular, el anammoxosoma, rodeado por lípidos dispuestos en escalera (caracterizados por presentar dos o más anillos ciclobutano fusionados), que contiene a la hidrazina oxidoreductasa como la principal enzima para combinar nitrito y amonio en un solo paso. El proceso Anammox ha mostrado ser muy importante en el ciclo oceánico del nitrógeno, y probado ser una muy buena alternativa para el tratamiento de aguas residuales ricas en amonio.</p> <p><b>Palabras clave:</b> Aguas residuales, amonio, bacterias, nitrógeno, tratamiento.</p>	<p><i>Of all the biogeochemical cycles, nitrogen is the one most intimately associated with microbes. Essential and unique steps in the nitrogen cycle are performed by a wide array of bacteria, Archaea, and eukaryotes. The conversion of fixed nitrogen to nitrogen gas is an essential step in the nitrogen cycle, whereby the total inventory of fixed nitrogen is decreased. This loss has important implications for the nitrogen budget of ecosystems and for the control of primary production and respiration on scales ranging from the microenvironments of sediments to regional and global oceanic systems. In 1995, a novel biological process (Anammox), by which ammonium is anaerobically oxidized by nitrite to N<sub>2</sub> gas, was identified. The organisms that mediate anammox have not been obtained in pure culture. The anammox bacteria use a complex reaction mechanism involving hydrazine as an intermediate. They have a unique prokaryotic organelle, the anammoxosome, surrounded by ladderane lipids (contains two or more fused cyclobutane rings), which exclusively contains the hydrazine oxidoreductase as the major enzyme to combine nitrite and ammonia in a one-to-one fashion. Anammox was shown to be very important in the oceanic nitrogen cycle, and proved to be a very good alternative for treatment of high-strength nitrogenous waste streams.</i></p> <p><b>Keywords:</b> Ammonium, bacteria, nitrogen, sewage, treatment.</p>	<p>De todos os ciclos biogeoquímicos, o do nitrogênio é o mais intimamente unido aos micróbios. Passos únicos e essenciais em seu ciclo são realizados por um amplo conjunto de bactérias, <i>Archaea</i>, e <i>eucariotas</i>. A conversão de nitrogênio fixado a gás nitrogênio é uma etapa essencial no ciclo do nitrogênio, através do qual o inventário total de nitrogênio fixado é diminuído. Esta perda tem importantes envoltimentos para o balanço do nitrogênio nos ecossistemas e para o controle da produtividade primária e a respiração, a escalas que variam do microambiente de sedimentos aos sistemas oceânicos regionais e globais. Em 1995, identificou-se um novo processo biológico (Anammox) mediante o qual o amônio é oxidado anaeróbicamente pelo nitrito a gás nitrogênio. As bactérias que realizam o processo Anammox não têm sido obtidas em cultivo puro. As bactérias anammox usam um complexo mecanismo de reação que envolve à hidrazina como um intermediário. Elas possuem um único organelo procarionótico intracelular, o anammoxosoma, rodeado por lípidos dispostos em escada (caracterizados por apresentar duas ou mais anéis ciclobutano fundidos), que contém a hidrazina oxirredutase como a principal enzima para combinar nitrito e amônio num sozinho passo. O processo Anammox tem mostrado ser importantíssimo no ciclo oceânico do nitrogênio, e provado ser uma muito boa alternativa para o tratamento de águas residuais ricas em amônio.</p> <p><b>Palavras-chave:</b> Águas residuais, amônio, bactérias, nitrogênio, tratamento.</p>

<sup>1</sup>Biólogo, MSc. Centro Regional de Investigaciones Ambientales, Universidad de Oriente, (CRIA-UDO). e-mail: pedro.lopez@ne.udo.edu.ve

<sup>2</sup>Biólogo, MSc. CRIA-UDO. e-mail: jose.fuentes@ne.udo.edu.ve

## INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es un componente fundamental de los organismos vivos, que está limitado además en las formas que puedan ser asimiladas por las plantas en los ecosistemas marinos y terrestres. Como resultado, el nitrógeno tiene un papel crítico en el control de la productividad primaria en la biosfera. La producción y el uso industrial de los fertilizantes artificiales permitió a la Humanidad incrementar grandemente la producción de alimentos, aceleró notablemente el ciclo global del N y condujo a un conjunto de serios problemas ambientales, que varían de la eutrofización de los sistemas acuáticos a la acidificación global (Gruber y Galloway, 2008).

En la biosfera, el N existe en múltiples estados de oxidación y formas químicas, y es rápidamente convertido por los microorganismos en los ecosistemas. El mayor reservorio es el gas  $N_2$  que debe ser fijado por los microorganismos antes de que esté disponible para otros organismos. El N existe en su forma más reducida en los organismos, pero es rápidamente nitrificado para formar nitrato luego de la muerte y lisis celular. El nitrato es a su vez desnitrificado a gas  $N_2$  bajo condiciones subóxicas a anóxicas, completando el ciclo (Francis *et al.*, 2007).

La descarga de formas nitrogenadas en los ambientes significa múltiples amenazas a la salud de los ecosistemas, incluyendo la toxicidad ( $NH_3$ ), el agotamiento del oxígeno ( $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$  y el N orgánico), y la estimulación de los afloramientos de algas ( $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$  y nitrógeno orgánico) (EPA, 1993). Se han aplicado tecnologías de diversa naturaleza para lograr la remoción del amonio, pero ellas encaran altos costos energéticos, de operación y de cumplimiento con las cada vez más exigentes normas ambientales. Por ello se han evaluado y desarrollado nuevas tecnologías, una de las cuales es el proceso Anammox.

Además de su aplicación en la

remoción de amonio de aguas residuales, el proceso Anammox cumple un muy importante papel en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno en los ambientes terrestres (por ejemplo en suelos) y acuáticos, particularmente en los oceánicos (Shivaraman y Shivaraman, 2003).

## NATURALEZA Y CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DEL PROCESO ANAMMOX

La noción de que el amonio podía ser oxidado bajo condiciones anóxicas provino de cálculos basados en la proporción de Redfield en ecosistemas marinos y de consideraciones teóricas basadas en cálculos termodinámicos (Jetten *et al.*, 2004). Van de Graaf *et al.* (1995), demostraron la naturaleza biológica (microbiana) del proceso Anammox usando lodos sometidos a esterilización mediante tratamiento en autoclave y con la adición de cloramfenicol, ampicilina, 2,4-dinitrofenol, carbonil cianuro *m*-clorofenilhidrazona ((CCMP) y cloruro mercurico como inhibidores de actividad microbiana. Este nuevo proceso combina amonio y nitrito directamente en gas nitrógeno y puede ser representado mediante la ecuación  $NH_4^+ + NO_2^- = N_2 + 2H_2O$ . Los responsables de la reacción son las bacterias Anammox pertenecientes al grupo *Planctomycete*. Como características principales del proceso Anammox, Jetten *et al.* (1994), han señalado las siguientes: el proceso está caracterizado por un lento crecimiento y la interacción con otras bacterias, pues los microorganismos responsables dependen de una fuente cercana de nitrito. El tiempo de duplicación de las bacterias Anammox se ha encontrado que es de 11 días para condiciones óptimas y de 2 a 3 semanas en promedio. El rendimiento de biomasa de las bacterias Anammox es de unos 0,07 moles de C fijado/moles de amonio oxidado, aproximadamente el mismo que para la oxidación aeróbica del amonio y concuerda con el cambio en la energía libre de Gibbs de la reacción Anammox. Esto significa que la lenta tasa de

crecimiento de las bacterias Anammox es causada por una baja tasa de conversión de sustrato y no por una ineficiente conservación de la energía. Las bacterias Anammox son inhibidas reversiblemente por bajos niveles de oxígeno ( $< 1 \mu M$ ) e inhibidas irreversiblemente por altas concentraciones de nitrito ( $> 10 mM$ ). La hidrazina ( $N_2H_4$ ), conocida más como propelente de cohetes y altamente tóxica a la mayoría de las bacterias, es un intermediario clave en el proceso Anammox.

Las bacterias Anammox son bacterias cocoides con diámetro menor a  $1 \mu m$ , con un tiempo de generación de 10 a 30 días y son fisiológicamente diferentes de las demás bacterias del *phylum Planctomycetes*, pues son quimilitotrofos anaeróbicos estrictos. Tienen la capacidad de convertir amonio con nitrito como aceptor de electrones a gas nitrógeno, usando como intermediarios hidrazina e hidroxilamina ( $NH_2OH$ ). Esta reacción catabólica es desarrollada 15 veces para fijar una molécula de nitrógeno, conduciendo a la producción anaeróbica de nitrato en el anabolismo. El proceso Anammox es desarrollado en un compartimiento intracitoplasmático especializado denominado anammoxosoma (Van Niftrik *et al.*, 2004).

El uso de métodos moleculares ha revelado la existencia de tres géneros y seis especies de bacterias anammox: *Brocadia anammoxidans*, *Brocadia fulgidans*, *Kuenenia stuttgartensis*, *Scalindua wagneri*, *Scalindua brodae* y *Scalindua sorokinii* (Jetten *et al.*, 2004). Tal *et al.* (2006), demostraron la presencia de los géneros de bacterias anammox *Kuenenia*, *Brocadia* y *Scalindua* en un sistema de recirculación de aguas usadas para cultivo de peces marinos. *Anammoxoglobus propionicus* fue el nombre propuesto por Kartal *et al.* (2007), para una nueva especie de bacteria anammox capaz de oxidar propionato. Quan *et al.* (2008), determinaron la presencia de un reactor anammox de una nueva especie a la que denominaron tentativamente como

“*Jettenia asiática*”.

Li y Gu (2011), señalaron que los métodos de detección de las bacterias anammox se basan en sus características bioquímicas y fisiológicas, composición química celular, genes rARN 16S y genes funcionales selectivos como biomarcadores, incluyendo la hidrazina oxidoreductasa y la nitrito reductasa codificadas por los genes *hzo* y *nirS*, respectivamente.

#### APLICACIÓN DEL PROCESO ANAMMOX EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Güven *et al.* (2004), señalaron que en 511 días se logró remover el 90% del amonio y el 99% del nitrito de un agua residual sintética en un tanque con agitación completa. Isaka *et al.* (2007), señalaron por primera vez el cultivo exitoso de bacterias anammox en gel de polietilén glicol logrando una tasa promedio de conversión de 3,4 kg N/m<sup>3</sup> por día. Lamsam *et al.* (2008), determinaron una tasa máxima de remoción de nitrógeno de 0,6 kg N/m<sup>3</sup> x d, combinando procesos de lodo activado con nitrificación parcial y anammox. La aplicación del proceso Anammox en el tratamiento de lixiviados logró una remoción del 79,7% del nitrógeno, muy significativo si se considera la baja biodegradabilidad de la materia orgánica presente en los lixiviados, mediante la desnitrificación heterotrófica (López, 2008). Un bioreactor anaeróbico de flujo ascendente con actividad Anammox, logro una eficiencia en la remoción de nitrógeno del 94% (1.916 mg N x L/d) en 500 días (Viancelli *et al.*, 2011). La adición de bióxido de manganeso (MnO<sub>2</sub>) en polvo, tuvo el efecto de duplicar la tasa de remoción de nitrógeno (920,9 mg-N m<sup>3</sup>/d) en un proceso anammox (Qiao *et al.*, 2012). Tasas de remoción del N de 79,6% mediante el proceso Anammox, 12,7% para desnitrificación y de un 7,7% para otros mecanismos; fueron indicados por Chen *et al.* (2013), en un agua residual. Tang *et al.* (2013), señalaron que en un bioreactor anaeróbico de flujo ascendente, las tasas de remoción de amonio y nitrito fueron de 879 ± 64 y 1.124 ± 79 mg x l/d, respectivamente; indicando además que la estrategia de inoculación usando lodo de nitrificación con adición de lodo granular puede ser eficaz para la fase de inicio de reactores anammox.

#### EL PROCESO ANAMMOX EN ECOSISTEMAS MARINOS Y ESTUARINOS

Thamdrup y Dalsgaard (2002), demostraron que la oxidación anaeróbica del amonio (Anammox) explicó por el 24 y 67% de la producción total de nitrógeno (N<sub>2</sub>) en dos sitios típicos de la plataforma continental e indicaron que la importancia relativa de la oxidación anaeróbica del amonio y la desnitrificación en la producción de N<sub>2</sub>, parece estar regulada por la disponibilidad de sus sustratos reducidos; esto podría explicar las deficiencias de amonio en sedimentos y aguas anóxicas marinas. En la columna de agua del Gofo Dulce, Costa Rica, el

proceso anammox explicó por un 19-35% del total de la formación del N<sub>2</sub> (Dalsgaard *et al.*, 2003). Por el contrario, en sedimentos anóxicos de la costa de Escocia, no se detectaron secuencias de 16S rRNA característicos de las bacterias anammox (Freitag y Prosser, 2003). Kuypers *et al.*, (2003), estimaron que hasta 0,3 Tg de nitrógeno orgánico fijado por año, puede perderse a través de la reducción de nitrato acoplada al anammox, y que este proceso podría consumir más del 40% del nitrógeno fijado que se hunde en las aguas anóxicas del mar Negro.

Meyer *et al.* (2005), indicaron que la tasa potencial de la actividad anammox en sedimentos de un manglar, se incrementó con la distancia a la boca del río y se correlacionó fuertemente con producción de nitrito en el sedimento y con la concentración promedio del total de nitrito en la capa subóxica del sedimento. En experimentos de microcosmos de sedimentos de un fiordo danés, los resultados sugirieron que el proceso anammox tiene importancia limitada en ambientes que experimentan una periódica limitación de nitrógeno y que la ocurrencia de altas tasas de anammox en sedimentos costeros está limitada a estuarios con concentraciones permanentemente altas de NO<sub>x</sub> en la columna de agua (Risgaard-Petersen *et al.*, 2005). Tal *et al.* (2005), demostraron usando métodos moleculares la presencia de bacterias anammox en sedimentos del muelle de Baltimore y sus resultados sugirieron que esta vía juega un importante papel en el ciclo del nitrógeno de este ambiente estuarino. La actividad anammox medida en muestras de sedimentos, varió de 0,08 fmol/célula x d de N<sub>2</sub> en el Gofo Dulce, a 0,98 fmol/célula x d en el fiordo Gullmarsfjorden del mar del Norte; mostrando este estudio la presencia ubicua de bacterias anammox en los sistemas anóxicos marinos y su importancia en el ciclo del N (Schmid *et al.*, 2007). Rich *et al.* (2008), determinaron que la tasa de producción de N<sub>2</sub> a través del proceso Anammox varió del 0 al 22% en el sistema de la Bahía de Chesapeake y que hubo correlación de estos valores con las concentraciones de nitrato y salinidad. La investigación de bacterias anammox en las zonas de oxígeno mínimo (ZOM) de Namibia, Perú y Mar Árabe; reveló la presencia de clones estrechamente relacionados con el género *Scalindua*, incluyendo una nueva especie a la que denominaron *Scalindua arabica* (Woebken *et al.*, 2008). Koop-Jakobsen y Giblin (2009), determinaron que la producción de N<sub>2</sub> a través del anammox fue baja (< 3%) comparada con la desnitrificación en sedimentos de charcas salobres y que la carga de nitrógeno en la forma de nitrato no aumentó la importancia relativa del anammox. Kawagoshi *et al.* (2012), determinaron que a 25 °C la tasa de remoción de N<sub>2</sub> fue del 75% y del 55% a 20 °C en un cultivo de bacterias anammox de origen marino. Mediante la detección de biomarcadores y otras evidencias (coexistencia de nitrito y amonio), se logró determinar la presencia de bacterias anammox en el núcleo de la quimioclina en aguas de la fosa de Cariaco

(Wakeham et al., 2012). Mediante la detección del gen *hzsA* (hidrazina sintetasa) se evaluó la diversidad y abundancia de bacterias anammox en sedimentos profundos con actividad hidrotermal de la Cuenca de Guaymas evidenciándose la presencia del género *Scalindua* y que los números fueron mayores en los sedimentos ricos en hidrocarburos fríos que en las zonas de emisión hidrotermal (Russ et al., 2013).

## REFERENCIAS

- Chen, C., X. Huang, C. Lei, T. C. Zhang and W. Wu. 2013. Effect of organic matter strength on anammox for modified greenhouse turtle wastewater treatment. *Biores. Technol.* 148:172-179.
- Dalsgaard, T., D. E. Canfield, J. Petersen, B. Thamdrup and J. Acuña-González. 2003. N<sub>2</sub> production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica. *Nature*. 422:606-608.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1993. *Manual: Nitrogen control*. U. S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio, USA.
- Francis, C. A., J. M. Beman and M. M. Kuypers. 2007. *New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation*. The ISME J. 1:19-27.
- Freitag, T. E., and J. I. Prosser. 2003. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria within anoxic marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:1359-1371.
- Gruber, N., and J. N. Galloway. 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*. 451:293-296.
- Güven, D., K. van de Pass-Schoonen, M. C. Schmid, M. Strous, M. S. Jetten, S. Sözen, D. Orhon and I. Schmidt. 2004. Implementation of the Anammox process for improved nitrogen removal. *J. Environ. Sci. Health*. A39:1729-1738.
- Isaka, K, Y. Date, T. Sumino and S. Tsuneda. 2007. Ammonium removal performance of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria immobilized in polyethylene glycol gel carrier. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76:1457-1465.
- Jetten, M. S., I. Cirpus, B. Kartal, L. van Niftrik, K. T. van de Pas-Schoonen, O. Sliemers, S. Haaijer, W. van der Start, M. Schmid, J. van de Vossenberg, I. Schmidt, H. Harhangi, M. van Loosdrecht, J. G. Kuenen, H. O. den Camp and M. Strous. 2004. 1994-2004: 10 years of research on the anaerobic oxidation of ammonium. *Biochem. Soc. Transactions*. 33:119-123.
- Kawagoshi, Y., K. Fujisaki, Y. Tomoshige, K. Yamashiro and Y. Qiao. 2012. Temperature effect on nitrogen removal performance and bacterial community in culture of marine anammox bacteria derived from sea-based waste disposal site. *J. Biosci. Bioeng.* 113:515-520.
- Kartal, B., J. Rattray, L. A. van Niftrik, J. van de Vossenberg, M. C. Schmid, R. I. Webb, S. Schouten, J. A. Fuerst, J. S. Damsté, M. S. Jetten and M. Strous. 2007. *Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *System. Appl. Microbiol.* 30:39-49.
- Koop-Jakobsen, K., and A. E. Giblin. 2009. Anammox in tidal marsh sediments: The role of salinity, nitrogen loading, and marsh vegetation. *Estuaries and Coasts*. 32:238-245.
- Kuypers, M. M., A. O. Sliemers, G. Lavik, M. Schmid, B. B. Jorgensen, J. G. Kuenen, J. S. Damsté, M. Strous and M. S. Jetten. 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature*. 422:608-611.
- Lamsam, A., S. Laohaprapanon and A. P. Annachhatre. 2008. Combined activated sludge with partial nitrification (AS/PN) and anammox processes for treatment of seafood processing wastewater. *J. Environ. Sci. Health*. 43:1198-1208.
- Li, M., and J. Gu. 2011. Advances in methods for detection of anaerobic ammonium oxidizing (anammox) bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 90:1241-1252.
- López C., H. 2008. *Desarrollo del proceso Anammox para el tratamiento de lixiviados: Puesta en marcha y aplicación*. Tesis Doctoral. Universidad de Girona, Laboratorio de Ingeniería Química y Ambiental. Girona, España. 180 p.
- Meyer, R. L., N. Risgaard-Petersen and D. E. Allen. 2005. Correlation between anammox activity and microscale distribution of nitrite in a subtropical mangrove sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:6142-6149.
- Qiao, S., Z. Bi, J. Zhou, Y. Cheng, J. Zhang and Z. Bhatti. 2012. Long term effect of MnO<sub>2</sub> powder addition on nitrogen removal by anammox process. *Biores. Technol.* 124:520-525.
- Quan, Z., S. Rhee, J. Zuo, Y. Yang, J. Bae, J. R. Park, S. Lee and Y. Park. 2008. Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor. *Environ. Microbiol.* 10:3130-3139.
- Rich, J. J., O. R. Dale, B. Song and B. B. Ward. 2008. Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in Chesapeake Bay sediments. *Microb. Ecol.* 55:311-320.
- Risgaard-Petersen, N., R. L. Meyer and N. P. Revsbech. 2005. Denitrification and anaerobic ammonium oxidation in sediments: effects of microphytobenthos

- and  $\text{NO}_3^-$ . *Aquatic Microb. Ecol.* 40:67-76.
- Russ, L., B. Kartal, H. J. M. op den Camp, M. Sollai, J. Le Brunchech, J. Caprais, A. Godfroy, J. S. S. Damsté and M. S. Jetten. 2013. Presence and diversity of anammox bacteria in cold hydrocarbon-rich seeps and hydrothermal vents sediments of the Guaymas Basin. *Frontiers Microbiol.* 4:1-10.
- Schmid, M. C., N. Risgaard-Petersen, J. van de Vossenbergh, M. M., Kuypers, G. Lavik, J. Petersen, S. Hulth, B. Thamdrup, D. Canfield, T. Dalsgaard, S. Rysgaard, M. K. Sejr, M. Strous, H. J. M. Op den Camp and M. S. Jetten. 2007. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine environments: widespread occurrence but low diversity. *Environ. Microbiol.* 9:1476-1484.
- Shivaraman, N., and G. Shivaraman. 2003. Anammox – A novel microbial process for ammonium removal. *Curr. Sci.* 84:1507-1508.
- Tal, Y., J. E. Watts and H. J. Schreier. 2005. Anaerobic ammonia-oxidizing bacteria and related activity in Baltimore inner harbor sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:1816-1821.
- Tal, Y., J. E. Watts and H. J. Schreier. 2006. Anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria and associated activity in fixed-film biofilters of a marine recirculating aquaculture system. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:2896-2904.
- Tang, C., P. Zheng, L. Chai and X. Min. 2013. Characterization and quantification of anammox start-up in UASB reactors seeded with conventional activated sludge. *Int. Biodeterioration Biodegradation.* 82:141-148.
- Thamdrup, B., and T. Dalsgaard. 2002. Production of  $\text{N}_2$  through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1312-1318.
- Van de Graaf, A. A., A. Mulder, P. de Bruijn, M. S. Jetten, L. A. Robertson and J. G. Kuenen. 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1246-1251.
- Van Niftrik, L. A., J. A. Fuerst, J. S. Sinninghe Damsté, J. G. Kuenen, M. S. Jetten and M. Strous. 2004. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 233:7-13.
- Viancelli, A., A. Kunz, P. A. Esteves, F. V. Bauermann, K. Furukawa, T. Fujii, R. V. Antonio and M. Vanotti. 2011. Bacterial biodiversity from an anaerobic up flow bioreactor with Anammox activity inoculated with swine sludge. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 54:1035-1041.
- Wakeham, S. G., C. Turich, F. Schubotz, A. Podlaska, X. N. Li, R. Varela, Y. Astor, J. P. Sáenz, D. Rush and J. S. Damsté. 2012. Biomarkers, chemistry and microbiology show chemoautotrophy in a multilayer chemocline in the Cariaco Basin. *Deep-Sea Res I.* 63:133-156.
- Woebken, D., P. Lam, M. M. Kuypers, S. W. Naqvi, B. Kartal, M. Strous, M. S. Jetten, B. M. Fuchs and R. Amann. 2008. A microdiversity study of anammox bacteria reveals a novel *Candidatus Scalindua* phylotype in marine oxygen minimum zones. *Environ. Microbiol.* 10:3106-3119.



## Granito Multicolor Vinotinto

Producido por la empresa Técnica Marmolera Venezolana, C. A.  
en la cantera El Chivito en el municipio Heres del estado  
Bolívar, Venezuela.