

Rayra Emanuely da Costa

ESTUDO COMPARATIVO DAS TECNOLOGIAS DE BIORREATOR À MEMBRANA DE LEITO MÓVEL E BIORREATOR À MEMBRANA CONVENCIONAL NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO: AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES E DA COLMATAÇÃO DAS MEMBRANAS OPERANDO OS REATORES EM BATELADA SEQUENCIAL.

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Ambiental.
Orientador: Prof. Dr. Flávio Rubens Lapolli

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Costa, Rayra Emanuely da
ESTUDO COMPARATIVO DAS TECNOLOGIAS DE BIORREATOR
À MEMBRANA DE LEITO MÓVEL E BIORREATOR À MEMBRANA
CONVENCIONAL NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO :
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES E
DA COLMATAÇÃO DAS MEMBRANAS OPERANDO OS REATORES EM
BATELADA SEQUENCIAL. / Rayra Emanuely da Costa ;
orientador, Flávio Rubens Lapolli, 2018.
224 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis,
2018.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Tratamento de esgoto
sanitário. 3. Remoção de Nutrientes. 4. Biorreator à
membrana de leito móvel. 5. Colmatação das membranas.
I. Lapolli, Flávio Rubens. II. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Ambiental. III. Título.



TERMO DE APROVAÇÃO

“Estudo comparativo das tecnologias de biorreator a membrana de leito móvel e biorreator a membrana convencional no tratamento de esgoto sanitário: avaliação do desempenho na remoção de nutrientes e da colmatação das membranas operando os reatores em batelada sequencial”

Rayra Emanuely da Costa

A Tese foi julgada e aprovada pela banca examinadora no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

DOCTORA EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Aprovado por:

Prof. Dr. Flávio Rubens Lapólli
(Orientador)

Prof.ª Dr.ª Maria Eliza Nagel Hassemer

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Mohedano

Prof. Dr. Carlos Magno de Sousa Vidal

Prof.ª Dr.ª Maria Eliza Nagel Hassemer
(Coordenadora)

Aos meus pais e irmão, a quem considero minha estrutura.
Ao Tiago e Isadora, que entraram em meu mundo e ali fizeram
transformações maravilhosas.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Flávio Rubens Lapolli, orientador dessa tese, por me receber de braços abertos em seu grupo de pesquisa, por acreditar no meu trabalho e por ser sempre tão acessível. Ao senhor fica um grande sentimento de gratidão, não somente por possibilitar a realização de um sonho na forma de doutorado, mas também pela oportunidade em reunir a família a qual acabava de se iniciar.

Aos meus pais e anjos da guarda, Raimundo e Luzia, por sempre participarem ativamente na busca pela minha felicidade e por estarem sempre dispostos a realizar os meus sonhos. Amo muito vocês!

Ao meu irmão, Henrique, pela importância que tem em minha vida.

Ao Tiago, meu companheiro, por todo o suporte acadêmico que me presta desde os tempos da faculdade, passando pelo mestrado e agora aqui pelo doutorado. Agradeço por toda sua dedicação em tornar meus problemas menores e meus fardos mais leves. Seu apoio, amor e paciência nos constantes momentos de desespero me trouxeram até aqui.

À minha filha, Isadora, que me motiva sempre a buscar a melhor versão de mim mesma, para que eu seja sempre um bom exemplo a ser seguido. Obrigada por sempre entender que você não era filha única e que a mamãe tinha que dar atenção também para a Ruth e a Raquel (os reatores). Agora a atenção é toda sua!

Ao melhor time de todos os tempos, os Vikings: Túlio Campos, Gustavo Simon, Luigi Bogoni e Vinicius Nascimento, alunos de iniciação científica e Ana Beatriz Alves, aluna de TCC. Obrigada pela ajuda incondicional nas análises laboratoriais e nos cuidados com a Ruth e a Raquel. Sempre lembrarei com muito carinho e fome dos finais de tarde comendo bolo e pipoca em comemoração ao final de um dia de muito trabalho. Sem vocês não seria tão divertido. Valeu time!

Aos alunos que participaram e aos que ainda fazem parte da equipe do LaRA: Jossy Brasil, Ronaldo Kellner, Naiara Justino, Fernanda Poersch, Dámaris Núñez, Emerson Souza, Bruna Menon pelas trocas de informações, ajuda, trabalhos realizados em conjunto e momentos de descontração. Em especial, ao André Battistelli por sempre ser tão solícito e por quebrar um tronco nos diversos momentos de apuro e a Daniele da Silveira pelo auxílio nas análises de granulometria e biologia molecular.

À Caroline Rodrigues e a Pauline Amaral, queridas amigas com quem tive o prazer de dividir momentos de alegrias, desespero e devaneios. Muito obrigada Carol pelas palavras de apoio e incentivo e por estar sempre disposta a ajudar. Pauline acho que o nosso vício em *candy crush* foi tão forte que agora somos aspirantes a confeitadeira!

Às minhas amigas de longa data, Diana e Elise, que tanto ouviram meus desabaços e me deram palavras de conforto nos momentos mais difíceis.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade de Santa Catarina, a todos os professores e funcionários, em especial aos seus secretários por serem tão prestativos e dispostos a ajudarem nos momentos de maior aperto.

Aos funcionários do LIMA, por toda assistência em laboratório.

Ao Professor Dr. João Paulo Bassin, por compartilhar seus preciosos conhecimentos na área de remoção de nutrientes de forma tão generosa, bem como todo auxílio e colaboração na elaboração dos artigos científicos.

Ao seu Hélio Pinheiro, por construir meu sistema experimental da UFSC com tanto capricho e criatividade e por realizar todos os ajustes necessários ao longo da pesquisa.

Aos membros da banca avaliadora, Maria Eliza N. Hassemer, Rejane H. R. da Costa e Carlos M. S. Vidal pela disponibilidade e contribuição para o aprimoramento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão dos recursos necessários ao desenvolvimento dessa pesquisa e pela bolsa de doutorado.

À Deus, por sua presença constante em minha vida e por sempre colocar pessoas tão especiais no meu caminho nos momentos de maior conflito.

RESUMO

A remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, presentes nos despejos domésticos ou industriais, ganhou especial atenção nos últimos anos, uma vez que estão diretamente relacionados com a eutrofização dos ecossistemas aquáticos. Nesse sentido, o estudo e desenvolvimento de novas tecnologias de tratamento de esgoto que sejam capazes de produzir um efluente tratado com mínimo residual de poluentes assume grande importância. Nesse sentido, a presente pesquisa buscou avaliar comparativamente a utilização da tecnologia de biorreator à membrana convencional (BRM) e de leito móvel (BRM-LM) operados em batelada sequencial objetivando a remoção de nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário. Tal avaliação foi conduzida em dois reatores idênticos (BRMBS e BRMBS-LM), construídos em escala laboratorial e submetidos as mesmas condições operacionais, exceto pela presença de material suporte em um dos reatores (BRMBS-LM). A unidade experimental foi operada por 352 dias, nos quais foram avaliados: (1) o desempenho dos reatores durante o período de partida; (2) o efeito da redução do tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 h para 6 h e (3) o efeito da utilização de alta (4 mg L^{-1}) e baixa ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$) concentração de oxigênio dissolvido (OD). Observou-se que ambos os reatores apresentaram desempenho similar durante o período de partida, alcançando eficiências de remoção de matéria orgânica, amônia, nitrogênio (NT) e fósforo total (PT) próximos a 96%, 99%, 70% e 85%, respectivamente. Resultados obtidos nas análises de ciclo revelaram que a contribuição da biomassa aderida para a remoção global de amônia no reator híbrido foi secundária, nessa etapa. Além disso, melhores condições de filtrabilidade foram observadas no licor misto do BRMBS-LM em comparação ao BRMBS. No que diz respeito à redução do TDH de 12 para 6 h, verificou-se uma melhora na remoção nitrogênio total em ambos os reatores, principalmente no BRMBS-LM, onde as zonas anóxicas podem ter sido estabelecidas no biofilme. Por outro lado, a remoção de PT aumentou apenas no BRMBS. A redução do TDH também resultou em maiores velocidades de colmatação das membranas em ambos reatores, principalmente no BRMBS, onde o aumento de produtos microbianos solúveis e de bactérias filamentosas foram mais significativos. Por fim, observou-se que ambos os reatores apresentaram uma queda no desempenho de processo de nitrificação a medida que o oxigênio dissolvido da fase aeróbia foi reduzido para o valor máximo de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. Tal cenário evidenciou-se principalmente

no BRMBS, em que a eficiência média de remoção de amônia decaiu para 68%, enquanto que no BRMBS-LM para 88%. Além disso, a remoção de nitrato melhorou significativamente no reator de leito móvel sob condição de menor concentração de OD. Da mesma forma, observou-se que o potencial de remoção anóxica e aeróbia de fósforo aumentou substancialmente nesse reator. Por outro lado, a operação dos reatores sob OD máximo de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ resultou em maiores velocidades de colmatação das membranas. De maneira geral, esses resultados sugerem que o BRMBS-LM exibiu uma maior capacidade de suportar as condições de oxigênio limitantes, evidenciando uma característica importante desse reator para fins de economia de energia sem prejudicar de maneira substancial o desempenho do tratamento.

Palavras-chave: Nitrificação. Desnitrificação. Biorreator à membrana. Colmatação. Batelada sequencial. Leito móvel. Esgoto sanitário.

ABSTRACT

The removal of nutrients (namely nitrogen and phosphorus) has gained special attention in recent year as they are directly related to the eutrophication of aquatic ecosystems. Thus, the study and development of new wastewater treatment technologies that are capable to produce an effluent with minimal residual pollutants assumes great importance. Hence, the present study aimed to evaluate the use of membrane bioreactor (MBR) and moving bed membrane bioreactor (MBR-MB) operated in parallel and in sequencing batch mode to removing nitrogen and phosphorus from municipal wastewater. This evaluation was conducted in two identical reactors (SB-MBR and SB-MBMBR), built at lab-scale and subjected to the same operating conditions, differentiating them only by the presence of plastic carriers in one of the reactors (SB-MBMBR). The reactors were operated for 352 days, in which the evaluated: (1) the reactors performance during the start-up period; (2) the reduction of hydraulic detention time from 12 h to 6 h and (3) the reactors performance under two dissolved oxygen concentration in the aerobic phase. It was observed that both reactors presented similar performance during the startup period, reaching efficiencies of removal close to 96%, 99%, 70% and 85% for organic matter, ammonia, total nitrogen (TN) and phosphorus, respectively. Results obtained in the cycle analysis revealed that the contribution of the adhered biomass to the global removal of ammonia in the hybrid reactor was marginal. Better filtrability conditions were observed in SB-MBMBR mixed liquor. With regard to the reduction of HRT from 12 to 6 h improved the total nitrogen removal in both reactors, mainly in SB-MBMBR, where the anoxic zones may have been established in the biofilm. On the other hand, total phosphorus removal increased only in conventional SB-MBR. The HRT reduction also leded in higher membrane fouling rate in both reactors, especially in the conventional SB-MBR, which the increase of soluble microbial products and filamentous bacteria were more significant. At last, it was observed that both reactors showed a poorer performance in the nitrification process as the oxygen dissolved in the aerobic phase was reduced to the maximum value of 1.5 mg L^{-1} . This scenario was evidenced mainly in the conventional SB-MBR, in which the average ammonia removal efficiency dropped to 68%, while in SB-MBMBR the average efficiency decreased to 88%. In addition, the nitrate removal significantly improved in the SB-MBMBR under the lower dissolved oxygen condition. Likewise, it was observed that the anoxic and aerobic

phosphorus removal potential increased substantially in the SB-MBMBR. On the other hand, the operation of the reactors under the maximum OD of 1.5 mg L^{-1} resulted in higher membrane fouling rates. Overall, the results found suggest that SB-MBMBR exhibited a greater ability to support the oxygen-limited conditions, evidencing an important feature of this reactor configurations for energy saving purposes.

Keywords: nitrification; denitrification; phosphorus removal, membrane bioreactor, membrane fouling; sequencing batch, moving bed, municipal wastewater.

LISTA DE FIGURA

Figura 1- Configurações de biorreatores à membrana.	32
Figura 2- Possíveis configurações dos BRM aplicados na remoção de nutrientes	34
Figura 3- Sequência operacional de um reator em batelada sequencial	36
Figura 4- Etapas de um BRM operado em bateladas sequenciais	37
Figura 5- Funcionamento das variantes do processo MBBR	40
Figura 6- Configurações de reator de leito móvel quando acoplados aos biorreatores à membrana	44
Figura 7- Etapas da formação de biofilmes	48
Figura 8 - Representação das transformações bioquímicas envolvidas no processo EBPR	55
Figura 9 - Representação das transformações bioquímicas realizadas pelas GAOs.....	56
Figura 10 – Representação esquemática da unidade experimental	60
Figura 11 –Material suporte AMB BioMedia TM utilizado no BRMBS-LM.....	60
Figura 12- Unidade experimental: (a) imagem lateral (b) frontal	61
Figura 13- (a) Imagem do módulo de membranas e (b) Representação esquemática do módulo de membranas utilizado.	62
Figura 14– Representação esquemática da captação do esgoto sanitário para alimentação do reator.	69
Figura 15– Pontos a serem amostrados na unidade experimental	72
Figura 16- Representação esquemática da sequência metodológica para obtenção de biofilme para quantificação de ST e SV.....	75
Figura 17- Representação esquemática da sequência metodológica para obtenção do SMP e EPS com amostras do licor misto.....	78
Figura 18-Representação esquemática da sequência metodológica para obtenção do EPS com amostra de biofilme	79
Figura 19– Representação da distribuição das amostras para os ensaios de PAO e DPAO.	81
Figura 20- Representação esquemática da sequência metodológica utilizada nos ensaios de determinação da atividade aeróbia e anóxica dos microrganismos acumuladores de fosfato para biomassa suspensa e aderida	83
Figura 21- Representação esquemática da sequência metodológica para a determinação da velocidade de consumo de amônia (VCA).....	85
Figura 22- Aparato experimental utilizado nos ensaios de respirometria	87

Figura 23- Representação esquemática da sequência metodológica para a determinação das TCOs dos reatores	89
Figura 24- Representação esquemática do aparato experimental utilizado para determinação do MFI	91
Figura 25 – Distribuição dos resultados obtidos na presente pesquisa .	93
Figure 26 - Experimental setup used in this study: a) SB-CMBR and b) SB-HMBR	99
Figure 27 - Average values of mixed liquor suspend solids (MLSS), mixed liquor volatile suspend solids (MLVSS) in SB-CMBR and SB-HMBR and total attached solids (TAS) and volatile attached solids (VAS) in SB-HMBR. Error bars indicate the standard deviation.	103
Figure 28 - (a) COD, (b) TN, (c) NH_4^+ -N and (d) TP concentration in influent and effluent from each reactor.	106
Figure 29 - Perceptual of COD removal in (a) anaerobic phase and (b) aerobic phase for each reactor during the operational days.	107
Figure 30 - Image of plastic media covered by biofilm (taken from the SB-HMBR on operational day 60).....	109
Figure 31 - PO_4^{3-} -P, dissolved organic carbon (DOC), NH_4^+ -N and dissolved oxygen (DO) concentration profiles in (a) SB-CMBR and (b) SB-HMBR during the operating cycle on day 60.	111
Figure 32 - P-release (anaerobic phase) and P-uptake (aerobic or anoxic phase) obtained in batch tests for determination of the maximum (a) aerobic and (b) anoxic phosphate uptake rates in each reactor.	114
Figure 33 - Relative abundance at phylum (a) and genus (b) level in the inoculum, suspended biomass in SB-CMBR, suspended and attached biomass (biofilm) in SB-HMBR at day 60.	116
Figure 34 - Transmembrane pressure (TMP) profile in SB-CMBR and SB-HMBR over the experimental period.....	119
Figure 35 - (a) COD, (b) NH_4^+ -N, (c) TN and (d) TP concentration effluent of each reactor, and their respective removal efficiency. HRT was set at 12 h and 6 h in run I and I, respectively.	135
Figure 36 - Average concentrations of COD at the end of the feeding, anoxic/anaerobic and aerobic phases in each experimental run (error bars indicate the standard deviation). HRT was set at 12 h and 6 h in run I and II, respectively.	137
Figure 37 - PO_4^{3-} -P concentration profiles in SB-CMBR and SB-HMBR during an operating cycle at HRT of 12 h (Run I) and 6 h (Run II). An/An: anoxic/anaerobic phase; Aer: aerobic phase; Aer/fil: aeration/filtration phase.....	141

Figure 38 - P-uptake rates achieved with the attached and suspended biomass in the batch tests carried out during the reactors operation at HRT of 12 h (Run I) and 6 h (Run II).	142
Figure 39 - Relative abundance at genus level in the suspended biomass in SB-CMBR and SB-HMBR and attached biomass in SB-HMBR (biofilm) for HRT of 12 and 6 h.	144
Figure 40 - Transmembrane pressure (TMP) behaviour in SB-CMBR (a) and in SB-HMBR and the respective membrane fouling rate (MFR) in both reactors (c).	147
Figure 41 - Optical microscopy image of the mixed liquor suspended solids from SB-CMBR at HRT of 6 h.	150
Figure 42 - (a) COD, (b) $\text{NH}_4^+\text{-N}$, (c) TN and (d) TP concentration in influent and effluent from each reactor over the experimental period.	160
Figure 43 - Anoxic/anaerobic and aerobic COD consumption of both reactors taking into account the available COD at the end of the respective feeding phases.	161
Figure 44 - Average soluble COD at the end of aerobic phase, permeate and the respective COD retained by membrane filtration in each reactor during experimental run I and II.	162
Figure 45 - Heterotrophic and autotrophic oxygen uptake rate (OUR) for each reactor in runs I and II.	163
Figure 46 - Average values of mixed liquor volatile suspend solids (MLVSS) in the SB-CMBR and SB-HMBR and volatile attached solids (VAS) in the SB-HMBR.	164
Figure 47 - $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ concentration profiles during an operating cycle in run I (day 65) and II (day 142). An/An: anoxic/anaerobic phase. Ae: aeration phase. Ae/Fil: aeration/filtration phase.	168
Figure 48 - Phosphate uptake rate (PUR) and specific phosphate uptake rate (SPUR) under aerobic and anoxic condition for each reactor under high (run I) and low (run II) dissolved oxygen condition.	169
Figure 49 - (a) Average values of membrane fouling rate (MFR), (b) transparent exopolymer (TEP), (c) protein (d) polysaccharide and (e) sludge floc size for each reactor at high (run I) and low (run II) dissolved oxygen conditions.	172
Figura 50 - Tempo de mistura durante etapa anóxica/anaeróbia e aeróbia para o reator BRMBS.	221
Figura 51- Tempo de mistura durante etapa anóxica/anaeróbia e aeróbia para o reator BRMBS-LM.	222
Figura 52 – perfil das concentrações de oxigênio dissolvido durante os ensaios para determinação da velocidade de oxigenação.	223
Figura 53 - Permeabilidade hidráulica dos módulos utilizados.	224

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diferentes tipos de materiais suporte comercializados.	46
Tabela 2 - Condições recomendadas ao processo de nitrificação.	51
Tabela 3 - Especificações técnicas do módulo de membranas.....	63
Tabela 4 - Parâmetros operacionais empregados nas estratégias E-1, E-2 e E-3.	65
Tabela 5 - Análises empregadas para o monitoramento dos BRMs.....	71
Tabela 6 - Parâmetros analisados em diferentes pontos amostrados.....	72
Tabela 7 - Parâmetros analisados, métodos analíticos e frequência de amostragem.	73
Table 10 - NH_4^+ -N, TN, COD and TP concentration in the influent and effluent of SB-CMBR and SB-HMBR.....	104
Table 11 - Phosphate uptake rate (PUR) and specific phosphate uptake rate (SPUR) under aerobic and anoxic condition for each reactor at day 60.....	113
Table 12 - Sludge characteristics, soluble microbial products (SMP) and soluble COD values in each reactor.	121
Table 13 - Wastewater characteristics in each experimental run.	128
Table 14 - SBR cycle profile, hydraulic retention time (HRT) and the respective organic loading rate (OLR) in each experimental run.....	128
Table 15 - F/M and MLVSS values for each reactor at run I and II....	134
Table 16 - Ammonium uptake rate (AUR) and autotrophic/heterotrophic oxygen uptake rate (OUR) for each reactor in runs I and II.....	139
Table 17 - Theoretical autotrophic oxygen uptake rates (OUR).	140
Table 18 - Membrane fouling, mixed liquor filterability and sludge characteristics for each reactor in runs I and II.	148
Table 19 - Wastewater characteristics in each experimental run.	156
Table 20 – Operational conditions applied in each experimental run for both reactors	156
Table 21 - NH_4^+ -N, TN, COD and TP effluent concentration of both reactors and its removal efficiencies.	166

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ATU	Alitiouréia
BRM	Biorreator à membrana
BRM	Biorreator à membrana convencional
BRMH	Biorreator a membrana híbrido
BRM-LM	Biorreator à membrana de leito móvel
BRMBS	Biorreator à membrana em batelada sequencial
BRMBS-LM	Biorreator à membrana de leito móvel em batelada sequencial
COD	Carbono orgânico dissolvido
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQO	Demanda química de oxigênio
DPAO	Organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes
EPS	<i>Extracellularpolymericsubstances</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente
GAO	Organismos acumuladores de glicogênio
LaRA	Laboratório de Reuso de Águas
LIMA	Laboratório Integrado do Meio Ambiente
MFI	Índice de incrustação da membrana
NDS	Nitrificação e desnitrificação simultânea
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio amoniacal
N-NO ₂ ⁻	Nitrogênio nitrito
N-NO ₃ ⁻	Nitrogênio Nitrato
OD	Oxigênio dissolvido
P-Absorção	Fósforo absorvido
P-Liberação	Fósforo liberado
PAO	Organismos acumuladores de fósforo
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
P-PO ₄ ³⁻	Fosfato
PTM	Pressão transmembrana
PUR	Taxa de consumo de fósforo
RBS	Reator em batelada sequencial
SMP	Produto microbiano solúvel
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
TCO	Taxa de consumo de oxigênio
TCOe	Taxa de consumo de oxigênio específica

TDH	Tempo de detenção hidráulica
TEP	Exopolímeros transparentes
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VCA	Velocidade de consumo de amônia
θ_c	Idade do lodo

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	25
1.1	HIPÓTESES DA PESQUISA.....	28
1.2	OBJETIVOS.....	29
1.2.1	Objetivo Geral.....	29
1.2.2	Objetivos Específicos.....	29
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1	BIORREATORES À MEMBRANAS PARA TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO.....	31
2.1.1	Biorreatores à membrana operados em batelada sequencial.....	34
2.1.2	Biorreatores à membrana de leito móvel (BRM-LM)/ Biorreatores à membrana híbrido de leito (BRMH) operados em batelada sequencial (BRMBS-LM).....	39
2.1.2.1	Suportes utilizados e fração de enchimento (%).....	45
2.1.2.2	Formação do biofilme nos suportes móveis.....	47
2.2	REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES: NITRIFICAÇÃO, DESNITRIFICAÇÃO E BIODESFOSFATAÇÃO.....	49
2.2.1	Remoção biológica de nitrogênio: Nitrificação e desnitrificação.....	49
2.2.2	Remoção biológica de fósforo: Biodesfosfatação.....	53
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	59
3.1	UNIDADE EXPERIMENTAL.....	59
3.2	OPERAÇÃO DOS REATORES.....	63
3.2.1	Estratégias Operacionais.....	64
3.3	CARACTERIZAÇÃO HIDRODINÂMICA DOS BRMs.....	66
3.3.1	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (KLa).....	66
3.3.2	Determinação do Tempo de mistura dos BRM.....	68
3.4	INOCULAÇÃO, ALIMENTAÇÃO, CONTROLE DA IDADE DO LODO E LIMPEZA DAS MEMBRANAS.....	68
3.4.1	Inoculação e partida dos reatores.....	68
3.4.2	Alimentação dos reatores.....	69
3.4.3	Controle da idade do lodo.....	70
3.4.4	Limpeza das membranas.....	70
3.5	MONITORAMENTO DOS BRMs.....	71
3.5.1	Monitoramento de parâmetros relacionados à remoção de nutrientes.....	71

3.5.1.1	Eficiência do BRM	71
3.5.1.2	Análise de ciclo.....	74
3.5.1.3	Obtenção e quantificação do biofilme	74
3.5.1.4	Avaliação da comunidade microbiana	75
3.5.1.5	Sequenciamento genético bacteriano de nova geração	76
3.5.1.6	Microscopia óptica.....	76
3.5.2	Monitoramento de parâmetros relacionados ao potencial incrustante do licor misto.....	77
3.5.2.1	Substâncias poliméricas extracelulares (<i>extracellular polymeric substances</i> -EPS) e produto microbiano solúvel (<i>soluble microbial products</i> -SMP)	77
3.5.2.2	Granulometria por difração a laser	79
3.6	ENSAIOS PONTUAIS DE BANCADA.....	80
3.6.1	Ensaio de bancada com a biomassa dos reatores.....	80
3.6.1.1	Determinação da atividade dos Organismos Acumuladores de Fósforo (PAO) e Organismos Acumuladores de Fósforo Desnitrificantes (DPAO).	81
3.6.1.2	Determinação da velocidade de consumo de amônia (VCA)	84
3.6.1.3	Respirometria - Determinação da taxa de consumo de oxigênio (TCO) por bactérias autotróficas e heterotróficas.....	85
3.6.2	Ensaio de bancada para avaliação do potencial incrustante do licor misto.	90
3.6.2.1	Índice de incrustação da membrana (<i>Membrane Fouling Index</i> -MFI).....	90
3.6.2.2	Tempo de sucção capilar (<i>Capillary suction time</i> -CST) ..	91
3.6.2.3	Índice volumétrico do lodo diluído (IVL diluído)	92
3.7	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	92
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
4.1	ARTIGO 1	94
4.1.1	Introduction.....	95
4.1.2	Material and Methods	97
4.1.3	Results and discussion	102
4.1.4	Conclusions.....	121
4.2	ARTIGO 2	123
4.2.1	Introduction.....	124
4.2.2	Material and Methods	127
4.2.3	Results and discussion	133
4.2.4	Conclusions.....	150
4.3	ARTIGO 3	151
4.3.1	Introduction.....	152

4.3.2	Material and Methods	155
4.3.3	Results and discussion.....	159
4.3.4	Conclusions.....	173
4.4	SÍNTESE DOS RESULTADOS OBTIDOS.....	174
5.	CONCLUSÕES	181
6.	RECOMENDAÇÕES	183
	REFERÊNCIAS	185
	APÊNDICE A	221

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, os números do sistema nacional de informações sanitárias (SNIS, 2017) mostram que o déficit em relação aos serviços de esgotamento é bastante elevado no país, em que apenas 58% da população urbana está conectada à rede coletora, sendo longa, portanto, à distância a ser percorrida até atingirmos a universalização desse serviço. Muito embora tenha ocorrido o aumento de investimentos nessa área e melhora nos índices de atendimento à população, segundo esses mesmos dados, somente 42,7% do total de esgoto produzido recebem algum tipo de tratamento, sendo todo o restante, cerca de 4 bilhões de litros, despejados diariamente nos cursos d'água.

Uma vez lançado, esses despejos ricos em matéria orgânica e nutrientes, dos quais destacam-se o nitrogênio e o fósforo, podem alterar as características físicas, químicas e biológicas do corpo receptor, comprometendo, muitas vezes, os seus usos múltiplos. No caso dos nutrientes em particular, a emissão em excesso tem levantado preocupações específicas, devido aos seus efeitos prejudiciais para os organismos aquáticos e à saúde da população abastecida por essas águas. Dentre eles destaca-se o processo conhecido como eutrofização, em que o crescimento abundante de algas e cianobactérias resultam na diminuição da transparência da água, redução da atividade fotossintética, depleção de oxigênio, produção de sabores e odores, bem como na produção de compostos tóxicos, como as cianotoxinas.

Nota-se, portanto, que assim como a ampliação dos serviços de coleta, a utilização de sistemas eficazes no tratamento das águas residuárias são de suma importância não somente para garantir um abastecimento seguro no que diz respeito a doenças de veiculação hídrica, mas também no amortecimento dos impactos ambientais que comprometem a capacidade de suporte do ecossistema aquático, que se mostra tão fragilizado.

Conforme destacado por Galil et al. (2009), mesmo com a adoção de padrões de qualidade da água mais restritivos, os processos biológicos de remoção de nutrientes continuam a ser amplamente aceitos. Ademais, oferece inúmeras vantagens quando comparada à remoção quimicamente forçada, incluindo menor custo operacional, operação flexível e pouca ou nenhuma adição de produtos químicos no licor misto (OEHMEN et al., 2007).

Nos sistemas biológicos, a remoção de nitrogênio envolve a nitrificação por bactérias autotróficas em condições aeróbias e

desnitrificação por bactérias heterotróficas em condições anóxicas (Metcalf and Eddy, 2003). Por sua vez, a remoção biológica otimizada de fósforo, também denominada EBPR (do inglês, *enhanced biological phosphorus removal*), é alcançada pela absorção de fosfato via organismos acumuladores de fósforo (PAO, do inglês *polyphosphate-accumulating organisms*) por meio da alternância das condições anaeróbias e aeróbias, seguida da sua remoção pelo descarte da biomassa (Bassin *et al.*, 2012).

Nos sistemas convencionais que visam à remoção de nutrientes, verificam-se três fases sequenciais realizadas em unidades distintas, sendo elas: anaeróbia, anóxica e aeróbia, seguida de um decantador secundário. Contudo, nas últimas décadas, pesquisadores têm explorado alternativas com sistemas mais compactos e com tanques de menor volume, gerando assim redução de custos e de complexidade operacional. Dentre as alternativas disponíveis, destacam-se os reatores operados em bateladas sequenciais (RBS), que constituem uma das tecnologias capazes de proporcionar as condições necessárias à remoção biológica de nutrientes e matéria carbonácea em uma única unidade de tratamento, com ciclos operacionais definidos, sem a necessidade de recirculação de efluente (CYBIS *et al.*, 2004).

Embora os reatores RBS apresentem grande vantagem quanto a sua flexibilidade operacional, sabe-se que a clarificação do efluente por meio da sedimentação gravitacional, comumente praticada nesses reatores, pode ser considerada hoje pouco eficiente, se comparada a clarificação obtida por meio da filtração em membranas. Caso se tenha no reator a presença excessiva de bactérias filamentosas, fenômeno conhecido como *bulking* filamentosos, a sedimentação da biomassa era negativamente afetada, comprometendo assim o desempenho do tratamento. Nesse sentido, a inserção da tecnologia de membranas filtrantes aos reatores RBS tende a promover um processo de separação da biomassa mais eficiente e confiável, não sendo mais afetado pelo possível excesso de filamentosas. Dessa união entre RBS e membranas, surgem então os modernos biorreatores à membrana em Batelada sequencial (BRMBS), em que a etapa de sedimentação é substituída por um processo de filtração por membranas. Em consequência, algumas vantagens são alcançadas, dentre as quais destacam-se a desinfecção do efluente, fácil manipulação dos tempos de retenção hidráulica, baixa produção de lodo e o mais interessante, excelente qualidade do efluente com baixa concentração de sólidos (VISVANATHAN *et al.*, 2000, JUDD, 2006 e MENG *et al.*, 2009). Além disso, a elevada retenção imposta pelas membranas evita a perda de microrganismos específicos e

de crescimento lento, tais como bactérias nitrificantes e PAOs (UJANG et al., 2002).

Apesar das vantagens inerentes aos BRMBS na remoção de nutrientes, sabe-se que a transferência de nitrato para a etapa anaeróbia nesses reatores torna-se um agravante para a remoção de fósforo, uma vez que a atividade desnitrificante durante esta etapa consome o substrato que antes estaria disponível os PAOs (YANG et al., 2010). Nessas condições, o substrato torna-se limitante, inibindo, por consequência, a produção de polyhydroxybutyrato (PHB), composto fundamental à atividade dos PAOs.

Uma solução que vem sendo estudada e que tem conduzido a bons resultados é a introdução de material suporte nos BRMs para o desenvolvimento de biomassa aderida (ÅHL et al., 2006). Dessa união, surgiram então os biorreatores a membrana de leito móvel (BRM-LM), quando operados em modo contínuo, e os biorreatores a membrana em batelada sequencial de leito móvel (BRMBS-LM), quando operados em modo descontínuo. Em ambos os casos, o crescimento de biofilme no material suporte pode formar ao longo de sua estrutura micro-zonas anóxicas, que supostamente estimularia a remoção de nitrato mesmo durante a etapa aeróbia, minimizando a sua transferência para a fase anaeróbia. Como resultado, o consumo de substrato pelas bactérias desnitrificantes na etapa anaeróbia seria reduzido, aumentando a sua disponibilidade os PAOs. Nessas condições, uma melhoria na remoção de fósforo poderia ser alcançada.

Diversas pesquisas tem demonstrado que além da presença de nitrato na fase anaeróbia, outros fatores também podem influenciar significativamente no sucesso do processo EBPR, dentre os quais destacam-se o tempo de detenção hidráulica (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014; MARTÍN-PASCUAL et al., 2015), bem como a concentração de oxigênio dissolvido na fase aeróbia (HE et al., 2017; HE et al., 2018). Nesse contexto, o presente trabalho buscou avaliar os efeitos da redução do TDH de 12 para 6 h, bem como investigar o efeito da redução do oxigênio dissolvido na fase aeróbia no desempenho de um BRMBS-LM construído em escala laboratorial e alimentado com esgoto sanitário. Para avaliar melhor se a presença de biomassa aderida seria, de fato, benéfica para o desempenho do BRMBS-LM no tratamento do esgoto, um biorreator de membrana em batelada sequencial sem presença de material suporte (BRMBS) foi operado em paralelo ao BRMBS-LM e submetido as mesmas condições operacionais deste último.

Verifica-se na literatura uma carência de trabalhos publicados com tal abordagem comparativa com essas concepções de reatores. Até o momento, apenas o trabalho de Yang et al. (2010) avaliou o desempenho de um BRMBS-LM como alternativa tecnológica a remoção de nutrientes, mas sem realizar uma abordagem comparativa. Ademais, o trabalho supracitado foi conduzido utilizando-se de esgoto sintético baseado em acetato como fonte de carbono em detrimento ao esgoto sanitário, que como se sabe, pode ser pouco representativo frente a complexidade do esgoto sanitário real. Diante desse cenário, evidencia-se a necessidade de maiores investigações nessa temática.

Por fim, destaca-se que o presente trabalho insere-se na linha de pesquisa que vem sendo conduzida pelo Laboratório de Reuso de Águas (LaRA) da Universidade Federal de Santa Catarina, utilizando-se da tecnologia de biorreatores à membrana para tratamento de esgoto sanitário. A contribuição da presente tese para o referido grupo de pesquisa esteve voltada a avaliação comparativa de determinados parâmetros relevantes à remoção biológica de nutrientes e a colmatação das membranas em reator de biomassa floculenta e em reator com biomassa aderida. Cabe destacar também que a presente tese esteve vinculada ao edital MCTI/CT-Biotec Nº 30/2013 do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico–CNPq, direcionado ao apoio de pesquisa científica e tecnológica para o desenvolvimento de produtos e processos biotecnológicos.

1.1 HIPÓTESES DA PESQUISA

O delineamento da pesquisa está fundamentado nas seguintes hipóteses:

Primeira hipótese: o estabelecimento da biomassa aderida no reator de leito móvel durante o seu período de *startup* resultará em uma remoção mais efetiva de nitrogênio e fósforo em relação ao reator convencional.

Segunda hipótese: a redução do TDH favorecerá os processos de P-Liberação e P-abosrção, tendo em vista a maior carga orgânica aplicada nos reatores.

Terceira hipótese: a utilização de baixa concentração de oxigênio dissolvido durante a fase aeróbia estimulará a remoção de

nitrato e permitirá, conseqüentemente, um melhor desempenho da remoção biológica de fósforo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho da tecnologia de biorreator à membrana (BRM) e biorreator a membrana de leito móvel (BRM-LM) quanto a remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário, bem como quanto ao processo de colmatção das membranas, operando ambos os reatores em batelada sequencial.

1.2.2 Objetivos Específicos

I) Avaliar o desempenho de um biorreator a membrana de leito móvel e um biorreator a membrana convencional quanto a remoção de nutrientes de esgoto sanitário e ao processo de colmatção das membranas durante o período de partida de ambos os reatores.

II) Avaliar comparativamente o efeito da redução do tempo de detenção hidráulica (TDH) em um biorreator a de leito móvel e um biorreator a membrana convencional, ambos operados em batelada sequencial e tratando esgoto sanitário.

III) Avaliar o efeito da utilização de alta e baixa concentração de oxigênio dissolvido no desempenho de um biorreator a membrana de leito móvel e um biorreator a membrana convencional, operados em paralelo e tratando esgoto sanitário.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIORREADORES À MEMBRANAS PARA TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO

Face a legislações ambientais cada vez mais restritivas em relação à qualidade da água, bem com a necessidade de reuso da mesma em decorrência do aumento do estresse hídrico, verifica-se uma demanda crescente pelo o desenvolvimento de tecnologias de tratamento de águas residuais capazes de produzir um efluente de melhor qualidade, com mínimo residual de poluentes. Nesse sentido, destacam-se os biorreatores à membrana (BRM), uma tecnologia recente e que vem paulatinamente ganhando força no setor de saneamento.

Embora seja considerada uma tecnologia atual, esses sistemas foram desenvolvidos comercialmente há algumas décadas atrás, mais precisamente nos anos 60, quando a companhia Dorr-Oliver criou o MST system (*Membrane Sewage Treatment*), que utilizava-se de uma membrana plana de ultrafiltração (JUDD, 2006). De lá para cá a tecnologia de separação por membrana teve um desenvolvimento rápido no tratamento de águas residuais (LIAO et al., 2006 e WANG et al., 2008), em particular o biorreator de membrana (MBR) usando processo de microfiltração ou ultrafiltração (CHANG et al., 2002; LE-CLECH et al., 2006).

Wang et al. (2013) reportam que devido à crescente confiança no desempenho desses sistemas, tem-se observado nas últimas décadas que tais reatores apresentam-se como uma alternativa interessante no tratamento e reutilização de efluentes. Nesse contexto, verifica-se que o mercado global de BRMs está crescendo a uma taxa anual de 13,2% e deve movimentar o montante de 627 milhões dólares em 2015 (Susan, 2011).

Genericamente, o BRM pode ser definido como um reator convencional de lodos ativados em que a etapa de sedimentação secundária foi substituída por uma fase de filtração utilizando, majoritariamente a microfiltração (MF) ou de ultrafiltração (UF) por membranas, com dimensões de poros que variam de 0,05 μm a 0,4 μm .

As membranas que se inserem na faixa de ultrafiltração e microfiltração em BRM pode efetivamente reter sólidos biológicos e solutos de elevado peso molecular, o que facilita a degradação completa da matéria orgânica afluente, assim como proporciona boa capacidade de desinfecção e conseqüentemente melhor qualidade do efluente (SHIN

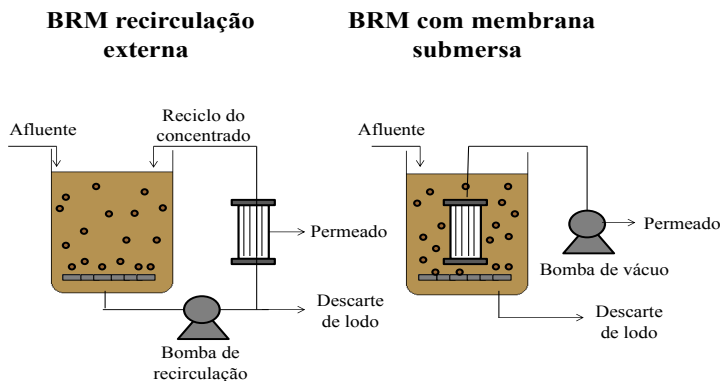
e KANG, 2003; LE-CLECH et al., 2006). Além disso, a baixa relação alimento/microrganismo (A/M) faz com que haja baixa taxa de geração de lodo, possibilitando que o sistemas sejam compactos, bem como se torna propício ao desenvolvimento e retenção de microrganismos que são sensíveis as condições ambientais, ou cujo desenvolvimento é mais lento, como no caso das bactérias nitrificantes (ROSENBERGER et al., 2002; JUDD, 2006).

Em comparação com sistemas de lodos ativados convencional, os BRM têm vantagens distintas, incluindo: (a) significativa eficácia na remoção de poluentes orgânicos (TAO et al., 2005), (b) capacidade de produzir um efluente consistentemente de alta qualidade, mesmo quando a carga hidráulica ou orgânica do sistema esteja sujeito a uma grande variação (SORIANO et al., 2003; MELIN et al., 2006; AL-MALACK, 2007) e (c) independência dos parâmetros relacionados a idade do lodo, tendo em vista que nesses sistema que o decantador gravitacional secundario e dispensável (KRAUME et al., 2005).

Segundo Stephenson et al. (2000), cerca de 98% dos processos de separação por membranas combinam esta tecnologia com processos aeróbios de tratamento em detrimento aos anaeróbios.

De acordo com Metcalf e Eddy (2003), o modo de disposição dos módulos de membranas nos BRM pode ser classificado em duas modalidades: BRM de recirculação externa e BRMs com membrana submersa, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1- Configurações de biorreatores à membrana.



Fonte: Adaptado de Stephenson et al. (2000).

Do início da sua criação até o início dos anos 90, os BRMs operavam predominantemente com as membranas instaladas fora do

tanque aerado. Contudo, essa configuração exige que as velocidades de circulação no módulo sejam elevadas para reduzir a tendência do *fouling* (SANT'ANNA JR, 2011). Em decorrência disso, o consumo de energia torna-se elevado, limitando a sua operação, se comparado à concepção de BRM com membranas submersas, introduzidas no mercado a partir de 1990 (STEPHENSON et al., 2006).

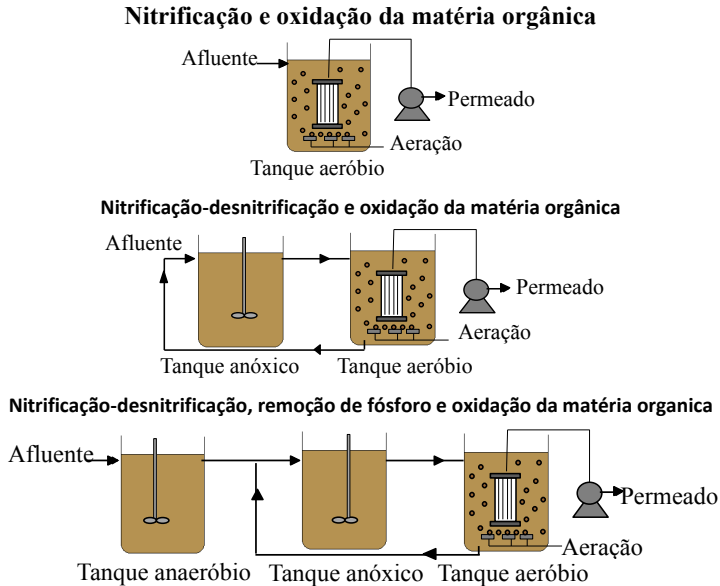
Reportam Fane, Chang e Chardon (2002) que as configurações dos módulos de membranas submersa podem-se dividir em dois tipos: (a) membrana plana (placas) alinhadas na vertical e (b) membrana de fibra oca, alinhados na vertical ou na horizontal.

Quando comparada as duas configurações, verifica-se que as membranas de fibra oca, em BRM, apresentam a vantagem de alcançar uma alta capacidade de empacotamento, a qual, conforme relata Pearce (2008), apresenta-se como um importante componente no cálculo dos custos operacionais. Um exemplo disso é a capacidade de empacotamento das membranas Zenon, empresa líder neste mercado, que é de $300\text{m}^2\text{m}^{-3}$, a qual favorece a redução da demanda por espaço ao mesmo tempo em que se tem maior eficiência no uso da aeração.

De acordo com Radjenovic et al. (2008), os biorreatores com membrana submersa podem ser configurados de acordo com cada projeto específico e objetivos do tratamento. Verifica-se que nos últimos anos, vários estudos têm sido focados na remoção de nutrientes das águas residuais utilizando BRM (SUN, WANG e LEE, 2013; ERSU et al., 2010; MONCLUS et al., 2010 e GALIL et al., 2009).

Os processos voltados à remoção biológica de nutrientes dos esgotos empregam a alternância das condições ambientais ao longo da linha de tratamento para possibilitar a remoção de nitrogênio e fósforo. Assim, é usual nestes sistemas observar a presença de tanques anaeróbios, anóxicos e aeróbios, seguidos de um decantador secundário para favorecer a remoção destes nutrientes. A seguir na Figura 2, encontram-se ilustrados algumas das configurações utilizadas na remoção desses poluentes.

Figura 2- Possíveis configurações dos BRM aplicados na remoção de nutrientes.



Fonte: (Adaptado de Davis, 2010).

Nas últimas décadas, pesquisadores têm explorado alternativas com sistemas mais compactos e com tanques de menor volume, gerando assim redução de custos e de complexidade operacional. Dentre as alternativas disponíveis, destacam-se os BRM operados em bateladas sequenciais (RBS). Verifica-se que o desenvolvimento dos BRMBS para tratamento de águas residuais, especialmente para remoção biológica de nutrientes, tem atraído grande atenção nos últimos anos (DONG e JIANG, 2009; YANG et al., 2010; LI et al., 2012; WANG et al., 2012a; BELLI et al., 2012; THANH et al., 2013; XU, WU e HU (2014).

2.1.1 Biorreatores à membrana operados em batelada sequencial

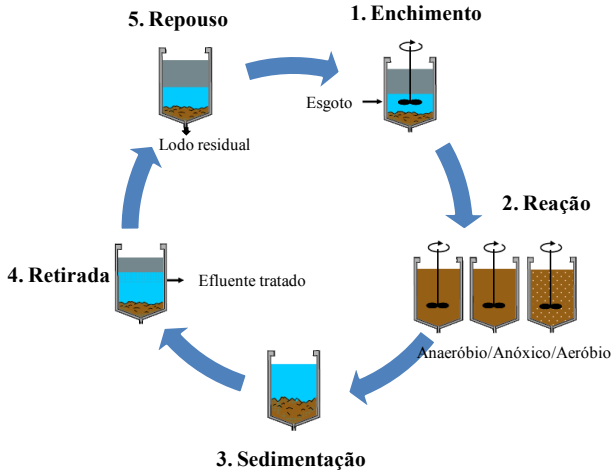
Um reator em batelada sequencial (RBS) é a denominação dada a um método de tratamento de águas residuárias baseado no sistema de lodos ativados (LA) convencional. De acordo com Metcalf e Eddy (2003), a principal diferença entre os dois modelos é que no RBS os processos unitários e bioquímicos (oxidação biológica e separação sólido/líquido) são realizados no mesmo tanque, ao passo que nos LA

convencionais são utilizados um maior número de unidades. Desta forma, as etapas de reação e decantação, necessárias para o tratamento do esgoto, tornam-se apenas sequências no tempo e não são mais unidades físicas distintas construídas em separado (VON SPERLING, 2002). Como consequência, Yang et al. (2010) ressaltam a redução da área requerida para construção desses sistemas, bem como a diminuição dos custos operacionais envolvidos.

O processo em bateladas envolve operação cíclica (ARTAN e ORHON, 2005) e atua com base na relação enchimento e descarte. O tanque nesse sistema é cheio durante um período determinado de tempo e, em seguida, operado como um reator descontínuo. Após o tratamento desejado, o líquido reacional é sedimentado e o sobrenadante clarificado é então retirado do tanque, para que então se inicie um novo ciclo.

Originalmente os RBS foram concebidos como simples tecnologia de tratamento para remoção de matéria orgânica e fósforo, sendo o seu ciclo operacional composto por cinco fases sequenciais: enchimento, aeração, sedimentação, descarte do efluente tratado e repouso. No entanto, com a adoção de regulamentos cada vez mais rígidos quanto ao lançamento de nutrientes esses sistemas sofreram diferentes modificações para se adequarem a essas exigências, passando a englobar também processos que favoreçam a nitrificação e desnitrificação (CHANG et al., 2000; KARGI e UYGUR, 2003). Sendo assim, atualmente o processo consiste na repetição de um ciclo, também com cinco fases, o qual passa a incluir as etapas anaeróbia e anóxica (GRADY et al., 2011). Na Figura 3 encontra-se ilustrado a sequência operacional de um RBS.

Figura 3- Sequência operacional de um reator em batelada sequencial.



Fonte: adaptado de Fabregas (2005).

Dentre as muitas vantagens que o processo RBS pode oferecer em detrimento a outros tipos de reatores de lodo ativados, a sua flexibilidade operacional é maior delas, a qual se atribui ao seu formato cíclico que pode ser facilmente modificado a qualquer momento para compensar as alterações nas condições do processo, as características dos efluentes ou aos objetivos de tratamento (BLACKBURNE, YUAN e KELLER, 2008).

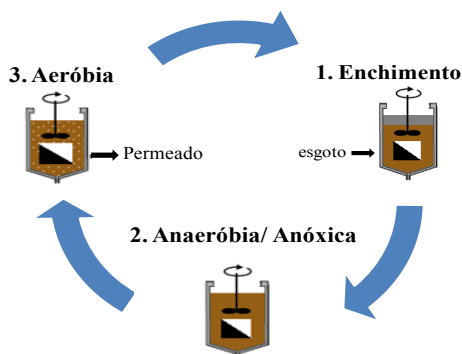
Ainda que o processo de lodos ativados em batelada sequencial tenha despertado grande interesse face a sua flexibilidade operacional, sabe-se que a clarificação do efluente por meio da sedimentação gravitacional é gargalo operacional da unidade de tratamento, podendo, em algumas situações, gerar um efluente de elevada turbidez. Dentre as opções capazes de aperfeiçoar a remoção de sólidos do efluente tratado, Mcadam et al. (2005) e Kaewsuk et al. (2010) destacam a integração da tecnologia de micro ou ultrafiltração aos RBS, em substituição à sedimentação, dando origem assim aos biorreatores à membrana em batelada sequencial (BRMBS).

Conforme aponta Dong e Jiang (2009) e Ersu et al. (2010), o emprego de tecnologia de membrana para a separação sólido-líquido melhora o desempenho de um RBS. Isso se deve a alta concentração da biomassa que pode ser mantida nesses sistemas, cerca 10 vezes maior do que o sistemas de lodos ativados convencionais (GALIL e JACOB, 2009), o que aumenta a eficiência do tratamento (FLEISCHER et al.,

2005; MONCLUS et al., 2010 e KRAMPE e KRAUTH, 2015), e, ao mesmo tempo, reduz a produção de lodo e o volume do biorreator (BHATTA et al., 2004; METCALF e EDDY, 2003). Além disso, os problemas relacionados a má sedimentação da biomassa e consequente produção de efluente turvo podem ser superados.

Nesses sistemas, as fases de sedimentação e retirada, pertencentes a um ciclo típico de RBS, tornam-se desnecessárias, tendo em vista que a retirada do efluente do sistema se dá por meio da permeação realizada pelas membranas durante a fase aeróbia da etapa de reação (KANG, LEE e KIM, 2003). Com isso, o tempo de ciclo de um BRMBS pode ser reduzido, conforme destaca Xu, Wu e Hu (2014). Na Figura 4, encontra-se apresentado as etapas que compõe o ciclo operacional de BRM operado em batelada sequencial.

Figura 4- Etapas de um BRM operado em bateladas sequenciais.



Fonte: Próprio autor.

A operação clássica de um SBR está baseada em um evento único de enchimento dentro do ciclo operacional. Contudo, pesquisas recentes têm demonstrado que a forma prolongada de enchimento se mostra mais eficiente principalmente no que se refere à remoção de nutrientes (SAHARIAH e CHAKRABORTY, 2013). Nesse sentido, Scheuman (2010) comentam que quando o enchimento ocorre de maneira contínua durante a etapa anóxica/anaeróbia, algumas vantagens podem ser obtidas, incluindo a remoção simultânea de carbono orgânico, de nitrogênio e de fósforo, além de se mostrar eficaz no desenvolvimento de organismos floculentos sobre os filamentosos.

No que se refere à forma de enchimento, NEIWPC (2005) relata que a agitação e a aeração podem variar durante essa fase a fim de criar três diferentes cenários: enchimento estático, ou seja, sem aeração ou agitação; enchimento agitado, sem aeração, mas com os agitadores mecânicos ligados; e enchimento aerado, com os aeradores e agitadores ligados. Para Vigneswaran, Sundaravadivel e Chaudhary (2009) cada um dos cenários irá favorecer um processo em especial, assim a escolha dependerá do objetivo do tratamento.

Uma vez cheio, inicia-se a fase de reação no reator. Nessa fase, a biomassa age de acordo com os constituintes das águas residuárias, dando prosseguimento as reações biológicas (o crescimento de biomassa e utilização de substrato) iniciadas durante a fase de alimentação. Esta etapa é realizada em mistura completa e pode apresentar uma alternância de condições aeróbias, anóxicas e anaeróbias, dependendo do objetivo do tratamento (VON SPERLING, 1996 e ARTAN et al., 2001).

Quando se trata da remoção de nutrientes, Singh e Srivastava (2010) reportam que o ligamento/desligamento cíclico dos aeradores fornece condições para a nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo. Assim, durante a etapa anóxica/anaeróbia os processos de desnitrificação e a liberação de fosfato tendem a ser favorecidos no reator. Por outro lado, durante a etapa aeróbia, o processo de nitrificação, acumulação de fosfato e oxidação da matéria orgânica iniciam-se no reator.

A duração de cada ciclo pode ser alterada em função das variações de carga de poluentes adicionadas ao sistema, pela quantidade de água residuária a ser tratada, do nível de eficiência requerida e pelo número de reatores disponíveis operando em paralelo na estação de tratamento (VON SPERLING, 1996 e GERARDI, 2010). Em geral, a duração de um ciclo varia de algumas horas a um dia. Nesse sentido, Xu, Wu e Hu (2014) relatam que todo o tempo de ciclo deve ser o mais curto possível para conseguir uma exploração ótima da capacidade volumétrica da planta e para a redução máxima dos seus custos. Entretanto, um equilíbrio entre o tempo de ciclo e o desempenho de tratamento tem de ser respeitado.

Apesar das vantagens inerentes aos BRMBS na remoção de nutrientes, sabe-se que a transferência de nitrato para a etapa anaeróbia nesses reatores torna-se um agravante para a remoção de fósforo, uma vez que a atividade desnitrificante durante esta etapa consome o substrato que antes estaria disponível os PAOs (YANG et al., 2010). Nessas condições, o substrato torna-se limitante, inibindo, por

consequência, a produção de PHB, composto fundamental à atividade dos PAOs.

Uma solução que vem sendo estudada e que tem conduzido a bons resultados é a introdução de material suporte nos BRMs para o desenvolvimento de biomassa aderida (LEIKNES e ØDEGAARD, 2005), dando origem então aos modernos biorreatores à membrana de leito móvel (BRM-LM), conforme é apresentado no item seguinte.

2.1.2 Biorreatores à membrana de leito móvel (BRM-LM)/ Biorreatores à membrana híbrido de leito (BRMH) operados em batelada sequencial (BRMBS-LM)

Kermani et al. (2008) afirmam que reatores de biofilme são especialmente úteis quando organismos de crescimento lento como os nitrificantes tem de ser mantidos num processo de tratamento de águas residuárias. Nesse sentido, Wang et al. (2006) reportam que em razão a isso processos como a nitrificação e a desnitrificação nesses reatores têm se mostrado bastante eficazes.

Muitas são as configurações de sistemas de tratamento de águas residuárias que incorporam biofilmes, dentre eles citam-se os filtros biológicos de percolação, os biofiltros submersos de leito fixo, os reatores de leito fluidizado e os discos biológicos rotativos. Embora esses sistemas apresentem muitas vantagens e eficiência na remoção de matéria orgânica e nitrogênio, desvantagens relacionadas a questões operacionais também são encontradas. Leiknes et al. (2006) relata que essas tecnologias são propensas ao entupimento quando a água residual contém altas cargas de partículas, necessitando muitas vezes de uma etapa de pré-tratamento para remoção de partículas antes da unidade que contém biofilme.

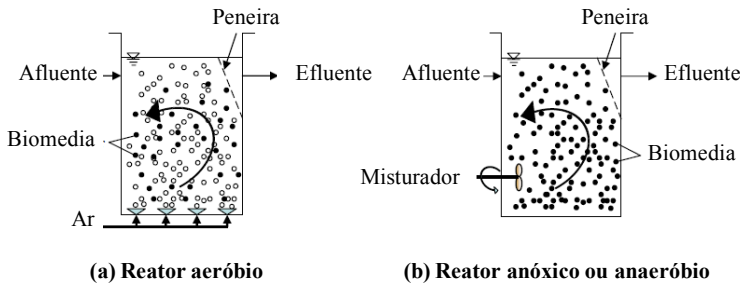
No intuito de superar essas limitações operacionais, foi desenvolvido na Noruega, no final dos anos 80 e início dos anos 90, os biorreatores de leito móvel (MBBR, do inglês *moving-bed biofilm reactor*). De acordo com Ødegaard et al. (2006) e Rusten et al. (2006), a criação do processo MBBR teve como cerne agrupar em um único sistema, as melhores características do processo de lodo ativado e dos biofiltros, deixando de lado as características indesejáveis de cada processo.

O processo MBBR baseia-se na introdução de pequenas peças, denominadas biomedias, de baixa densidade (DELNAVAZ, AYATI e GANJIDOUST, 2010) e de grande área superficial no interior do reator,

as quais atuam como meio suporte para desenvolvimento do biofilme (LEYVA-DÍAZ et al., 2013). Sombatsompop et al. (2006) explicam que a razão para o emprego do meio suporte nesses reatores consiste na criação de área superficial para o crescimento de biomassa e elevação do tempo de retenção celular. Dessa forma, uma maior concentração de sólidos, bem como uma grande diversidade na população bacteriana é mantida no sistema, o que por sua vez elevará o aumento da capacidade de degradação da matéria orgânica e da conversão de compostos nitrogenados (DUAN et al., 2015). Ademais, Rusten et al. (2000) reporta que a presença do biofilme torna a recirculação de lodo nesse tipo sistema desnecessária.

Uma vez inseridos no reator biológico, os suportes são mantidos em constante circulação e mistura (MANNINA e VIVIANI, 2009), proporcionada pela introdução de ar difuso nos sistemas aeróbios ou devido à existência de agitadores mecanizados nos sistemas anóxicos/anaeróbios (KERMANI et al., 2008), como apresentado na Figura 5.

Figura 5- Funcionamento das variantes do processo MBBR.



Fonte: Metcalf e Eddy (2003).

Nos sistemas aeróbios os aeradores desempenham dupla função, ou seja, são responsáveis não só pela oxigenação dos microrganismos degradadores, mas também pela manutenção dos suportes em movimento no meio reacional. Sendo assim, Bassin (2011) reporta a importância do projeto dos aeradores ser realizado de tal maneira que as bolhas de ar geradas não sejam muitos grandes, para evitar a queda substancial do coeficiente de transferência de oxigênio (kLa), nem muito pequenas, pois embora favoreçam o transporte de oxigênio do meio difusor para o meio líquido, apresentam a desvantagem de não propiciarem boa movimentação dos suportes.

Segundo Rusten et al. (2006) a turbulência proporcionada pelos sistemas de aeração e agitação nos MBBR podem ainda, juntamente com as forças cisalhantes, ter um papel significativo ao impedir a formação de regiões de estagnação. Ademais, sob essas condições, as biomedias passam a apresentar elevada mobilidade no biorreatores, como consequência maior exposição e contato com a massa líquida em suspensão são proporcionadas.

Nesse sentido, Bassin e Dezotti (2001) reportam que ao contrário da maioria dos reatores com biofilme, o MBBR utiliza todo o volume reacional do reator para crescimento da biomassa, o que lhe confere algumas vantagens em relação aos seus concorrentes. Dentre essas vantagens, esses autores comentam, que a redução significativa da perda de carga nesses sistemas se mostra como a maior delas, lhe oferecendo grande vantagem sobre sistemas de leito fixo, os quais apresentam perda de carga relativamente alta, podendo sofrer entupimento ou colmatação do meio filtrante.

Em comparação com processos convencionais de lodos ativados, os MBBR apresentam também inúmeras vantagens, das quais incluem: (a) maior estabilidade a variações nas condições operacionais, como sobrecargas hidráulicas, orgânicas e alterações na composição do afluente, (b) redução do tempo de detenção hidráulica, (c) melhor transferência de oxigênio e (d) maior área de superfície para a transferência de massa (RUSTEN et al., 1997; SOMBATSOMPOP, VISVANATHAN e AIM., 2006; CHEN, SUN e CHUNG, 2008; e CHAN et al., 2009).

Além disso, esta tecnologia aborda alguns dos desafios mais importantes no tratamento de efluentes sanitários e industriais, tais como a modernização das estações de tratamento existentes e as legislações cada vez mais restritivas para lançamento de efluentes, sobretudo quanto à presença de nutrientes (FROST e SULLIVAN, 2009). De acordo com Salvetti et al. (2006) a tecnologia MBBR permite que reatores em operação que não conseguem atender aos padrões de lançamento mais rígidos podem ser adaptados para a configuração MBBR com modificações relativamente pequenas.

Embora sejam sistemas altamente eficientes e versáteis, Ødegaard (2000) e Di Trapani et al. (2013) destacam que a sedimentabilidade do lodo continua a ser uma grande preocupação para a implantação do MBBR, a qual pode conduzir a problemas operacionais graves, especialmente quando decantadores são utilizados para a separação dos sólidos. A fim de mitigar essa problemática, têm sido desenvolvidos alguns sistemas combinados, que envolvem

modificações do MBBR por adição de coagulantes (sais de metal ou de polímeros catiônicos), separação do sólido por flotação ou ainda por filtração em membranas (LEIKNES et al., 2006). Entre esses exemplos, destaca-se a combinação da tecnologia de membrana e MBBR, denominada de biorreatores à membrana de leito móvel (BRM-LM) ou biorreator à membrana híbrido de leito móvel (BRMH), que tem se mostrado eficiente no tratamento de águas residuárias e industriais com produção de efluentes de alta qualidade. Além disso, apresentam um conceito estabelecido com crescente popularidade, que também pode resultar em melhor desempenho da própria membrana (DUAN et al., 2013 e YANG et al., 2009).

Originalmente proposto e desenvolvido por Leiknes e Ødegaard (2001), o BRM-LM visa mitigar parcialmente os problemas de incrustação em relação aos sistemas BRMs e as questões de sedimentabilidade dos MBBRs. O conceito dessa proposta é de que a predominância da biomassa fixa em suportes como ocorre no MBBR proporciona um ambiente de baixa concentração de sólidos suspensos, que poderia melhorar o desempenho do sistema, uma vez que confere menor viscosidade ao líquido reacional (IVANOVIC e LEIKNES, 2011). Com isso, a demanda de energia para fins de aeração de limpeza da membrana é reduzida, bem como a deposição de lodo e os problemas de entupimento da mesma (PHATTARANAWIK e LEIKNES, 2009).

Em uma busca pela literatura, verifica-se a que a introdução de material suporte em biorreatores à membrana como ferramenta para o controle do *fouling* tem despertado o interesse em vários pesquisadores ao longo dos anos (SOMBATSOMPOP, VISVANATHAN e AIM (2006); LEE et al., 2006; LEIKNES e ODEGAARD, 2007; IVANOVIC, LEIKNES e ØDEGAARD, 2008; IVANOVIC e LEIKNES, 2008; YANG et al., 2009; LIU et al., 2010; RAHIMI et al., 2011; KHAN et al., 2012; YANG et al., 2012a; KHAN, VISVANATHAN e JEGATHEESAN, 2012 e WANG et al., 2012b; YANG, SYED e ZHOU, 2014 e LUO et al., 2015).

Lee et al. (2006), por exemplo, ao introduzir cubos de poliuretano revestidos de carbono como meio de crescimento em um biorreator de membranas verificou que a taxa de incrustação biológica nessa nova configuração era muito menor do que em um BRM. Por outro lado, Yang *et al.* (2009) ao compararem a capacidade de tratamento de um BRM-LM com um BRM convencional inesperadamente constataram que a taxa de entupimento do sistema híbrido era cerca de três vezes maior do que no sistema convencional.

Ivanovic e Leiknes (2008) e Li e Yang (2007) reportam que a redução das incrustações da membrana, nesses sistemas ocorre principalmente pela prevenção da formação de partículas submicrônicas causadas pela aeração ou então pela adsorção dos polímeros orgânicos solúveis, tais como produtos microbianos solúveis (SMP) e polímeros extracelulares (EPS), pela biomassa aderida. No entanto, quando esses sistemas são operados com alta carga orgânica grandes quantidades de partículas coloidais submicrônicas adentram no reator, com isso verifica-se que a taxa de *fouling* nas membranas passa a ser maior, conforme sugerem Sun et al. (2012) em sua pesquisa. Por outro lado, Ivanovic e Leiknes (2012) reportam que ainda não está claro quais fatores são os principais responsáveis pela incrustação nesse sistema. Havendo, por tanto, necessidade de maiores investigações neste domínio.

Além de poderem proporcionar benefícios em relação à colmatção da membrana, esse sistema combinado apresenta outras vantagens em comparação com o processo convencional BRM e MBBR, entre as quais incluem: (a) melhor qualidade do efluente, (b) menor geração de lodo, (c) sistemas ainda mais compactos e (d) melhor remoção de nutrientes (KHAN, VISVANATHAN e JEGATHEESAN, 2012 e RAHIMI et al., 2011). Sombatsompop, Visvanathan e Aim (2006) e Leiknes e Ødegaard (2007) destacam que quando comparados com outras configurações híbridas de biorreatores a membrana, um BRM-LM se mostra muito mais vantajoso, uma vez que apresenta capacidade para operar de 10 a 15 vezes mais carga volumétrica com TDH de 10 a 30 vezes menor.

Esses sistemas podem ser operados de forma contínua ou em bateladas. Comparando com os sistemas BRM-LM contínuos, os operados em bateladas apresentam muitas vantagens, pois são capazes de garantir maior estabilidade ao processo, uma vez que consegue maior área superficial para o crescimento microbiano fixo, que auxilia na manutenção da alta concentração e diversidade da biomassa no interior do reator, em razão a isso facilitam a simultaneamente a oxidação do carbono, nitrificação/desnitrificação e absorção de fósforo simultânea. Possibilitam ainda a redução dos custos operacionais, bem como demandam menores áreas para sua instalação.

A operação em batelada de um MBBR (RBS-LM) objetivando a remoção de nutrientes tem sido investigada por alguns pesquisadores (HELNESS e ØDEGAARD, 2001; LI, XING e WANG, 2003; KERMANI et al., 2008; YIN et al., 2015 e HAI et al., 2015). Já os BRM-LM em batelada sequencial, foram avaliados somente por Yang et

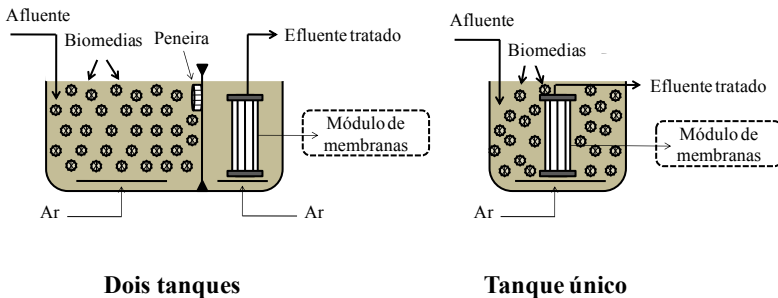
al. (2010) e Sun et al. (2015), os quais comprovaram a eficiência do processo.

Sun et al. (2015) verificaram que ao empregarem um BRM-LM operado na modalidade de bateladas as eficiências de remoção de demanda química de oxigênio (DQO), $M-NH_4^+$, nitrogênio total (NT) e fósforo total (TP) nesses sistemas foram mantidos acima de 90%, 96%, 91% e 85%, respectivamente. Ademais, constataram que essa forma de operação possibilitou a criação de um ambiente propício para a sobrevivência de bactérias oxidantes de amônia (AOB) e bactérias desnitrificantes.

Yang et al. (2010) investigaram a remoção biológica de nutrientes em um BRM-LM operado em batelada em diferentes relações de DQO/nitrogênio total e verificaram que a remoção de amônia e nitrogênio total alcançaram valores de 95,6% e 82,6% respectivamente. A remoção de fósforo total (PT), por sua vez, mostrou-se estreitamente dependente da duração das fases anaeróbia e aeróbia, atingindo a eficiência média de 84,1% quando ambas as fases eram de 2 h. Além disso, a operação em batelada proporcionou a redução do entupimento da membrana.

O modo de acoplamento entre um MBBR e um BRM nesses sistemas em batelada pode dar origem a dois tipos de configurações. A principal diferença entre elas é que em uma as biomedias se encontram no mesmo compartimento destinado às membranas, enquanto a outra consiste em duas unidades comunicáveis, uma contendo os suportes e a outra o módulo de membranas submersas, conforme ilustrando a Figura 6.

Figura 6- Configurações de reator de leito móvel quando acoplados aos biorreatores à membrana.



Fonte: baseado em Bassin e Desotti (2011).

Embora seja encontrada na literatura, pesquisa que alcançaram bons resultados na utilização da configuração de tanque único em sistemas contínuos (LEE et al., 2006; YANG et al., 2012a; JABORNIG e FAVERO, 2013 e DI TRAPANI et al., 2014), acredita-se que quando confeccionadas de materiais mais rígidos, como a maioria das biomedias comercializadas no mercado, essas configurações podem apresentar um risco a integridade da membrana ao longo do tempo, face ao atrito produzido das biomedias contra a superfície das membranas.

As variáveis de controle nesses sistemas são as mesmas aplicadas ao processo de reatores operados em batelada sequenciais, quando esses são adotados, salvo a especificidade de que a concentração de sólidos biológicos no reator é também devida à biomassa aderida aos meios suportes e, por consequência, existe uma relação entre os volumes de meio suporte e do tanque de aeração.

2.1.2.1 Suportes utilizados e fração de enchimento (%)

Em sistemas de biofilme, o desempenho do tratamento depende principalmente da área de superfície disponível para o crescimento do biofilme, que está relacionado com as características e as taxas de aderência dos suportes (QUAN et al., 2012). As diferentes configurações de meio suporte resultam em diferentes áreas de contato, que podem apresentar maior ou menor potencial para aderência de biomassa em função do arranjo e desenho geométrico da peça.

A geometria do meio veicular para promover o crescimento em anexo incluem cilindros lisos (ANDREOTTOLA et al., 2002; YANG et al., 2010), cilindros com cruces internas (ØDEGAARD, 2006), retângulos, cubos (GOLLA et al., 1994 ; SHRESTHA, 2013) e esferas (WANG et al., 2006). Já a área superficial específica desses suportes pode variar de 118 a 2.500 m² / m³ (LARIYAH et al., 2016; BARWAL e CHAUDHARY, 2014). No entanto, vários materiais têm sido utilizados, incluindo meio poroso (BASSIN et al., 2016; MARTÍN-PASCUAL et al., 2012), espuma reticulada (GOLLA et al., 1994), espuma de plástico (NGUYEN et al., 2011) álcool polivinílico (PVA) (LEVSTEK e PLAZL, 2009), poliuretano (NGO et al., 2008), esponja (ZHANG et al., 2012; YANG et al., 2006), e polietileno de alta densidade (ØDEGAARD, 2006). A

Tabela 1 apresenta alguns tipos de meio suporte empregados atualmente no processo MBBR.

Tabela 1 - Diferentes tipos de materiais suporte comercializados.

Modelo	Fornecedor commercial	Material *	Área superficial específica (m ² . m ³)	Referências
Pall ring 11	Koch-Glitsch	PP	118	Shahot <i>et al.</i> , (2014)
Natrix C2	AnoxKaldnes™	HDPE	220	Aygun, Nas e Berkay (2008)
Yuhuan	Yuhuan Water Treatment Group Co	PE	230	Zhang <i>et al.</i> (2013)
TriPack 1	Jaeger Inc.	PP	279	Dupla <i>et al.</i> (2006)
K1	AnoxKaldnes™	HDPE	500	Leyva-Díaz <i>et al.</i> (2014)
K3	AnoxKaldnes™	HDPE	500	Hoang <i>et al.</i> (2014)
Bioportz™	Entex Technologies Inc	HDPE	576	Kim <i>et al.</i> (2010)
Biofilm-Chip M	AnoxKaldnes™	HDPE	1.200	Falás <i>et al.</i> (2013)
PVA gel	Kuraray Co	PVA	2500	Singh <i>et al.</i> (2016)

*PP: polipropileno, HDPE: Polietileno de alta densidade, PE: polietileno, PVA: álcool polivinil.

Os suportes mais comumente utilizados em MBBR têm sido as muitas variações existentes desenvolvidas pela Kaldnes™, empresa detentora dos direitos desse sistema. Reporta DEZOTTI et al. (2011), que a aquisição do material suporte tem sido apontada com um dos principais empecilhos para a instalação de plantas com a tecnologia MBBR, devendo-se ao fato do custo consideravelmente elevado dos suportes, aliado ao fato de que sua fabricação e comercialização sejam realizadas por poucas empresas. Em razão a isso, novas empresas e pesquisadores tem mostrado interesse em desenvolver seus próprios suportes e aplicação dessa tecnologia.

Independente da marca, a escolha dos suportes devem considerar alguns fatores, dentre eles Chaudhary et al. (2003) citam: (a) baixa densidade, que deve ser próxima à da água, (b) boa textura de superfície para o rápido crescimento da biomassa e para manutenção da biomassa contra o cisalhamento e descamação e (c) área superficial específica elevada .

Ødegaard et al. (2000) comentam que para determinar a fração adequada de suportes a serem inseridos no reator, faz-se necessário conhecer a área superficial específica do suporte utilizado, uma vez que a primeira reflete a disponibilidade de área para o desenvolvimento de biofilme por unidade de volume do suporte. Reporta Weiss et al. (2005) que a área superficial específica do reator é igual à área de superfície específica do suporte multiplicada pela fração do volume total do reator que o transportador ocupa.

A quantidade de recheio normalmente inserido no reator varia de 20% a 70% do seu volume. De acordo com Rusten et al. (2006) ainda que o MBBR seja um sistema que permite frações de recheio variável não recomenda-se que a mesma atinja valores superiores a 70%, nessa condição a operação torna-se economicamente inviável, visto que uma elevada quantidade de biomassa requer um alto gasto energético tanto na mistura dos meios suporte quanto no fornecimento de oxigênio (RUSTEN et al., 1998). Para densidades inferiores a 20%, Oliveira et al. (2014) relatam que nessas condições existe perda na eficiência de transferência de oxigênio pela falta de material para efetivar a redução dos tamanhos das bolhas de ar introduzidas pelo equipamento de aeração.

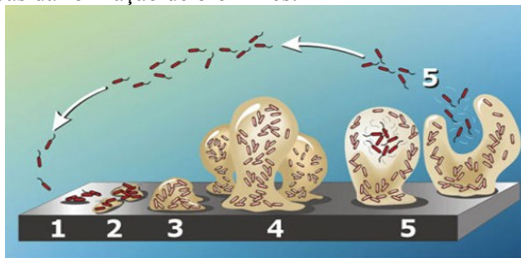
2.1.2.2 Formação do biofilme nos suportes móveis

Os biofilmes são sistemas extremamente complexos, constituídos de células e colônias microbianas que se desenvolvem aderidos entre si em uma superfície ou interface, incorporados em uma matriz polimérica extracelular (HALL-STOODLEY e STOODLEY, 2002 e FLEMMING E WINGENDER, 2010). Sugere Marsh e Bradshaw (1995) que entre 80 a 90% do peso úmido dos biofilmes é constituído por água. As bactérias, por sua vez, representam cerca de 70% do peso seco, enquanto o restante é atribuído a substâncias poliméricas extracelulares formadas por polissacarídeos e glicoproteínas. Contudo, Cheng, Demirci e Catchmark (2010) afirmam que sua estrutura e composição são funções da idade do biofilme e das condições ambientais e operacionais.

Segundo Nicoletta (2000), assim como a formação a acumulação do biofilme resulta de processos de natureza física, química e biológica. Para XAVIER et al. (2003) existem cinco etapas na formação do biofilme, ilustradas na Figura 7 e apresentadas a seguir:

- 1) Difusão das células livres e dos substratos orgânicos e do meio líquido para uma superfície sólida, ocorrendo assim a sua fixação;
- 2) Crescimento e divisão das células aderidas a partir dos nutrientes provenientes do meio;
- 3) Produção e excreção das EPS.
- 4) Fixação de células microbianas flutuantes e outras partículas importantes, que contribuem para o desenvolvimento do biofilme; e
- 5) Desprendimento do material celular por perda das células individuais ou de agregados maiores.

Figura 7- Etapas da formação de biofilmes.



1. Fixação inicial das células à superfície 2. Produção dos exopolímeros 3. Crescimento e divisão das células 4. Fixação de outros componentes 5. Desprendimento do material celular.

Fonte: Karaguler, Kahraman e Tuter (2017).

Em sistemas com biofilme, a difusão é um componente chave para o desenvolvimento do processo. É por meio dela que ocorrerá a transferência de nutrientes e oxigênio para as bactérias. Em função disso, a espessura do biofilme se torna um fator crítico.

Sandu et al. (2002) cita que a espessura do biofilme sobre os transportadores varia geralmente entre 1 e 100 μm , dependendo da velocidade e viscosidade da água, da temperatura, das forças de cisalhamento e da concentração de oxigênio e aumenta com a elevação da carga orgânica e TDH. Segundo Ødegaard (2006) a espessura do biofilme quando atinge dimensões superiores a 100 μm permite a apenas penetração parcial de substrato no biofilme. De Oliveira (2008) por sua vez, relata que com o aumento da espessura do biofilme não só do sua difusão de substrato, como a de oxigênio é dificultada, desde o meio externo até as camadas internas do biofilme, e junto à superfície do meio suporte.

Nesse sentido, Van Loosdrecht et al. (2002) relata que quando a taxa de consumo de substrato excede a taxa máxima de transferência de massa, por exemplo, a limitação da difusão resulta em um biofilme filamentosos ou poroso. Em compensação, para os mesmos autores, quando a taxa de conversão ou crescimento torna-se um limitante, um biofilme mais homogêneo e compacto pode ser desenvolvido.

Reporta Mittelman (1998), que o modo de desenvolvimento de um biofilme proporciona, aos microrganismos constituintes, benefícios como o aumento da concentração de nutrientes nas interfaces líquido-biofilme, pois a matriz polimérica favorece a adsorção de nutrientes, resistência ao mundo exterior, facilidade de desenvolvimento de microconsórcios que permitem o estabelecimento de relações de simbiose, bem como a utilização de substratos de difícil degradação.

O biofilme formado nos suportes de sistemas MBBR, além de conter células bacterianas responsáveis pela depuração do material orgânico e inorgânico, pode apresentar uma microfauna bastante variada, caracterizada pela presença de inúmeros micrometazoários e protozoários. Biswas et al. (2014) afirmam que o conhecimento sobre a composição da microbiota envolvida na formação do biofilme e os mecanismos pelos quais as variações operacionais podem influenciar a sua estrutura é considerada de grande importância em sistemas MBBR. No entanto, até o momento, poucas são as pesquisas disponíveis relacionadas para as características dos biofilmes microbianos cultivadas em MBBRs, em particular, informações sobre a sua composição comunitária (MCQUARRIE e BOLTZ, 2011).

2.2 REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES: NITRIFICAÇÃO, DESNITRIFICAÇÃO E BIODESFOSFATAÇÃO.

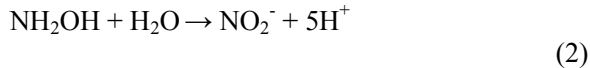
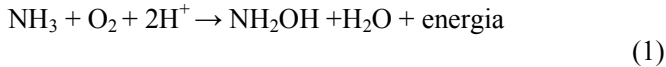
2.2.1 Remoção biológica de nitrogênio: Nitrificação e desnitrificação

- *Nitrificação*

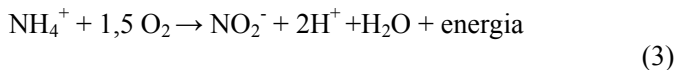
A nitrificação pode ser entendida como o processo biológico oxidativo de conversão da amônia a nitrato, desenvolvido por bactérias autotróficas aeróbias para obtenção de energia e crescimento celular. A nitrificação se desenvolve em duas etapas: (1) inicialmente tem-se a oxidação da amônia a nitrito, conhecida como nitrificação e,

posteriormente, (2) a oxidação do nitrito a nitrato, conhecido como nitratação (METCALF e EDDY, 2003).

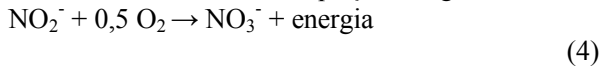
Nitrificação: a etapa de nitrificação é realizada pelas bactérias oxidadoras de amônia (BOA), das quais pode-se destacar as *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus* e *Nitrosolobus* (BITTON, 2005). A oxidação da amônia a nitrito é conduzida conforme as Equações 1 e 2.



A reação global da etapa de nitrificação é expressa conforme Equação 3.



Nitratação. A etapa de nitratação é realizada pelas bactérias oxidadoras de nitrito (BON), das quais as *Nitrobacters*, *Nitrospina*, *Nitrospira*, e *Nitrococcus* são as principais representantes (WOLFE e LIEU, 2002). A oxidação do nitrito se desenvolve conforme a equação a seguir:



A energia liberada durante os processos de nitrificação e nitratação é então utilizada pelos microrganismos para assimilar CO_2 como fonte de carbono, proporcionar condições para o crescimento celular. Durante a oxidação do íon NH_4^+ na etapa de nitrificação (Equação 2), ocorre a liberação de íons H^+ para o licor misto do reator, levando assim a uma diminuição do pH do meio. Caso a alcalinidade do sistema não seja suficiente para tamponar o excesso de íons H^+ , pode então ocorrer uma redução na taxa de crescimento das bactérias nitrificantes, uma vez que o pH ótimo para estes microrganismos é referenciado na literatura entre 7,5 e 8,5 (METCALF & EDDY, 2003).

Sabe-se que a taxa de crescimento das bactérias nitrificantes é inferior à das bactérias heterotróficas, impondo, dessa forma, a necessidade de se trabalhar com maior idade de lodo nos reatores biológicos para se ter uma nitrificação estável (Von SPERLING, 2005).

No caso dos BRM, a presença das membranas impede a perda destes microrganismos, favorecendo a sua permanência no reator por mais tempo, e por consequência, uma idade de lodo mais elevada.

O processo de nitrificação pode ser afetado por uma série de fatores, em que se destacam a concentração de oxigênio, pH, temperatura, relações das concentrações de amônia/nitrito e DBO₅/NTK e a presença de produtos químicos tóxicos (METCALF e EDDY, 2003). De forma resumida, é apresentado na

Tabela 1 2 a faixa admissível dos principais interferentes no desenvolvimento da nitrificação.

Tabela 2 - Condições recomendadas ao processo de nitrificação.

Variável	Faixa admissível
pH	7,2 – 8,4
Temperatura	15 - 35
Oxigênio dissolvido	>1 mg.L ⁻¹
Metal pesado (Cu, Zn, Cd, Ni, Pb, Cr)	< 5 mg.L ⁻¹
Compostos fenólicos	ausência
Solventes halogenados	ausência

Fonte: Adaptado de EPA (2004).

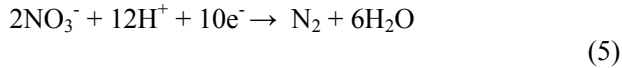
- *Desnitrificação*

O processo de desnitrificação refere-se à remoção biológica do nitrato gerado após a nitrificação, podendo ser classificada como desnitrificação assimilatória ou desnitrificação desassimilatória.

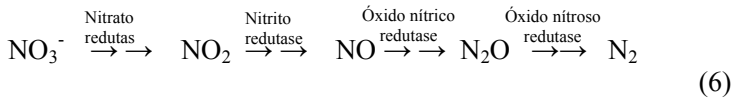
Remoção assimilatória do nitrato: o nitrato é absorvido e pela ação de enzimas específicas e convertido a NH₄⁺ por determinados espécies de microrganismos. Em seguida, o NH₄⁺ produzido é utilizado na síntese de proteínas e ácidos nucleicos pelo metabolismo bacteriano quando o NH₄⁺ não está disponível no meio (BITTON, 2005).

Remoção desassimilatória do nitrato: trata-se da redução do nitrato, na ausência de oxigênio dissolvido, a nitrogênio gasoso, conforme Equação 5. Tal mecanismo pode ser realizado por diversos gêneros de bactérias, em sua maioria heterotrófica, que sob condições anóxicas utilizam no nitrato disponível no meio como aceptor de elétrons para sua a respiração celular. Dentre os microrganismos capazes de desempenhar tal função, pode-se destacar as *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaliegenes*, *Bacillus*, *Breviabaterium*, *Flavobacterium*,

Micrococcus, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Spirillum* (METCALF e EDDY, 2003).



No desenvolvimento da redução desassimilatória do nitrato, uma série de produtos intermediários são gerados, como o nitrito (NO_2^-), o óxido nítrico (NO) e o óxido nitroso (N_2O), sendo utilizada em cada etapa uma enzima redutase específica para transportar elétrons na cadeia respiratória (EPA, 2004). A Equação 6 apresenta os referidos intermediários gerados e as respectivas enzimas atuantes em cada etapa da desnitrificação desassimilatória.



Alguns estudos têm demonstrado que o óxido nitroso pode, em certas circunstâncias (por exemplo, baixa relação DQO/ NO_3^- , baixa idade de lodo e pH baixo), ser produzido durante a desnitrificação com até 8% do NO_3^- convertido em N_2O (HANAKI, HONG e MATSUO, 1992). Como se sabe, o óxido nitroso é um poluente atmosférico, com elevado potencial de gás estufa, e assim cuidados operacionais devem ser tomados para evitar a sua formação.

Dentre os fatores que podem afetar o processo de desnitrificação, a concentração de oxigênio dissolvido é apontada como um dos mais importantes, tendo em vista que a sua presença inibe o sistema enzimático responsável pela desnitrificação (METCALF e EDDY, 2003). Portanto, a ausência de oxigênio é um pré-requisito fundamental para que o processo de redução do nitrato a nitrogênio gasoso ocorra de forma satisfatória. Von Sperling (2005) relata que a temperatura e o pH também podem afetar o processo de desnitrificação. Para a temperatura, é citada a faixa ótima de 35 °C a 50 °C, enquanto que para o pH, o autor comenta que existem muitas divergências e sugere valores próximos à neutralidade (entre 7 e 8).

Além do oxigênio dissolvido, temperatura e pH, outro requisito de grande importância para a ocorrência da desnitrificação é a disponibilidade de matéria orgânica. Por serem de natureza heterotrófica, as bactérias desnitrificantes necessitam que uma fonte de carbono orgânico esteja disponível para que a redução do NO_3^- a N_2 ocorra

(JORDÃO & PESSOA, 2005). Dessa forma, a redução do nitrato em sistemas biológicos de tratamento de esgoto é dependente da entrada de matéria orgânica no tanque anóxico, de tal forma que as bactérias desnitrificantes se utilizam desse substrato como doadores de elétrons para reduzir o nitrato a nitrogênio gasoso. Dentre os substratos utilizados, pode-se destacar os carboidratos, álcoois, aminoácidos e ácidos graxos, normalmente encontrados em esgoto sanitários (ARTAN e ORHON, 2005)

2.2.2 Remoção biológica de fósforo: Bidesfosfatação

Em sistemas biológicos de tratamento de esgoto, o fósforo pode ser removido por duas rotas: via assimilação para síntese celular e via bidesfosfatação para obtenção de energia. Sabe-se que apenas uma pequena quantidade de fósforo pode ser removida via síntese celular (1-2% da massa total dos sólidos em suspensão do licor misto) (LESJEAN, 2003). Por outro lado, a bidesfosfatação, ou processo EBPR, quando bem controlado, pode atingir eficiências de remoções acima de 90%, sendo, portanto, uma boa alternativa a remoção desse nutriente utilizando-se apenas do processo biológico.

Para que o processo EBPR se desenvolva, alguns requisitos são necessários, com destaque a alternância de ambientes aeróbios e anaeróbios na linha de tratamento, de tal forma a favorecer o crescimento de microrganismos específicos e que realizam a bidesfosfatação. Na literatura, tais microrganismos são conhecidos como organismos acumuladores de fósforo, ou simplesmente PAO. Os PAOs são capazes de armazenar fosfato na forma de poli-fosfato intracelular para obtenção de energia, removendo assim o fosfato dissolvido do licor misto. Posteriormente, a partir do descarte do lodo, o fósforo acumulado é removido juntamente com os microrganismos da unidade de tratamento (OEHMEN et al., 2007).

Além da necessidade de alternância de ambientes aeróbias e anaeróbias, o processo EBPR exige-se também que durante a etapa anaeróbia seja disponibilizada aos microrganismos uma fonte de substrato orgânico. Sendo assim, a alimentação de reatores voltados a remoção desse nutriente deve ser direcionada ao tanque anaeróbio, de tal forma que o carbono orgânico presente no esgoto possa ser utilizado pelos PAOs.

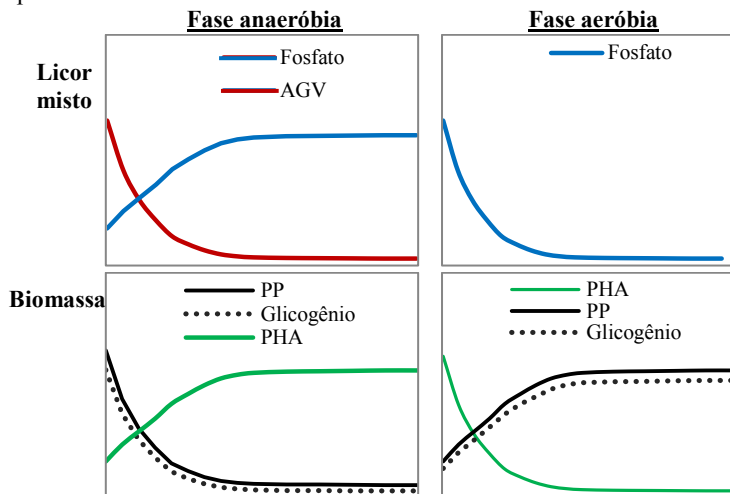
A metabolização da matéria orgânica do esgoto pelos PAOs durante a etapa anaeróbia resulta na formação de polihidroxialcanoatos

intracelulares (PHAs). Simultaneamente, o glicogênio e o polifosfato intracelular são consumidos, levando à liberação do fosfato previamente armazenado para o licor misto. Em condições aeróbias ou anóxicas, o fosfato é absorvido e rearmazenado sob a forma de polifosfato (PP) intracelular, enquanto que as reservas de glicogênio intracelulares são restauradas e o PHA é oxidado (EPA, 2010). Dessa maneira, a remoção de fósforo via processo EBPR pode ser dividida em duas etapas: etapa anaeróbia e etapa aeróbia.

Etapa anaeróbia: sob condições anaeróbias, os PAOs iniciam a acumulação de Ácidos Graxos Voláteis (AGV), previamente disponibilizados no meio líquido pelo metabolismo de bactérias fermentativas. Uma vez assimilado e armazenado dentro da célula, estes ácidos graxos são rapidamente transformados em produtos metabólicos orgânicos, tal como o PHA (poli-hidroxialcanoato), visando a sua posterior oxidação durante a etapa aeróbia. Ao mesmo tempo, os PAOs passam a liberar em solução grandes quantidades de fosfato, através da quebra das ligações da molécula de ATP (adenosina-trifosfato) e dessa maneira produzir energia para célula, que poderá então ser utilizada durante a execução dos processos metabólicos descritos anteriormente. Assim, tem-se resumidamente ao longo da etapa anaeróbia o consumo de matéria orgânica facilmente biodegradável, por meio da assimilação dos AGV e a liberação de fosfato para o meio líquido, através da quebra da molécula de ATP (VON SPERLING, 2005; METCALF e EDDY, 2003; ARTAN e ORHON, 2005)

Etapa aeróbia: Sob condição aeróbia, os PAOs passam a metabolizar o PHA e assim disponibilizar energia para que o processo de acúmulo do fosfato no interior de suas células seja executado. Dessa maneira, a molécula de ATP é reconstruída e a remoção do fósforo dos esgotos é executada. Ao final do processo, a quantidade de fosfato excretado durante a fase anaeróbia é menor do que a quantidade absorvida durante a fase aeróbia. Em tal condição, uma quantidade em excesso de fósforo é absorvida pelos PAOs, mecanismo este conhecido na literatura como *Luxury uptake* ou consumo de luxo. Naturalmente, essa quantidade em excesso refere-se ao fósforo proveniente do esgoto a ser tratado. Dessa maneira, o fósforo presente no esgoto é removido (METCALF e EDDY, 2003; ARTAN e ORHON, 2005, MINO et al., 1998). A Figura 8 ilustra as transformações bioquímicas envolvendo o fosfato, PHA, glicogênio, polifosfato (PP) e os AGV durante as etapas anaeróbia e aeróbia.

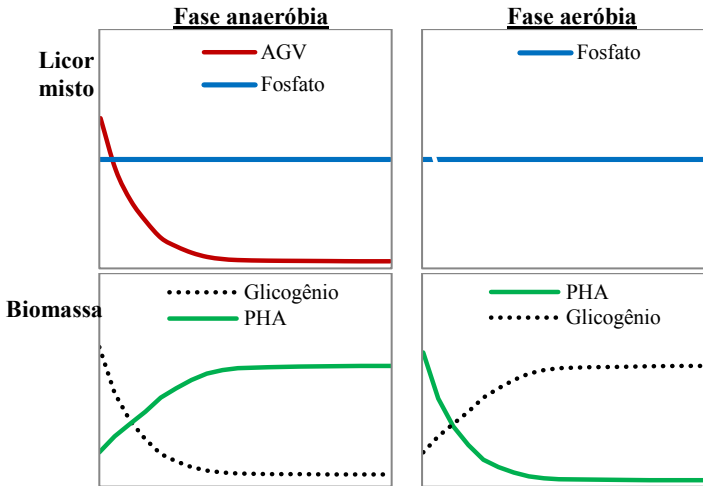
Figura 8 - Representação das transformações bioquímicas envolvidas no processo EBPR.



AGV: Ácidos graxos voláteis; PP: Polifosfato; PHA: Polihidroxialcanoatos
 Fonte: adaptado de Lopes-Vazquez (2009).

Bassin et al. (2012) ressaltam que o desenvolvimento das reações bioquímicas ilustradas na Figura 8 podem ser afetadas pelo aumento da temperatura. Whang e Park (2006) reportam que temperaturas acima de 20 °C tende a estimular o crescimento de um outro grupo de microrganismos, conhecidos como organismos acumuladores de glicogênio (GAO), que da mesma maneira que os PAOs, necessitam da alternância de ambientes anaeróbio e aeróbio para se desenvolver, mas que não realizam a remoção de fósforo. Além disso, as GAOs consomem o substrato que antes estaria disponível ao processo EBPR, comprometendo assim a liberação do fosfato durante a etapa anaeróbia, e conseqüentemente, a sua reabsorção na etapa aeróbia. Assim, o aumento da temperatura pode favorecer a proliferação da população de GAO e afetar negativamente a remoção biológica de fósforo, comprometendo as transformações bioquímicas apresentadas na Figura 8. Em decorrência, um novo perfil de reações bioquímicas pode tomar espaço no reator, em que se destaca a não remoção de fosfato, conforme pode-se observar na Figura 9.

Figura 9 - Representação das transformações bioquímicas realizadas pelas GAOs.



Fonte: adaptado de Lopes-Vazquez (2009).

Outro interferente que também prejudica o desenvolvimento do processo EBPR é a presença de nitrato na etapa anaeróbia (METCALF e EDDY, 2003). He et al. (2010) verificaram que a adição de nitrato no tanque anaeróbia na concentração de 10 mg L^{-1} por 35 dias resultou na redução da população de “*Candidatus Accumulibacter*”, em que se inserem os PAOs. Assim, a presença de nitrato na etapa anaeróbia pode inibir a atividade dos PAOs ou levar a competição entre os PAOs e as bactérias desnitrificantes pelo substrato orgânico. Nessa segunda hipótese, a presença de nitrato favoreceria o crescimento de microrganismos heterotróficos comuns, como as desnitrificantes, que ao realizar a redução do nitrato utilizariam o carbono orgânico como doador de elétrons, diminuindo assim a sua disponibilidade para o crescimento dos PAOs (GUERRERO et al., 2011).

Embora a presença do nitrato na etapa anaeróbia possa prejudicar o processo EBPR, a presença desse nutriente na etapa anóxica pode ser benéfica para a remoção de fósforo. Wachtmeister et al. (1997) verificaram que a absorção do fósforo poderia se desenvolver tendo o nitrato como acceptor de elétrons, e não apenas via oxigênio durante a etapa aeróbia. Tal processo foi então atribuído aos organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes (DPAO), que da mesma maneira que os PAOs, liberam o fósforo durante a etapa anaeróbia e absorvem, neste caso, na etapa anóxica. A presença dos DPAOs em

sistemas de tratamento de esgoto é altamente desejável, uma vez que a remoção de fósforo passa a demandar menor aeração, a produção de lodo é mais baixa e o acúmulo de nitrito/nitrato no sistema é menor (ZHENG et al., 2014).

Por fim, destaca-se que o tempo destinado a etapa anaeróbia também representa um parâmetro importante no que diz respeito a remoção biológica de fósforo. Verifica-se na literatura que a maioria dos trabalhos tem adotado tempos compreendidos entre 1 e 2 horas para a etapa anaeróbia.

A adoção de um tempo adequado é necessário para permitir a fermentação dos AGV e subsequente formação de PHA em quantidade suficiente a ser utilizada pelos PAOs durante a subsequente etapa aeróbia na absorção do fosfato (SFENSEL, 1991). De acordo com Brown et al. (2001), a produção de AGV tende a aumentar com o aumento da tempo da fase anaeróbia, o que supostamente resultaria em uma maior acumulação de PHA pelos PAOs, e em decorrência, a um melhor desempenho do processo EBPR. Contudo, Danesh e Oleszkiewicz (1997) ressaltam que um tempo de etapa anaeróbia muito elevado também pode comprometer o processo EBPR, tendo em vista que nessas condições passa a ocorrer no reator o processo conhecido como liberação secundária do fósforo. A liberação secundária de fósforo ocorre a partir do momento em que toda a matéria orgânica já foi convertida a AGV e este por sua vez já foi todo assimilado pelos PAOs. Nessas condições, os PAOs continuam a liberar fosfato para o licor misto, mas sem capturar AGV e armazenar na forma de PHA. Como principal consequência desse processo, tem-se na subsequente etapa aeróbia uma maior quantidade de fosfato no licor misto do que os PAOs são capazes de absorver, levando assim a um desequilíbrio entre o processo de liberação e acumulação de fosfato, e consequentemente a menor eficiência de remoção de fósforo no reator. Portanto, a adoção adequada do tempo destinado à etapa anaeróbia deve ser criteriosa, de tal forma que não seja muito curto para que processo fermentativo da matéria orgânica ocorra, mas também não muito longo para evitar o processo de liberação secundária do fosfato.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 UNIDADE EXPERIMENTAL

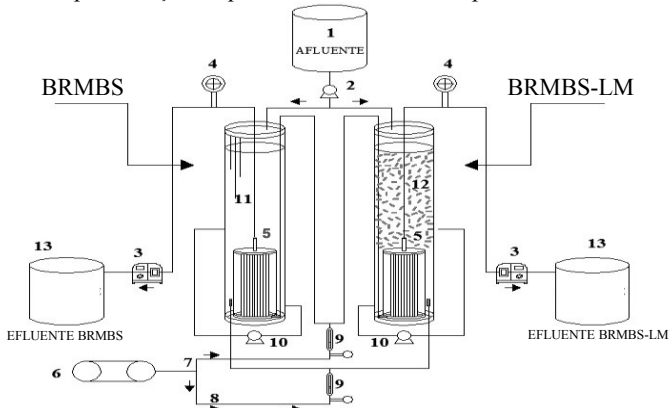
A unidade experimental foi instalada no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O sistema consistia de dois biorreatores à membrana em escala piloto, posicionados em paralelo e operados conforme os objetivos propostos. Construídos em acrílico, esses reatores apresentam formato cilíndrico, com 14,5 cm de diâmetro e 150 cm de altura, totalizando 24 litros de volume total e 18,3 litros de volume útil. Na base de cada reator foram instalados os módulos de membranas (ZW-10, Zenon Environmental Inc., General Electric Co.), do tipo fibra oca e que operavam de maneira submersa.

Além dos tanques cilíndricos e dos módulos de membranas, a unidade experimental era equipada também de duas bombas centrífugas, que realizam o enchimento dos reatores; duas bombas peristálticas conectadas às membranas, que promoviam o vácuo necessário ao processo de filtração; duas bombas de recirculação, que visavam homogeneizar a biomassa e o esgoto nos tanques; dois compressores de ar que forneciam o oxigênio ao processo biológico e auxiliavam na minimização da deposição de biomassa na superfície das membranas; dois sensores de pressão instalados junto à tubulação do permeado, que registravam continuamente os valores da pressão transmembrana (PTM); dois rotômetros para controle da vazão de ar aplicada aos reatores, e por fim, dois painéis de controle equipados com CLPs (central lógica de processamento) que automatizam toda a operação dos reatores.

Para atender aos objetivos dessa pesquisa, um dos biorreatores foi preenchido com material suporte, de forma a promover o crescimento de biomassa aderida durante a sua operação, enquanto que o outro teve apenas o crescimento de biomassa floculenta, não sendo, portanto, adicionado neste o material suporte. Dessa forma, a unidade experimental era composta de um biorreator à membrana de leito móvel (BRM-LM) e um biorreator a membrana convencional (BRM), operados em paralelo e submetidos as mesmas condições operacionais. Na

Figura 10 pode-se visualizar a representação esquemática da unidade experimental, composta pelo BRM-LM e pelo BRM.

Figura 10 – Representação esquemática da unidade experimental.



1- Reservatório do afluente (esgoto). 2-Bomba de alimentação. 3-Bombas peristálticas de filtração. 4- Sensores de pressão transmembrana. 5- Módulos de membranas. 6- Compressor de ar. 7- Linha de ar para aeração da membrana. 8- Linha de ar para aeração dos biorreatores. 9- Rotâmetros. 10- Bombas de recirculação. 11- Sensor de nível. 12-Material suporte. 13- Reservatório do efluente (permeado).

Fonte: Próprio autor.

O material suporte utilizado para preencher o BRM-LM (Figura 11) é confeccionado em polietileno, em formato cilíndrico, com diâmetro de 15 mm e superfície para adesão microbiana de $550 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$. Este material, sob marca registrada AMB BioMedia™, foi gentilmente cedido pela empresa White Martins, representante dos produtos da *DynamicAqua Science Ltda* no Brasil, então fabricante do referido material suporte.

Figura 11 –Material suporte AMB BioMedia™ utilizado no BRMBS-LM.

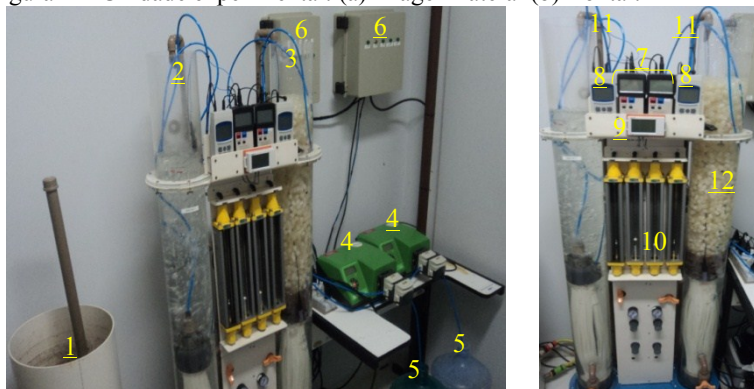


Fonte: Próprio autor.

De acordo com as recomendações feitas por Rusten et al. (2006) e Salvetti et al. (2006) e com base na capacidade hidrodinâmica dos reatores, foi adotado a proporção de 30% de volume de material suporte para o volume total do BRM-LM (V_s/V_R), fração essa também verificada nos trabalhos realizados por Canziani et al. (2006), Reboleiro-Rivas et al. (2013), Leyva-Díaz et al. (2015) e Zhu et al. (2015).

A Figura 12 apresenta imagens da unidade experimental, em que pode-se visualizar a presença do material suporte no BRM-LM. Para evitar que o material suporte danificasse as fibras do módulo de membranas, foi instalado uma tela de polietileno flexível na meia altura do BRM-LM, impedindo assim que o material suporte tivesse contato com o módulo de membranas.

Figura 12- Unidade experimental: (a) imagem lateral (b) frontal.



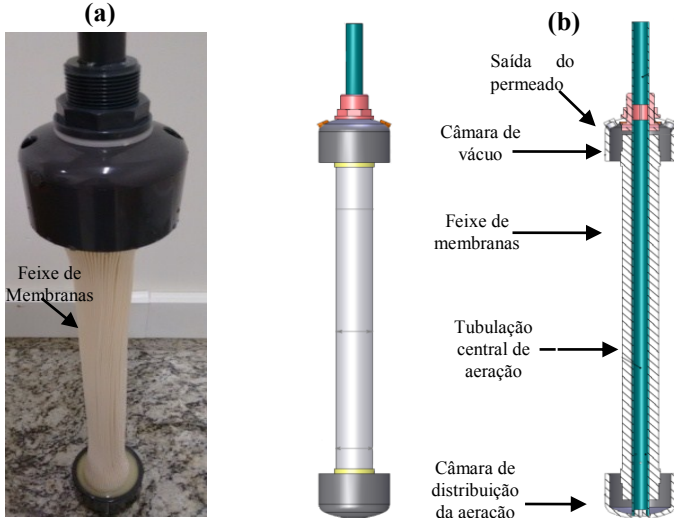
1: Reservatório do esgoto; 2:BRMBS; 3: BRMBS-LM; 4:Bombas de filtração; 5: Reservatórios do permeado; 6: Painéis de controle; 7: Vacuômetros; 8:Dataloger dos vacuômetros; 9: Termômetro com dataloger; 10: Rotômetros;11:Tubulação de enchimento dos reatores; 12: Material suporte.

Fonte: próprio autor.

Em ambos os reatores, a aeração era realizada por dois mecanismos distintos: aeração por sistema de mangueira porosa e aeração pelo próprio módulo de membranas. No primeiro caso, a vazão de ar fluía pela mangueira porosa, confeccionada em material sintético e instalada na base dos reatores. Tal mecanismo de aeração tinha por objetivo principal o fornecimento de oxigênio ao processo biológico, tendo em vista o menor diâmetro das bolhas produzidas. Já no segundo caso, a aeração se dava a partir de um sistema central do próprio

módulo, que tinha por objetivo principal minimizar a deposição de sólidos na superfície das membranas, a partir da turbulência gerada pela vazão de ar. Nesse caso, o sistema de aeração era alimentado por uma tubulação central, a qual estava conectada ao compressor de ar. A Figura 13 apresenta a imagem do módulo de membranas utilizado em ambos os reatores bem como a sua representação esquemática.

Figura 13- (a) Imagem do módulo de membranas e (b) Representação esquemática do módulo de membranas utilizado.



Fonte: Próprio autor (a) e Zenon Environmental Inc (b).

Por fim, a **Tabela 3** apresenta especificações técnicas do módulo ZW-10, fornecidas pelo fabricante.

Tabela 3 - Especificações técnicas do módulo de membranas.

Propriedade	Especificações
Material da Membrana	Polímero orgânico
Comprimento do módulo	69,2 cm
Número de fibras	300
Comprimento das fibras	56 cm
Diâmetro dos poros	0,04 μm
Classificação	Ultrafiltração
Área filtrante	0,93 m^2
Diâmetro externo das fibras	2 mm

3.2 OPERAÇÃO DOS REATORES

A operação dos reatores foi conduzida de maneira descontínua, mediante regime de batelada sequencial. Dessa maneira, a partir desse ponto, os reatores serão denominados como biorreator a membrana de leito móvel em batelada sequencial (BRMBS-LM) e biorreator a membrana em batelada sequencial (BRMBS). Em ambos os reatores, as bateladas eram compostas por quatro fases distintas, a saber: (I) alimentação, (II) anóxica/anaeróbia, (III) aeração, e (IV) aeração/filtração. Na sequência, são apresentadas as descrições detalhadas do ciclo operacional dos reatores.

I) Fase de alimentação: os reatores eram abastecidos com esgoto sanitário até que o nível máximo de 18,3 litros fosse alcançado. Desse volume, 9,15 litros correspondem ao licor misto remanescente do ciclo anterior e 9,15 litros são de esgoto sanitário recém adicionado ao sistema, correspondendo, portanto, a uma taxa de troca volumétrica de 50%. Durante essa etapa, o sistema de aeração e de filtração permaneciam desligados, mantendo-se apenas a bomba de recirculação em funcionamento, para melhor mistura da biomassa e o esgoto adicionado.

II) Fase anóxica/anaeróbia: Após o período de alimentação, os reatores permaneciam apenas com a bomba de recirculação em funcionamento, de tal forma a garantir que os processos de desnitrificação e de liberação do fosfato ocorressem.

III) Fase de aeração: Ao final da fase anóxica/anaeróbia, o sistema de aeração era acionado, promovendo a oxigenação do licor misto e, por conseguinte a ocorrência dos processos aeróbios (oxidação da matéria carbonácea, nitrificação e absorção do fosfato).

IV) Fase de aeração/filtração: Passado o período da fase de aeração, a bomba peristáltica era acionada, dando início à filtração do licor misto do reator e, portanto, à produção do permeado. Durante esse período, a filtração era conduzida mediante modo intermitente, com fases de 9 minutos de pressurização e 1 minuto de relaxamento. A fase de aeração/filtração perdurava até que o nível mínimo do reator de 9,15 litros fosse atingido. Finalizada a fase de aeração/filtração, iniciava-se outro ciclo operacional dos reatores.

O tempo empregado em cada fase do ciclo, bem como o tempo total de cada batelada foram ajustados para cada a estratégia operacional utilizada, conforme é descrito a seguir, no item 3.2.1.

3.2.1 Estratégias Operacionais

Para atender aos objetivos específicos dessa pesquisa, a operação do reator foi conduzida mediante três estratégias operacionais, denominadas de E-1, E-2 e E-3. Resumidamente, a primeira estratégia operacional (E-1) buscou avaliar o desempenho dos reatores durante os seus períodos de partida. A segunda estratégia (E-2) avaliou o impacto da redução do TDH de 12 para 6 horas no desempenho dos reatores. Por fim, na terceira estratégia (E-3) estudou-se a utilização da redução do oxigênio dissolvido de 4 para $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. A Tabela 4 apresenta os valores dos parâmetros operacionais aplicados em cada estratégia, bem como os tempos de ciclo empregados.

Para promover a redução do TDH de 12 para 6 horas na estratégia E-2, optou-se por reduzir o tempo da fase aeróbia de 255 min para 75 min. Dessa maneira, o tempo total de ciclo foi reduzido de 6 para 3 horas, permitindo que os reatores executassem 8 ciclos por dia nessa nova configuração. Assim, o TDH pôde ser reduzido para 6 horas sem a necessidade de alterar o fluxo de filtração das membranas, condição importante para fins de comparação do processo da colmatação em cada estratégia.

Durante a estratégia E-3, a vazão de ar aplicada nos reatores foi inicialmente mantida em $6,4 \text{ min}^{-1}$, tal como praticado nas situações anteriores e, posteriormente, reduzida para $1,6 \text{ L min}^{-1}$. Tal condição permitiu que os reatores operassem inicialmente nessa estratégia com OD máximo de 4 mg L^{-1} e, posteriormente, com OD máximo $1,5 \text{ mg L}^{-1}$.

Tabela 4 - Parâmetros operacionais empregados nas estratégias E-1, E-2 e E-3.

	Fases componentes de cada batelada					Fluxo (L m ⁻² h ⁻¹)	TDH (h)	Qar (L min ⁻¹)	OD* (mg L ⁻¹)	Tempo (dias)
	Alim (min)	Anox/anae (min)	Aer (min)	Filt/Aer (min)	Tempo total (h)					
E-1	2	58	255	45	6	15,2	12	6,4	6	62
E-2	2	58	75	45	3	15,2	12 - 6	6,4	4	145
E-3	2	58	75	45	3	15,2	6	6,4 – 1,6	4 – 1,5	145

Alim: alimentação; Anox/anae: Anóxica/anaeróbia; Aer: aeração; Filt/Era: filtração/aeração; TDH: Tempo de detenção hidráulica; OD: oxigênio dissolvido. *Valores máximos de OD alcançados ao final do ciclo.

Ao longo das estratégias E-1, E-2 e E-3, a taxa de troca volumétrica (TTV) foi mantida constante em 50% nas três ocasiões. Em decorrência, os reatores produziam em cada batelada 9,15 litros de esgoto tratado, gerando uma vazão diária permeado em cada reator de 36,6 L (9,15 L x 4 ciclos) na estratégia E-1 e de 73,2 L (9,15 x 8 ciclos) nas estratégias E-2 e E-3. A idade de lodo (θ_c) nos reatores era mantida em 15 dias, baseando-se em outros trabalhos que mostram que a remoção biológica de fósforo tende a ser mais estável sob tal valor de θ_c (MONCLÚS et al., 2010; YANG et al., 2010, WU et al., 2011; SUN, WANG e LI, 2013, XU, WU e HU, 2014).

3.3 CARACTERIZAÇÃO HIDRODINÂMICA DOS BRMs

A caracterização hidrodinâmica dos reatores foi realizada a partir da determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (1) e tempo de mistura (2). A seguir, é apresentada a metodologia utilizada para determinação de cada um dos parâmetros mencionados.

3.3.1 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_{La}).

O ensaio para a determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_{La}) era realizada em três etapas: (1) ensaio com aeração pelo difusor de ar do reator, (2) ensaio com aeração do módulo de membranas e (3) ensaio com aeração do difusor e do módulo, simultaneamente. Nas três etapas, fez-se uso do método de reaeração, após a adição de sulfito de sódio e cloreto de cobalto, conforme proposto por Ramalho (1991).

Vale ressaltar que a determinação do K_{La} , nos reatores era realizada com água, portanto em ausência de biomassa, de tal forma que o resultado obtido deve ser entendido como valor de referência, visto que a concentração de sólidos e o consumo de oxigênio, pelos microrganismos, afetariam o processo de reaeração, e consequentemente, os valores do K_{La} .

Para a realização do ensaio, os BRMs foram preenchidos com água destilada até nível o máximo de 18,3 litros. Inicialmente, procede-se a desoxigenação da água nos reatores, com a adição de sulfito de sódio (160 mg L^{-1}). Em seguida, adiciona-se o catalizador cloreto de cobalto à água (2 mg L^{-1}). A partir de então, o sistema é aerado até o

momento em que a concentração de oxigênio torna-se constante, indicando, portanto, a saturação do meio. O monitoramento da concentração de oxigênio dissolvido e da temperatura era realizada utilizando-se do oxímetro portátil YSI ProOD, com sensor óptico e termômetro embutido. A seguir, é apresentada a sequência de cálculos necessários para a obtenção do $K_L a$.

A partir da Equação 7, obtém-se o valor de $K_L a$ (1/min).

$$\ln C^* - C = K_L a \cdot t \quad (7)$$

Em que:

C^* : Concentração de saturação de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1});
 C : Concentração do oxigênio dissolvido no meio líquido (mg.L^{-1});
 t : Tempo (min).

Em seguida, o valor encontrado deve ser corrigido para a temperatura padrão de 20°C , por meio da Equação 8.

$$K_L a_{(20^\circ \text{C})} = \frac{K_L a_T}{1,02^{(T-20)}} \quad (8)$$

Em que:

T : Temperatura média no meio líquido ($^\circ \text{C}$) durante a realização do ensaio.

Por meio do valor de $K_L a$, é possível determinar a massa de oxigênio transferida por unidade de tempo nas condições padrão (N_0).

$$N_0 = K_L a \cdot V \cdot C^* - C \quad (9)$$

Em que:

V : Volume do tanque (em L);
 C^* : Concentração de saturação de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1});
 C : Concentração de oxigênio dissolvido (OD) na água limpa (mg.L^{-1}).

3.3.2 Determinação do Tempo de mistura dos BRM

A determinação do tempo de mistura tem por objetivo definir o tempo necessário para que uma substância se misture igualmente no reator, permitindo, desse modo, estabelecer o melhor momento para a realização das coletas das amostras. A sua determinação, nessa pesquisa, foi obtida por meio do método de estímulo e resposta, utilizando-se o traçador salino NaCl.

O teste foi realizado em duas etapas: (1) com o reator operando com as bombas de recirculação e (2) com o reator operando sob aeração. Em ambos os casos, os reatores são preenchidos com água até o nível máximo de 18,3 litros. Em seguida, adiciona-se um pulso do traçador salino pela parte superior do reator. A partir de então, a evolução da concentração do sal é monitorada por meio de medições contínuas da condutividade elétrica na água no fundo do reator, até que a mesma se torne constante ao longo do tempo. Por fim, uma curva de calibração previamente realizada, a qual está apresentada no apêndice A, permitiu relacionar os valores da condutividade verificada às concentrações de NaCl.

3.4 INOCULAÇÃO, ALIMENTAÇÃO, CONTROLE DA IDADE DO LODO E LIMPEZA DAS MEMBRANAS

3.4.1 Inoculação e partida dos reatores

Os BRMs foram inoculados com lodo proveniente do tanque de aeração de um sistema de lodos ativados localizado no bairro de Jurerê Internacional, da cidade de Florianópolis, o qual também opera sob a modalidade de batelada sequencial.

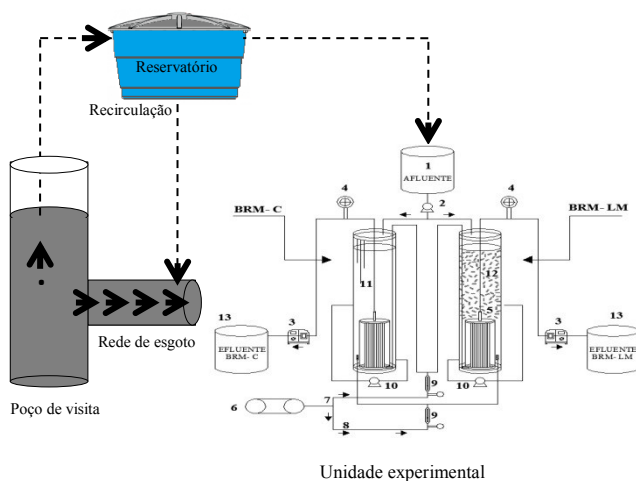
Para a inoculação, foram coletados 60 litros de lodo da referida estação de tratamento de esgoto. Em seguida, o lodo foi concentrado, pelo processo de sedimentação, de forma a se obter uma concentração final de SSV próxima a 10.000 mg L^{-1} , usualmente observada em BRMs. Após esse processo, o lodo concentrado foi transferido para os BRMs, no volume de 9,15 litros para cada reator. Em seguida, foi dada a partida no sistema, adicionando-se mais 9,15 litros de esgoto em cada reator.

3.4.2 Alimentação dos reatores

A alimentação dos reatores era realizada com esgoto sanitário, captado junto à rede coletora de esgotos da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN) no bairro pantanal, da cidade de Florianópolis-SC. O poço de visita em que era captado o esgoto está localizado próximo ao Laboratório de Experimentação de Tecnologias Avançadas (LETA), pertencente ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC. A captação do esgoto era feita por meio de uma bomba que operava submersa no poço de visita, posicionada dentro de um tubo de PVC com perfurações de 10 mm. Tal dispositivo foi utilizado com vistas a retenção dos sólidos grosseiros e evitar, por consequência, a entrada destes nos biorreatores.

Após a captação, o esgoto era armazenado em um tanque com capacidade volumétrica de 5.000 L e recirculado periodicamente para a rede, em um ponto a jusante da captação (Figura 14). A partir desse tanque de armazenamento, o esgoto era coletado e transportado diariamente até a unidade experimental.

Figura 14– Representação esquemática da captação do esgoto sanitário para alimentação do reator.



Fonte: Próprio autor.

3.4.3 Controle da idade do lodo

A idade do lodo (θ_c) nos BRMs era mantida em 15 dias ao longo de todo o período operacional, a partir do descarte diário de um determinado volume do licor misto de cada reator. Fazendo-se uso da Equação 10, o volume de licor misto a ser descartado diariamente pode encontrado.

$$\theta_c = \frac{V_{\text{biorreator}}}{Q_{\text{descarte}}} \quad (10)$$

Em que:

θ_c : Idade do lodo (dias);

$V_{\text{biorreator}}$: Volume do biorreator (L);

Q_{descarte} : Vazão de descarte do lodo (L.dia⁻¹).

Considerando que o volume dos reatores é de 18,3 litros, a vazão de descarte do licor misto deve ser de 1220 mL dia⁻¹ para atender a idade de lodo de 15 dias. O descarte era realizado manualmente, sempre ao final de um ciclo operacional do reator.

3.4.4 Limpeza das membranas

A limpeza das membranas era realizada quando o valor da PTM superava o valor limite de 0,6 bar, conforme sugere as instruções do fabricante do módulo de membranas. Para tal, o módulo era retirado do reator e submetido ao processo de limpeza química. O procedimento de limpeza consistia na imersão do módulo de membranas em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm, por 2 horas. Em seguida, o módulo é lavado com água destilada para remoção da solução de hipoclorito residual. Para a remoção da incrustação inorgânica, o módulo era posteriormente imerso em solução de ácido cítrico, na concentração de 5 g L⁻¹, por 2 horas. Após esse processo, o módulo era submetido novamente ao processo de filtração com água destilada para a remoção dos resíduos químicos da limpeza. Em seguida, o módulo era retornado ao BRM e sua operação retomada.

3.5 MONITORAMENTO DOS BRMs

O monitoramento dos BRMs era realizado sob duas abordagens: monitoramento de parâmetros relacionados à remoção biológica de nutrientes e monitoramento de parâmetros relacionados ao potencial de incrustação do licor misto e colmatção das membranas. No item 3.5.1 foram apresentadas e descritas as análises de monitoramento que dizem respeito ao processo de remoção de nutrientes, enquanto que no item 3.5.2 foram apresentadas as análises de monitoramento associadas ao processo de colmatção das membranas.

3.5.1 Monitoramento de parâmetros relacionados à remoção de nutrientes

As análises de monitoramento dos reatores relacionadas ao processo de remoção de nutrientes são apresentadas Tabela 5, assim como a periodicidade de suas realizações.

Tabela 5 - Análises empregadas para o monitoramento dos BRMs.

Análises	Item	Periodicidade
Eficiência do BRM	3.5.1.1	2 vezes por semana
Análise de ciclo	3.5.1.2	1 vez ao mês
Quantificação de biofilme	3.5.1.3	2 vezes por semana
Sequenciamento genético	3.5.1.4	1 vez a cada dois meses
Microscopia óptica	3.5.1.5	1 vez ao mês

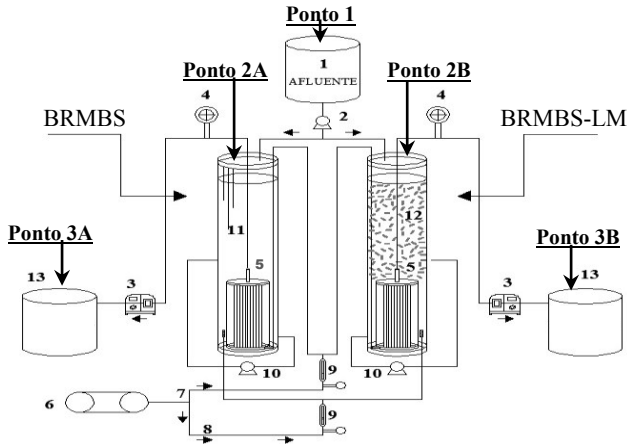
A seguir, foram descritos em maiores detalhes as metodologias empregadas para cada uma das análises apresentadas na Tabela 7.

3.5.1.1 Eficiência do BRM

Para avaliar a eficiência dos reatores, foram coletadas amostras do esgoto bruto e do permeado, obtendo-se assim os pontos de entrada e saída da unidade experimental. Além disso, foram coletadas também amostras do licor misto do reator, ao final de cada uma das fases do ciclo operacional (alimentação, anóxica/anaeróbia, aeração e aeração/filtração). Portanto, a unidade experimental era amostrada em três pontos distintos: reservatório do esgoto (ponto 1), licor misto (ponto 2 A

e B) e reservatório do permeado (ponto 3A e B), conforme ilustrado na Figura 15.

Figura 15– Pontos a serem amostrados na unidade experimental.



Após a coleta, uma parte das amostras de esgoto e do licor misto era previamente filtrada em membrana de acetato celulose de 0,45 μm . Posteriormente, todas as amostras, filtradas e não filtradas, eram devidamente preservadas para a realização das análises dos parâmetros apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Parâmetros analisados em diferentes pontos amostrados.

Pontos amostrados	Parâmetros analisados
P1 – Reservatório do esgoto	DQO, COD, N_{total} , $N\text{-NH}_4^+$, $N\text{-NO}_2^-$, $N\text{-NO}_3^-$, P_{total} , $P\text{-PO}_4^-$, SST, SSV, turbidez, cor e pH
2 – Licor misto (reator)	
<i>Final enchimento</i>	DQO, COD, N_{total} , $N\text{-NH}_4^+$, $N\text{-NO}_2^-$, $N\text{-NO}_3^-$, P_{total} , $P\text{-PO}_4^-$, SST, SSV, temperatura, OD, pH, cor e IVL.
<i>Final anox/anaeróbia</i>	
<i>Final aeração</i>	
<i>Final aeração e filtração</i>	
3 – Permeado	DQO, COD, $N\text{-NH}_4^+$, $N\text{-NO}_2^-$, $N\text{-NO}_3^-$, $P\text{-PO}_4^{3-}$, turbidez, cor, turbidez e pH.

A metodologia e frequência das análises físico-químicas realizadas durante o monitoramento dos reatores são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros analisados, métodos analíticos e frequência de amostragem.

Parâmetro	Metodologia	Frequência
DQO	Método colorimétrico de refluxo fechado, com Kit HACH (método 8000) e leitura em espectrofotômetro Hach DR/5000.	2 vezes por semana
COD	Método do carbono orgânico não purgável (TOC-LCSH marca SHIMADZU).	2 vezes por semana
Nitrogênio total	Digestão com persulfato em Kit HACH (método 10072) e amostras lidas em espectrofotômetro Hach modelo DR/5000.	2 vezes por semana
Nitrogênio Amoniacal	Método de Nessler com kit HACH (método 10031) e leitura em espectrofotômetro Hach modelo DR/5000.	2 vezes por semana
Nitrito, Nitrato, Ortofosfato	Cromatografia líquida de troca iônica	2 vezes por semana
Fósforo Total	Digestão com persulfato em Kit HACH (método 10127) e leitura em espectrofotômetro Hach modelo DR/5000.	2 vezes por semana
SST e SSV	Método gravimétrico.	2 vezes por semana
pH	Método potenciométrico e leitura em pHmetro OrionStar A2215.	2 vezes por semana
Alcalinidade	Medido pela modificação de pH através da adição de ácido sulfúrico 0,02 N.	2 vezes por semana
Cor	Filtração em membrana 0,45 µm e leitura em espectrofotômetro Hach DR/5000	2 vezes por semana
Viscosidade	Viscosímetro digital Brookfield DVI Prime	2 vezes por semana
OD e temperatura	Oxímetro portátil YSI-55, faixa de leitura -5 a 45 °C.	2 vezes por semana

DQO: Demanda química de oxigênio; COD: Carbono orgânico dissolvido; SST: Sólidos suspensos totais; SSV: Sólidos suspensos voláteis. OD: oxigênio dissolvido.

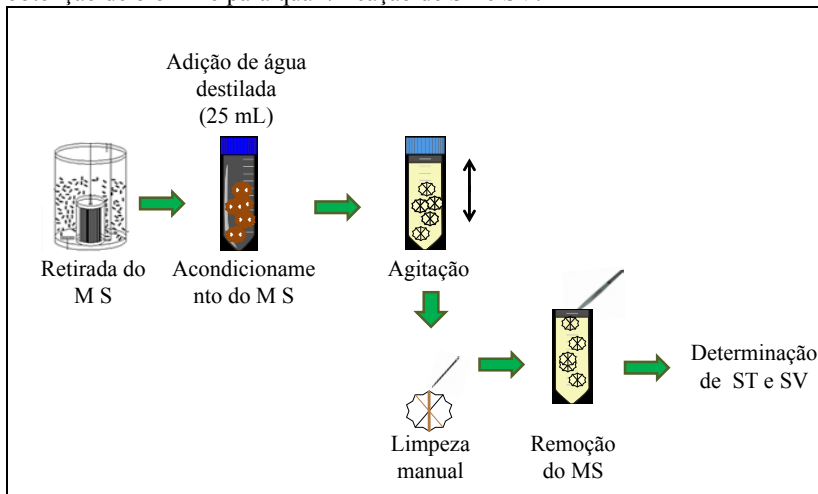
3.5.1.2 Análise de ciclo

Com o intuito de compreender melhor os fenômenos que ocorrem durante um ciclo de tratamento, era realizada também a análise de monitoramento do ciclo operacional dos reatores, ao final de cada estratégia aplicada. Trata-se, portanto, de uma amostragem adicional à realizada no 3.5.1.1, que consistia em coletar amostras do licor misto a cada 10 minutos ao longo da duração dos ciclos operacionais. Buscou-se assim acompanhar ao longo de um ciclo completo o desenvolvimento dos processos de nitrificação e desnitrificação, bem como os mecanismos envolvidos na absorção e liberação de fosfato do licor misto em ambos os BRMs.

3.5.1.3 Obtenção e quantificação do biofilme

O crescimento do biofilme no material suporte presente no BRMBS-LM era mensurado a partir da determinação de sólidos total (ST) e sólidos voláteis (SV). Para tal, era necessário remover o biofilme dos suportes aos quais ele crescia aderido. O procedimento iniciava-se com a retirada de cinco unidades aleatórias de suporte móvel do BRMBS-LM. Após a coleta, os suportes eram acondicionados em um tubo falcon contendo 25 mL de água destilada. O recipiente era então agitado manualmente para promover o desprendimento da biomassa aderida ao suporte. Nos casos em que esse procedimento não fosse suficientemente satisfatório, uma agulha era utilizada para retirar o material que ainda estivesse aderido aos suportes. Por fim, com o auxílio de uma pinça, todas as peças eram removidas do tubo falcon para que assim a amostra obtida fosse submetida a análise gravimétrica do teor de sólidos totais (ST) e voláteis (SV). Cabe ressaltar que o procedimento de extração do biofilme aqui descrito também foi utilizado para obtenção de amostra destinada ao sequenciamento genético bacteriano dessa fração de biomassa. Na Figura 16 encontra-se ilustrada a sequência metodológica empregada para a obtenção do biofilme.

Figura 16- Representação esquemática da sequência metodológica para obtenção de biofilme para quantificação de ST e SV.



*MS: material suporte

Fonte: Próprio autor.

A estimativa da quantidade de biofilme em todo o reator BRMBS-LM foi realizada a partir da Equação (11), também descrita por Zhang et al. (2014):

$$X = (m * N) / V \quad (11)$$

Em que:

X: Concentração de sólidos aderidos presente no BRMBS-LM (mg L^{-1});
 m: Quantidade média da biomassa aderida às cinco biomédias (massa de TS dividida por cinco biomédias);
 N: Número de biomédias presentes no BRMBS-LM (1960 biomédias) e
 V: Volume útil do reator (18,3 L).

3.5.1.4 Avaliação da comunidade microbiana

A avaliação da comunidade microbológica foi realizada pela aplicação de (1); sequenciamento genético (2) e Microscopia óptica. Para a realização de tais análises foram coletadas amostras do inóculo,

licor misto dos dois BRMs e da biomassa aderida ao material suporte do BRMBS-LM, sendo que nesses dois últimos casos a coleta era realizada sempre ao final da etapa de aeração, momento considerado como o de maior atividade celular.

3.5.1.5 Sequenciamento genético bacteriano de nova geração

A identificação da comunidade microbiana presente nos reatores foi realizada pela empresa *Neoprosecta Microbiome Technologies* (Florianópolis, BR), por meio da técnica de sequenciamento do DNA bacteriano de nova geração. Para tanto, foram coletadas amostras do licor misto dos reatores e do biofilme do BRMBS-LM, referente ao período inicial e final de cada estratégia operacional, em quantidade suficiente para formar *pellets* de 0,25 g. Uma única amostra do inóculo, de mesmo peso, também foi coletada. Após coleta e obtenção dos *pellets*, as amostras eram armazenadas a uma temperatura de -20 °C até seu envio a referida empresa para realização das análises de sequenciamento.

Na empresa, o procedimento de análise das amostras teve seu início com a extração do seu DNA genômico usando um kit comercial (Power Soil Mobio), seguido de amplificação da região V3-V4 do DNAr 16S, a partir dos *primers* 341F 5'-CCTACGGGRSGCAGCAG-3' (WANG e QUIAN, 2009) e 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' (CAPORASO et al, 2012). Os produtos da reação em cadeia da polimerase- PCR (do inglês- *Polymerase chain reaction*) purificados foram sequenciados usando a plataforma *Miseq* (*Miseq*, *Illumina* Inc., EUA). Subseqüentemente, os dados foram processados por software especializado (*Epiome*®) e passados para uma plataforma específica para análise e interpretação dos resultados.. A diversidade filogenética das comunidades bacterianas nas diferentes condições operacionais foi avaliada nos níveis de filo e gênero.

3.5.1.6 Microscopia óptica

Durante a operação dos BRMs, foram realizadas observações em microscópio óptico para avaliação das características gerais do licor misto e do biofilme, sobretudo quanto à presença de bactérias filamentosas.

Para a realização do ensaio, foram utilizadas amostras do licor misto e do biofilme, em volume aproximado de 0,1 mL. Com auxílio de um conta gotas, tais amostras foram transferidas para uma lâmina, sobre a qual era posicionada uma lamínula. Para visualização, era utilizado um microscópio óptico triocular invertido (Coleman, modelo XDP-I) com aumento de 40 a 1000 vezes, pertencente ao Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) do Departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária da UFSC.

3.5.2 Monitoramento de parâmetros relacionados ao potencial incrustante do licor misto

O potencial de incrustação do licor misto, causada por substâncias produzidas durante a atividade microbiológica nos reatores, era avaliado a partir da quantificação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), produtos microbianos solúveis (SMP) e polímeros exotransparentes (TEP), em periodicidade de duas vezes por semana. Paralelamente, era avaliado também o tamanho médio dos flocos do licor misto, por meio da análise de granulometria a laser.

Para a realização das análises de SMP, EPS e TEP, foram coletadas amostras do licor misto dos dois BRMs e da biomassa aderida ao material suporte do BRM-LM. A coleta foi realizada sempre ao final da etapa anóxica/anaeróbia do ciclo operacional dos reatores, a fim de evitar possíveis interferências causadas pela presença de nitrato nos resultados de polissacarídeos, conforme sugere DREWS (2010). A seguir, são descritas as análises relacionadas ao monitoramento do potencial de incrustação do licor misto.

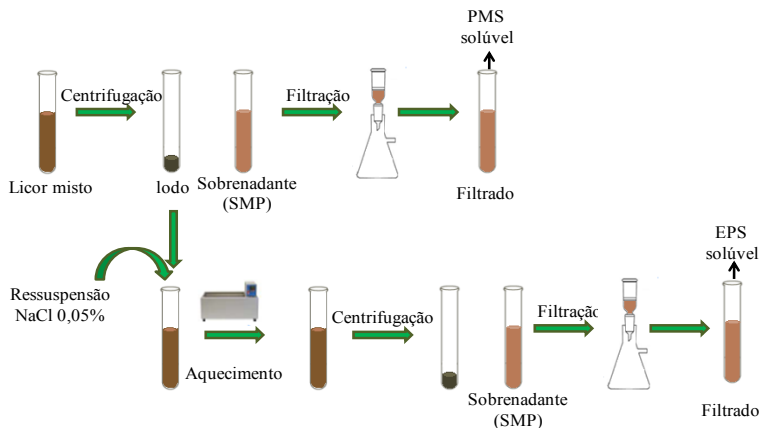
3.5.2.1 Substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substances*-EPS) e produto microbiano solúvel (*soluble microbial products*-SMP)

A concentração de EPS e SMP presentes nos reatores era avaliada sob a forma de proteínas, polissacarídeos e TEP. Para tanto, foram coletadas amostras do licor misto dos BRMs (BRMBS e BRMBS-LM) e do biofilme do BRMBS-LM, sendo que nesse último era realizada somente a quantificação de EPS.

O ensaio iniciava-se com a centrifugação das amostras de licor misto a 10.000 rpm durante 15 minutos. Posteriormente, o sobrenadante obtido era filtrado em membrana de acetato celulose com tamanho de

poro de $0,45 \mu\text{m}$. O permeado obtido era congelado para posterior determinação do SMP. O lodo sedimentado após o processo de centrifugação era ressuspensionado em solução de NaCl 0,05% e posto sob aquecimento em banho-maria a 60°C por 30 minutos. Após esse período, o líquido era centrifugado e o seu sobrenadante filtrado em membrana de acetato de celulose de $0,45\mu\text{m}$. O permeado obtido era congelado para posterior determinação de EPS. Na Figura 17 encontra-se ilustrada a sequência metodológica utilizada para a obtenção do SMP e EPS do licor misto

Figura 17- Representação esquemática da sequência metodológica para obtenção do SMP e EPS com amostras do licor misto.



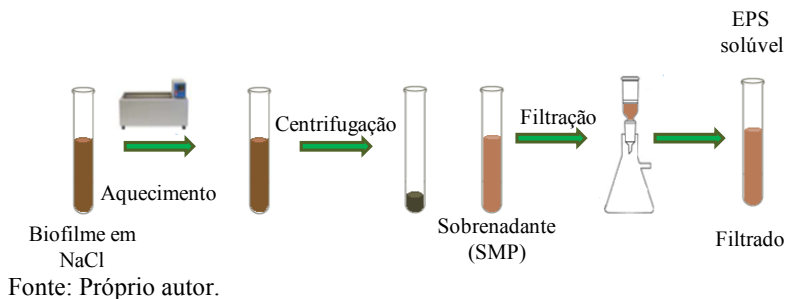
Fonte: adaptado de Belli (2015).

Para que fosse possível a realização do ensaio com amostras de biofilme, era necessário removê-los do material suporte no qual o mesmo crescia aderido. Para tanto, foram coletadas amostra do material suporte do BRMBS-LM em quantidade suficiente para produzir, após a remoção do biofilme, uma concentração de sólidos em suspensão próxima a $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Após a coleta, os suportes eram condicionados em um bquer contendo solução salina NaCl 0,05%, em volume suficiente para realização das análises. A partir de então, segue-se as etapas do protocolo de extração descrito por Vendramel (2009), anteriormente apresentado no item 3.4.3.

Após o procedimento de remoção, a solução de NaCl contendo biofilme era posta sob aquecimento em banho-maria a 60°C por 30 minutos. Passado esse período, o líquido era centrifugado e o seu

sobrenadante filtrado em membrana de acetato de celulose de $0,45\mu\text{m}$. O permeado obtido era congelado para posterior determinação de EPS do biofilme. Na Figura 18 encontra-se ilustrada a sequência metodológica utilizada para a obtenção do EPS do biofilme.

Figura 18-Representação esquemática da sequência metodológica para obtenção do EPS com amostra de biofilme



A concentração de polissacarídeos era determinada de acordo com o método proposto por Dubois et al. (1956), que utiliza como referência a glicose na construção da curva padrão. Para quantificação de proteínas, adotou-se o método descrito por Lowry et al. (1951), empregando albumina de soro bovino como solução padrão. A concentração de TEP, por sua vez, foi determinada por meio da metodologia desenvolvida por Torre et al. (2008), utilizando-se de goma xantana como solução padrão. Ambas as análises foram mensuradas em um espectrofotômetro HACH, modelo DR 3900, sob os comprimentos de onda de 760,490 e 602nm para proteína, polissacarídeos e TEP respectivamente.

Simultaneamente a determinação do EPS, eram realizadas também as análises de sólidos suspensos voláteis (SSV) das amostras de licor misto e de sólidos voláteis (SV) das amostras de biofilme, conforme metodologia descrita no item 3.7, cujos valores mostram-se necessários para a correta expressão dos resultados de EPS, usualmente reportados em massa de EPS por massa de sólidos (mg. gSSV^{-1}).

3.5.2.2 Granulometria por difração a laser

O tamanho das partículas presentes na suspensão biológica dos BRMs era avaliado por meio de ensaios granulométricos por difração a laser. Essa técnica consiste na medição dos ângulos formados pela

difração do raio laser após a sua passagem por uma lente contendo o fluido com material em suspensão. Trata-se de uma forma de medição indireta, uma vez que o tamanho do ângulo formado está relacionado ao diâmetro da partícula.

Ao longo da operação dos reatores, foram coletadas amostras do licor misto e encaminhadas para o Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFSC, o qual dispõe do aparelho Mastersizer-Malvern-2010 com o limite de detecção necessário para a realização das análises granulométricas.

3.6 ENSAIOS PONTUAIS DE BANCADA

Da mesma forma que as análises realizadas no reator, descritas no item 2.5, os ensaios de bancada também apresentavam duas finalidades principais: (I) avaliar o processo biológico quanto à remoção de nutrientes e (II) avaliar as condições de filtrabilidade do licor misto. O item 2.6.1 descreve os ensaios de bancada relacionados à primeira finalidade, enquanto que o item 2.6.2 descreve os ensaios relacionados à segunda finalidade.

3.6.1 Ensaios de bancada com a biomassa dos reatores

A Tabela 8 apresenta os ensaios de bancada a serem realizados com biomassa dos reatores. Tais ensaios tinham por finalidade verificar, sob condições controladas, a remoção de fosfato via organismos acumuladores de fósforo (PAO) e organismos acumuladores de fosfato desnitrificantes (DPAO) (item 3.6.1.1), monitorar a velocidade de consumo de amônia (VCA) (item 3.6.1.2) e; monitorar a taxa de consumo de oxigênio via bactérias autotróficas e heterotróficas (3.6.1.3).

Tabela 8 - Análises empregadas para avaliar o comportamento da biomassa presente nos reatores.

Análise	Item	Frequência	Referência
PAO/DPAO	3.6.1.1	Mensal	Wachtmeister et al. (1997)
VCA	3.6.1.2	Mensal	Scheumann (2010)
Respirometria	3.6.1.3	Mensal	Ochoa et al. (2002)

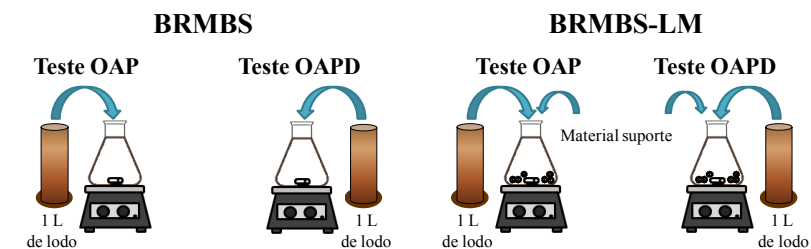
Todos os ensaios envolviam a quantificação da biomassa, por meio dos sólidos voláteis, de forma a normalizar os resultados e permitir comparações entre diferentes estratégias.

3.6.1.1 Determinação da atividade dos Organismos Acumuladores de Fósforo (PAO) e Organismos Acumuladores de Fósforo Desnitrificantes (DPAO).

A atividade biológica de remoção de fosfato dos reatores era avaliada conforme metodologia descrita por Wachtmeister et al. (1997), a qual consiste em expor a biomassa a condições anaeróbias, anóxicas e aeróbias para se determinar individualmente as taxas de acumulação de fosfato via PAO e DPAO.

Para a realização dos ensaios, foram coletados de cada reator (BRMBS e BRMBS-LM) 2 litros de licor misto, sempre ao final da fase aeróbia, momento no qual a biomassa apresenta maior acúmulo de fosfato. Para o reator BRMBS-LM, juntamente ao licor misto era coletado também o material suporte, em quantidade suficiente para atender a proporção de 30%. Após a coleta, era realizada a lavagem do licor misto com água destilada, a fim de se eliminar a presença de compostos indesejáveis. Em seguida, as amostras eram acondicionadas em 4 *erlenmeyers*, sendo dois relativo ao reator BRMBS e dois relativo ao BRMBS-LM. Em ambos os casos, ter-se-ia um *erlenmeyer* em que era avaliada a remoção de fosfato via PAO e um *erlenmeyer* em que era avaliada a remoção via DPAO, conforme pode-se visualizar na Figura 19.

Figura 19– Representação da distribuição das amostras para os ensaios de PAO e DPAO.



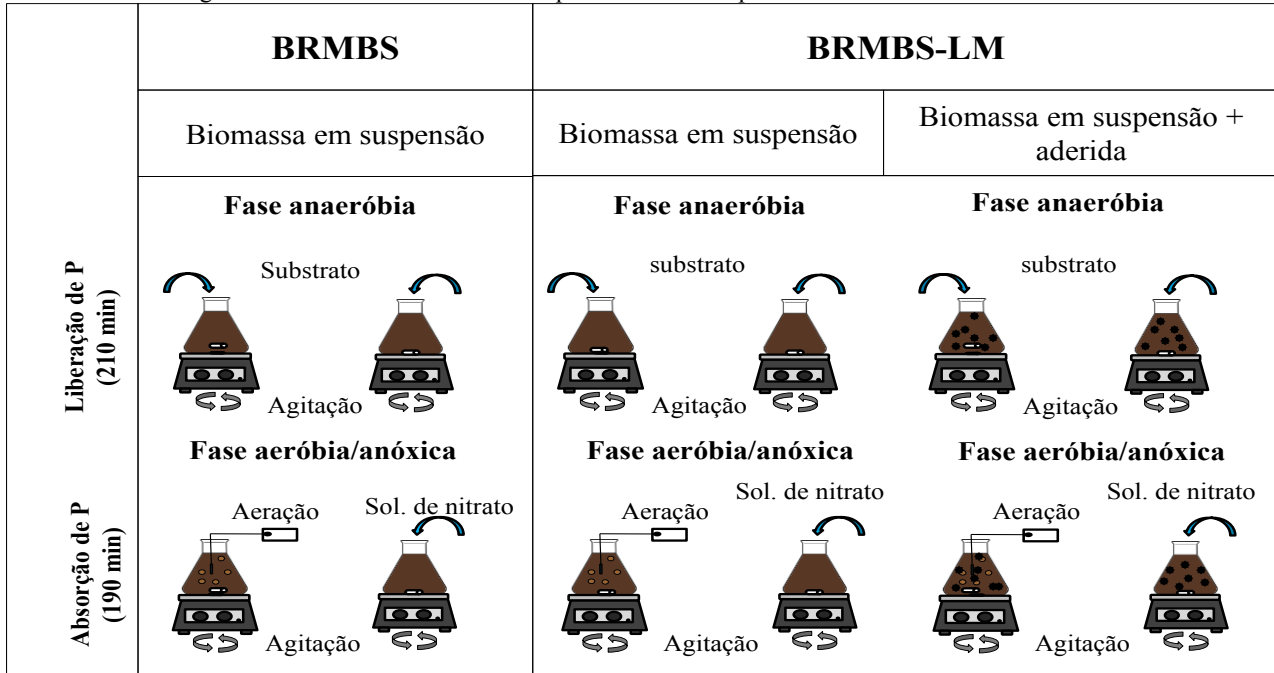
Fonte: Próprio autor.

Após o acondicionamento das amostras, promovia-se a purga do oxigênio dissolvido a partir do borbulhamento de nitrogênio gasoso

em todos os *erlenmeyers*, de modo a favorecer condições anaeróbias nesses frascos. Posteriormente, o ensaio era iniciado, com a adição de 25 mL de uma solução de esgoto sintético (200 mg.L⁻¹ de CH₃COONa; 20 mg.L⁻¹ de NH₄Cl; 30 mg.L⁻¹ de NaHCO₃; 5 mL de tampão fosfato; 0,3 mL de solução de micronutrientes) a todos os *erlenmeyers*. O ensaio era conduzido sob condições anaeróbias por 210 minutos, mantendo-se o agitador magnético sob leve agitação para que o processo de P-Liberação seja favorecido. Durante esse período, eram retiradas alíquotas dos erlenmeyers para posterior determinação da concentração de fosfato e acetato (Dionex, ICS-5000).

Finalizado os 210 minutos da fase anaeróbia, era acionado o sistema de aeração naqueles *erlenmeyers* destinados a avaliação da atividade dos PAOs, enquanto que naqueles *erlenmeyers* destinados aos DPAOs, era adicionado um pulso da solução de nitrato de sódio (60 mg.L⁻¹). Portanto, a partir desse momento, têm-se dois reatores aeróbios e dois anóxicos. Durante os 190 minutos restantes do ensaio, eram coletadas alíquotas de 10 mL de cada *erlenmeyer* sob frequência predeterminada (220, 235, 270, 300, 350 e 400 minutos) para posterior determinação da concentração de fosfato, nitrato e acetato (Dionex, ICS-5000). A representação esquemática da metodologia utilizada é apresentada na Figura 20.

Figura 21- Representação esquemática da sequência metodológica utilizada nos ensaios de determinação da atividade aeróbia e anóxica dos microrganismos acumuladores de fosfato para biomassa suspensa e aderida.



Fonte: Próprio autor.

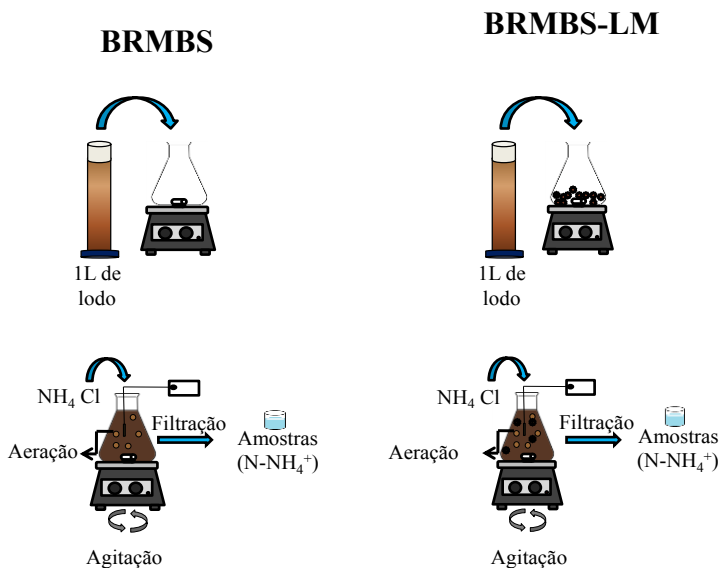
O processo de P-liberação era avaliado a partir do aumento da concentração de fosfato no licor misto durante a fase anaeróbia, enquanto que o processo de P-Absorção envolveu o decaimento da concentração de fosfato durante as fases aeróbia (PAO) e anóxica (DPAO). Sendo assim, as taxas de absorção aeróbias e anóxicas de fósforo foram obtidas e comparadas sob idênticas condições experimentais, tanto para o reator com biomassa floculenta quanto para o reator com biomassa aderida.

3.6.1.2 Determinação da velocidade de consumo de amônia (VCA)

O processo de nitrificação foi também avaliado mediante a determinação da velocidade de consumo de amônia. Para tal, foi utilizada a metodologia descrita por Scheuman (2010), a qual consiste em expor a biomassa a condições aeróbias, para a ocorrência da nitrificação. Para realização dos ensaios, foi coletado 1 L do licor misto de cada reator e acondicionado em *erlenmeyers* de mesmo volume equipados com agitador magnético e sistema de aeração. No caso do reator BRMBS-LM, era considerado também a coleta do material suporte, juntamente ao licor misto.

Após a transferência do licor misto para os respectivos *erlenmeyers*, o sistema de aeração era acionado, de modo a atingir a condição de saturação de OD ($7 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$). Em seguida, adicionava-se um pulso de 5 mL da solução de NH_4Cl (40 mg.L^{-1}), mantendo-se aeração por 120 minutos. Alíquotas de 10 mL do licor misto eram coletadas e filtradas em membrana de acetato de celulose com porosidade de $0,45 \mu\text{m}$ a cada 10 minutos para posterior determinação da concentração de N-NH_4^+ . Paralelamente, uma fração da amostra era reservada para a análise nitrato, via cromatografia de ânions (Dionex, ICS-5000). Na Figura 22 é apresentada sequência metodológica empregada para a determinação da VCA com o licor misto do BRMBS e BRMBS-LM.

Figura 22- Representação esquemática da sequência metodológica para a determinação da velocidade de consumo de amônia (VCA).



Fonte: Próprio autor.

As velocidades de consumo de amônia foram obtidas por meio do coeficiente angular da reta que descreve o decaimento das concentrações em função do tempo, expressas em $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ gSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

3.6.1.3 Respirometria - Determinação da taxa de consumo de oxigênio (TCO) por bactérias autotróficas e heterotróficas

Ensaio respirométricos foram realizados com o intuito de se determinar a velocidade específica da respiração celular, bem como para caracterizar a atividade autotrófica e heterotrófica da biomassa dos reatores. Para tanto, foi empregada a metodologia descrita por Ochoa et al. (2002), que consiste em observar as variações na taxa de respiração do lodo ocasionadas pelo tipo de substrato empregado, bem como acompanhar a velocidade de degradação do mesmo após a interrupção da aeração. Nessa pesquisa, o decaimento do oxigênio era avaliado em três diferentes condições, a fim de se obter:

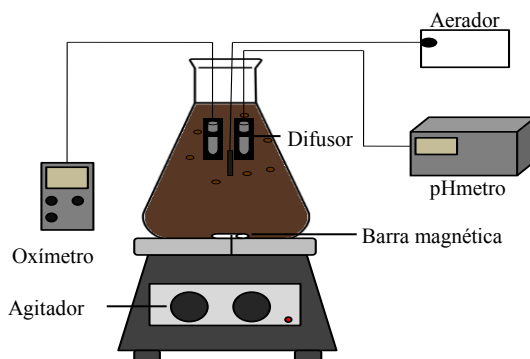
1) Respiração endógena ($TCO_{\text{endógena}}$): trata-se da energia requerida para manter as funções das células, sendo medida sem adição de substratos;

2) Respiração exógena autotrófica ($TCO_{\text{Autotrófica}}$): consiste no consumo de oxigênio dissolvido durante a nitrificação, sem fonte de carbono, após adição de substrato específico para as bactérias autotróficas. Sob essa condição, o decaimento da concentração de oxigênio nas amostras era medido nas duas fases que compõe o processo de nitrificação, ou seja, durante a oxidação da amônia (TCO_{NH_4}) e durante a oxidação do nitrito (TCO_{NO_2}). Sendo assim, o conjunto (TCO_{NH_4}) e (TCO_{NO_2}) aqui se referem à atividade dos microrganismos nitrificantes;

3) Respiração exógena ($TCO_{\text{Heterotrófica}}$): diz respeito ao consumo de oxigênio dissolvido perante a inibição da nitrificação e após a adição de acetato de sódio como substrato para as bactérias heterotróficas.

Para realização do ensaio, era coletado um litro do líquido reacional de cada um dos reatores, sempre ao final da etapa de aeração, em que toda a matéria orgânica e nitrogênio amoniacal foram supostamente oxidados. No caso do reator BRMBS-LM, juntamente ao licor misto era coletado também o material suporte, em quantidade suficiente para manter a mesma proporção de enchimento do reator (30%). Em seguida, as amostras de cada reator foram acondicionadas em *erlenmeyers* de vidro (respirômetro), providos de sondas de pH, OD e temperatura. Tais *erlenmeyers* eram posicionados sobre agitadores magnéticos para a homogeneização da biomassa durante as fases sem aeração. A Figura 23 apresenta o aparato experimental utilizado.

Figura 23- Aparato experimental utilizado nos ensaios de respirometria.



Fonte: Próprio autor.

Após o acondicionamento das amostras, iniciava-se o ensaio, que era composto de duas etapas, ambas realizadas com a temperatura controlada em 20 °C e com pH ajustado em 8,2. Na primeira etapa, era feita a determinação da TCO_{NH_4} e $TCO_{Heterotrófica}$, com sua respectiva $TCO_{Endógena}$, enquanto que a segunda etapa envolvia a determinação da TCO_{NO_2} e sua respectiva $TCO_{Endógena}$. O ensaio relativo a TCO_{NO_2} era realizado em um teste separado para se evitar que o substrato anteriormente adicionado as bactérias oxidadoras de amônia e bactérias heterotróficas interferisse no consumo do OD durante a determinação da TCO_{NO_2} .

O ensaio respirométrico iniciava-se com a primeira etapa, com o acionamento do agitador magnético e aeração das amostras neles acondicionadas, até a saturação de ambas. Uma vez alcançada essa condição, o sistema de oxigenação era desligado, mantendo-se apenas o agitador em funcionamento para impedir a sedimentação da biomassa. A partir de então, registrava-se o decaimento da concentração de oxigênio, até que sua concentração decaía-se em 1 mg L^{-1} . A velocidade de consumo de oxigênio ao longo do tempo, nessa fase, representa a respiração endógena.

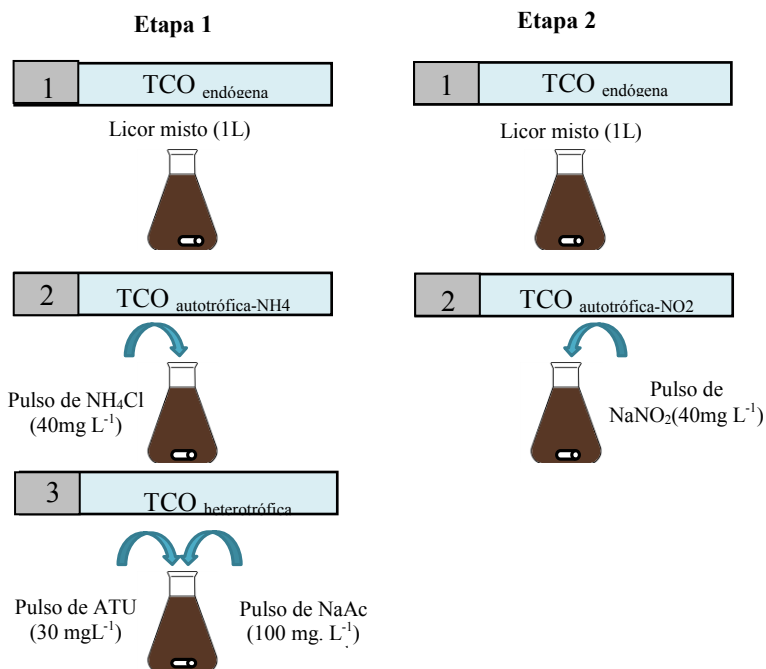
Na sequência, a aeração nos dois recipientes era novamente acionada e mantida até a saturação da massa líquida. Nesse momento, era adicionado um pulso de NH_4Cl (40 mg L^{-1}) no respirômetro relativo ao reator BRMBS e ao respirômetro relativo ao reator BRMBS-LM. Em

seguida, a aeração era desligada, mantendo-se apenas a agitação em ambos os respirômetros. Os valores de OD eram monitorados até que a sua concentração decaía-se em 1 mg L^{-1} . A velocidade do decaimento da concentração de OD nas amostras representava a respiração exógena por bactérias autotróficas para a oxidação da amônia (TCO_{NH_4}).

Posteriormente, os respirômetros eram novamente aerados até a saturação, para que fosse realizada a determinação da $\text{TCO}_{\text{heterotrófica}}$. Para tal, era adicionado um pulso de ATU (30 mg L^{-1}), para inibir a atividade nitrificante, e um pulso de NaAc (100 mg L^{-1}), que servia de substrato para as bactérias heterotróficas. Reproduziam-se novamente os procedimentos anteriores, desligando-se a aeração e mantendo-se a agitação. O decaimento da concentração de OD era novamente monitorado, correspondendo nesse caso a respiração exógena heterotrófica ($\text{TCO}_{\text{heterotrófica}}$).

Uma vez determinada a TCO_{NH_4} e $\text{TCO}_{\text{heterotrófica}}$, inicia-se a segunda etapa do ensaio, em que era determinada a TCO_{NO_2} . Para tal, o licor misto previamente coletado é acondicionado no respirômetro, em que é avaliado primeiramente a sua $\text{TCO}_{\text{Endógena}}$, conforme realizado na etapa anterior. Em seguida, o respirômetro era aerado novamente, e um pulso da concentração de nitrato de sódio era adicionado. Em seguida, a aeração era interrompida, mantendo-se apenas o agitador magnético sob operação. O decaimento do OD nesse caso correspondia ao consumo pelas bactérias oxidadoras de nitrato, fornecendo assim a TCO_{NO_2} . A Figura 24 apresenta a sequência metodológica empregada para a determinação da TCO_{NO_2} , assim como para a determinação TCO_{NH_4} e $\text{TCO}_{\text{heterotrófica}}$.

Figura 24- Representação esquemática da sequência metodológica para a determinação das TCOs dos reatores.



Fonte: Próprio autor.

As TCOs eram então obtidas por meio de regressão linear, a partir da reta formada pelos valores de OD (mgL^{-1}) em função do tempo do ensaio. A velocidade específica de respiração celular ($\text{TCO}_{\text{específica}}$) era obtida a partir da Equação 12 (SCHMIDELL, 2001):

$$\text{TCO}_{\text{específica}} = \frac{1}{\text{SSV}} \frac{d\text{O}_2}{dt} \quad (12)$$

Em que:

$\text{TCO}_{\text{específica}}$: Velocidade específica de respiração ($\text{gO}_2 \text{ gSSV h}^{-1}$);

SSV: Concentração celular (g SSV m^{-3});

$d\text{O}_2/dt$: é a velocidade de consumo de oxigênio ($\text{gO}_2 \text{ m}^{-3}\text{h}$).

3.6.2 Ensaios de bancada para avaliação do potencial incrustante do licor misto.

Os ensaios de bancada para avaliação do potencial incrustante do licor misto envolveram três ensaios: índice de incrustação da membrana (MFI); Tempo de sucção capilar (CST); e índice volumétrico de lodo (IVL). A Tabela 9 apresenta a distribuição dos referidos ensaios com a frequência de realização.

Tabela 9 - Análises empregadas e frequência dos ensaios realizados com o licor misto do BRM.

Análises	Item	Frequência	Referência
Índice de incrustação da membrana (MFI)	3.6.2.1	Quinzenal	Boerlage et al. (2003)
Tempo de sucção capilar (CST)	3.6.2.2	Semanal	APHA (1998)
Índice volumétrico do lodo (IVL)	3.6.2.3	Semanal	Jenkins et al. (2003)

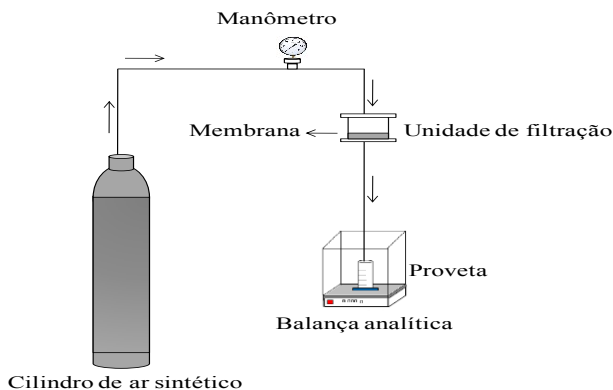
3.6.2.1 Índice de incrustação da membrana (*Membrane Fouling Index - MFI*)

O índice de incrustação da membrana (MFI) é um ensaio de filtração capaz de fornecer informações sobre a filtrabilidade do licor misto. Desenvolvido por Schippers e Verdouw (1980) e posteriormente modificado por Boerlage et al. (2003), o ensaio baseia-se no mecanismo de filtração frontal, por meio do qual as partículas são retidas em uma membrana durante a filtração através de um mecanismo de deposição superficial.

Nessa pesquisa, o MFI foi determinado a partir de amostras do licor misto dos BRMs, bem como dos seus respectivos sobrenadantes gerados após centrifugação a 10000 RPM. Dessa forma, buscou-se avaliar o potencial incrustante do licor misto na presença e ausência de sólidos em suspensão.

Os ensaios foram realizados em uma unidade de filtração de bancada com volume de 250 mL, utilizando membrana plana de acetato celulose (0,2 μ m). O sistema era operado em fluxo perpendicular e pressurizado a partir de um cilindro de ar sintético. A Figura 25 ilustra o aparato experimental utilizado para a realização do ensaio.

Figura 25- Representação esquemática do aparato experimental utilizado para determinação do MFI.



Fonte: Próprio autor.

O ensaio iniciava-se com a filtração do licor misto, e posteriormente com a filtração do licor misto centrifugado. Em ambos os casos, a filtração tinha duração de 20 minutos, com pressão constante de 0,2 bar. O fluxo de permeado era obtido com o auxílio de uma balança analítica, posicionada logo abaixo do sistema de filtração. A cada 30 segundos os pesos acumulados eram anotados e posteriormente convertidos em volume, possibilitando assim o cálculo do fluxo de filtração durante o ensaio (tempo/volume). A partir de então, os resultados gerados foram apresentados graficamente, sendo a relação tempo/volume (sL^{-1}) plotada em função do volume acumulado. O coeficiente angular da reta obtida fornecia o valor do MFI (SCHIPPERS e VERDOUW, 1980).

3.6.2.2 Tempo de sucção capilar (*Capillary suction time -CST*)

O tempo de sucção capilar (CST) fornece uma ideia da filtrabilidade do licor misto em BRMs. De modo geral, um alto valor de CST implica em baixas taxas de filtração do lodo e consequentemente na incrustação da membrana ao longo do tempo.

Para determinação do CST do lodo dos reatores, foram realizados ensaios de acordo com a metodologia descrita em APHA 2710G (APHA, 2005) utilizando um aparelho padrão CST, modelo 304, *Triton Electronics Ltd.*

O ensaio consiste em verter a amostra de licor misto em um reservatório localizado no centro do equipamento utilizado. Assim que a amostra entra em contato com um papel de filtro, posicionado na parte inferior do aparelho, ela se espalha radialmente. O tempo que a fração líquida do licor misto leva para percorrer do raio um ao raio dois no filtro é conhecido como CST, o qual é obtido por meio de um sensor de condutividade.

3.6.2.3 Índice volumétrico do lodo diluído (IVL diluído)

Embora o índice volumétrico de lodo seja um ensaio voltado à avaliação da sedimentabilidade em decantadores secundários, ele também vem sendo recentemente utilizado em BRMs, nesse caso como parâmetro auxiliar para monitoramento do potencial de incrustação licor misto.

O ensaio consiste em determinar a relação entre o volume de lodo que sedimenta após 30 minutos em uma proveta graduada de 1L, e a concentração de sólidos em suspensão nessa amostra. Contudo, o alto teor de sólidos presentes nas amostras de licor misto dos BRMs pode influenciar nos resultados dos ensaios, gerando, por sua vez, valores não condizentes com a realidade. Como alternativa para o ensaio, era adotado o índice volumétrico diluído (IVL_{diluído}).

Para a realização do ensaio, as amostras de licor misto foram diluídas com o próprio permeado dos BRMs, de tal forma que o volume de lodo sedimentado após 30 minutos seja inferior a 200 mL, conforme protocolo descrito por Jenkins et al (2003).

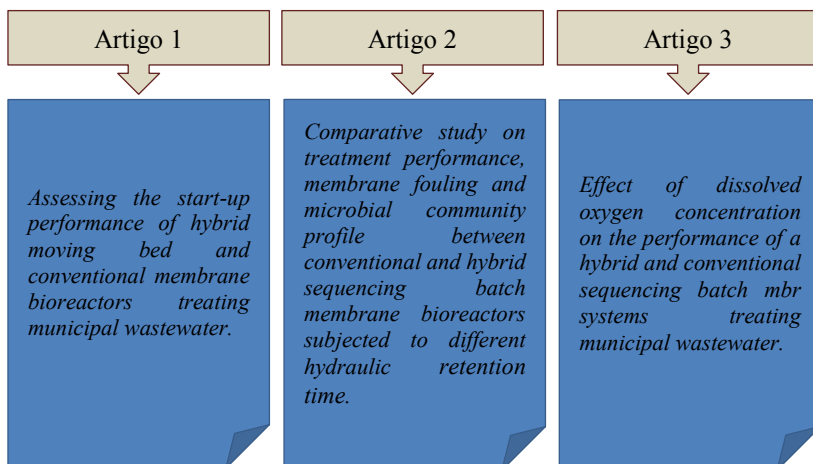
3.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

O tratamento estatístico dos dados envolveu a aplicação de estatística descritiva, análises de correlação e análises de variância *oneway* – ANOVA. Quando a hipótese nula era rejeitada, a partir da análise de variância, era empregado o teste Tukey para comparação, par a par, das médias obtidas em cada tratamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nessa pesquisa foram apresentados na forma de três artigos, estruturados conforme os objetivos específicos previamente estabelecidos no item 1.1.2. Em todos os casos, os estudos foram conduzidos a partir de uma abordagem comparativa entre o desempenho do BRM convencional e o híbrido, submetidos as mesmas condições ambientais e operacionais. No artigo 1, buscou-se avaliar o desempenho dos reatores durante os seus períodos de partida. O artigo 2, por sua vez, avaliou o desempenho de ambos os reatores mediante a redução do TDH de 12 para 6 horas. Por fim, no artigo 3, estudou-se o efeito da utilização de alta (4 mg L^{-1}) e baixa ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$) concentração de oxigênio dissolvido durante a fase aeróbia de ambos os BRMs. A Figura 26 apresenta um fluxograma contendo a distribuição dos três artigos, com os seus respectivos títulos.

Figura 26 – Distribuição dos resultados obtidos na presente pesquisa.



Previamente a partida dos reatores, foram realizados os estudos para a determinação de parâmetros operacionais, tais como tempo de mistura, permeabilidade hidráulica e velocidade de oxigenação nos reatores. Os resultados obtidos nesses ensaios preliminares são apresentados no Apêndice A.

4.1 ARTIGO 1

Nos últimos anos, com a adoção de padrões de qualidade de efluentes cada vez mais rigorosos, verificou-se a necessidade de desenvolver tecnologias mais eficazes no tratamento de águas residuárias para a remoção de diversos poluentes. Nesse cenário, a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) ganhou atenção especial, pois estão diretamente relacionadas à eutrofização dos ecossistemas aquáticos. Nesse sentido, destaca-se a combinação das tecnologias de biorreator à membrana convencional (com biomassa suspensa) com um bioreator de leito móvel (com biomassa aderida). Além de melhorar a remoção de N_{total} e P_{total} , este reator também possui outras vantagens, dentre as quais pode-se destacar a capacidade de operar com menores taxas de incrustação de membrana em comparação aos BRM convencionais.

Para melhor avaliar se a adição de material suporte para o crescimento de biofilme é benéfica para o desempenho global do tratamento no reator, o Artigo¹ teve por objetivo comparar o desempenho de um BRM-LM e um BRM convencional operados em batelada sequencial no tratamento de águas residuárias municipais, durante o período de partida dos reatores, em termos de remoção de matéria orgânica e de nutrientes, características de incrustação de membrana e a comunidade microbiana. Ambos os sistemas foram operados por um período de 62 dias e submetidos às mesmas condições operacionais, com exceção dos transportadores plásticos, presentes apenas no reator híbrido. Ensaios de bancada foram realizados para melhor caracterizar as conversões que ocorriam em cada reator, enquanto o sequenciamento de DNA foi empregado para revelar a estrutura da comunidade bacteriana nos dois reatores. Ao final do período de aclimatação, os sistemas apresentaram eficiência de remoção de DQO, amônia, nitrogênio total e de fósforo semelhantes, chegando a 96%, 99%, 70% e 85%, respectivamente.

Os resultados de análise de ciclo revelaram que a contribuição da biomassa aderida para a remoção geral de amônia no reator híbrido

¹ Artigo que deu origem à seguinte publicação: Costa R.E., Battistelli A. A., Bernardelli J. K. B., Bassin J. P., Belli T. J., Lapolli, F. R. (2017). Assessing the performance and microbial community of hybrid moving bed and conventional membrane bioreactors treating municipal wastewater. *Environmental Technology*: DOI: 10.1080/09593330.2017.1404137

era marginal. Além disso, apesar da similar e elevada remoção de fósforo alcançada em ambos os reatores, os ensaios de bancada da atividade específica de consumo de nitrato revelaram que a taxa de P-Absorção anóxico no BRMBS-LM era 1,71 vezes superior à encontrada no BRMBS. Ademais, observou-se uma maior frequência de organismos do gênero *Candidatus Accumulibacter* relacionados com acumuladores de polifosfato nos suportes de biofilme do reator híbrido. Essas descobertas podem explicar por que a taxa de P-Absorção global foi quase 50% maior no BRMBS-LM. Ao operar os reatores no modo de batelada sequencial, a adesão de partículas na superfície da membrana foi reduzida enquanto a incrustação foi mitigada em comparação com os sistemas de BRM contínuos. Foram encontradas melhores condições de filtragem com menor taxa de incrustação no BRMBS-LM, características importantes do reator híbrido para reduzir a demanda de energia relacionada à limpeza da membrana.

Transcrição adaptada do Artigo 1:

4.1.1 Introduction

In conventional wastewater treatment systems, biological nutrient removal is usually performed by recirculating sludge through anaerobic, anoxic and aerobic zones. Biological nitrogen removal is generally accomplished by autotrophic nitrification under aerobic conditions followed by heterotrophic denitrification under anoxic environment. On the other hand, phosphate removal can be achieved by subjecting the sludge to alternating anaerobic-aerobic conditions, in the so-called enhanced biological phosphate removal (EBPR) process. Phosphate accumulating organisms (PAO) are regarded as the primary responsible for the EBPR process (Metcalf, 2003).

The sequencing batch reactor (SBR) is an interesting alternative to the conventional (continuous) activated sludge process to accomplish the removal of nitrogen and phosphorus. SBRs combine different environmental conditions required for nutrient removal in a single reactor tank (Belli et al. 2015) by performing cyclic and sequential events, such as filling, reaction (anaerobic, anoxic and/or aerobic), settling and effluent withdrawal. Moreover, there is no need for sludge recirculation.

Although their inherent flexibility (Freitas et al., 2009), the quality of the SBR effluent is directly dependent on the settling

properties of the biomass, which can be problematic under some conditions (e.g., when filamentous bulking occurs). To overcome this inconvenient, there has been a growing interest to combine the sequencing batch operating mode with membrane separation processes, which has been commonly referred to as sequencing batch membrane bioreactor (SB-MBR). In this reactor configuration, micro or ultrafiltration membranes are installed within the SBRs to improve solid-liquid separation, avoid biomass washout and generate an effluent free of suspended solids, regardless of the biomass sedimentation properties.

Despite the advantages shown by SB-MBR, the removal of nitrogen in sequentially-operated reactors is often incomplete, unless a post-anoxic stage with external carbon source addition is implemented in the operating cycle. The remaining oxidized nitrogen species (nitrite and nitrate) of a given cycle will act as electron acceptors in the anaerobic phase of the subsequent cycle, inducing the consumption of organic carbon by denitrifying bacteria (Hascoet and Florentz, 1985). So, the amount of COD available to PAOs decreases, which may hamper the biological phosphorus removal process. Thus, to obtain a better EBPR process performance, it is necessary to prevent or minimize the transfer of nitrite and nitrate to the anaerobic phase (Yang et al., 2010). In order to avoid the need of external COD supply and its associated costs, one alternative that has been previously investigated is the addition of carriers in suspended growth processes to promote attachment of bacteria and biofilm development (Odegaard, 1999). In attached growth systems, anoxic zones may be established within the biofilm structure, even in an aerated environment. Therefore, denitrification may take place within the aeration phase of an SBR cycle (Liu et al., 2010). Consequently, the transfer of oxidized nitrogen compounds to the anaerobic phase is minimized, leading to an improvement of EBPR process performance. The combination of conventional membrane bioreactor (with suspended biomass) and biofilm reactor (with attached biomass) has recently been designated as hybrid biofilm membrane bioreactor (HMBR) (Rodríguez-Hernández et al., 2014). Besides improving the TN and TP removal, this hybrid reactor can also operate at higher organic loads rates (Yang et al., 2014) and lower membrane fouling rates as compared to suspended growth MBRs (Ivanovic et al., 2008; Luo et al., 2014; Martín-Pascual et al., 2016; Chen et al., 2016).

Due to these advantages, there has been an increasing interest in the application of HMBR for wastewater treatment. However, most of the previous research on this topic made use of continuous HMBR (Di Trapani et al., 2016; Leyva- Diaz et al., 2016; Fu et al., 2017), whereas much less attention has been focused on nutrient removal by HMBR running in sequencing batch mode (SB-HMBR). To date, only the study of Yang et al. (2010) has investigated the phosphorus removal performance in a SB-HMBR, but still using synthetic wastewater, which may not fully reflect the conditions found in reality. To better evaluate if the addition of carriers is beneficial for the overall treatment performance of the reactor, a sequencing batch hybrid biofilm membrane bioreactor (SB-HMBR) and a conventional membrane bioreactor (SB-CMBR) were compared side by side in terms of COD and nutrient removal from real municipal wastewater. The membrane fouling characteristics in the two reactors were also assessed over time. Both systems were subjected to the same operating conditions, with the exception of the plastic media, present only in the hybrid reactor. Activity batch assays were performed to better characterize the conversions taking place in each reactor, whereas DNA sequencing analyses was employed to reveal the bacterial community structure of the SB-HMBR and SB-CMBR.

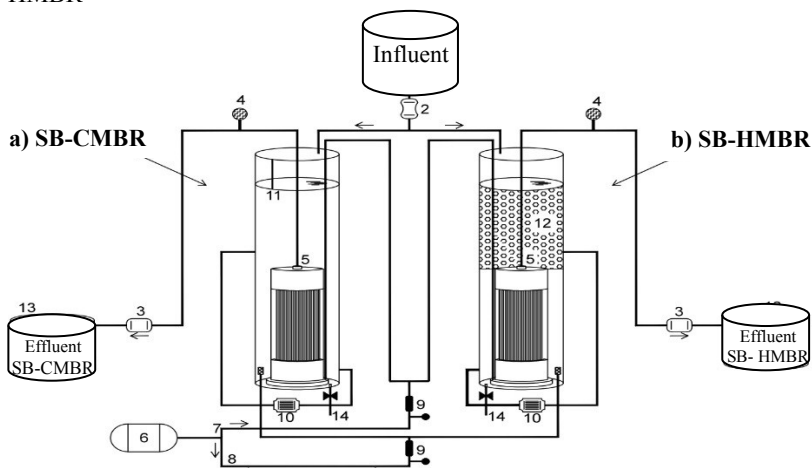
4.1.2 Material and Methods

4.1.2.1 Experimental setup and reactors operation

Two lab-scale reactors were used in this study: a sequencing batch conventional membrane bioreactor (SB-CMBR) and a sequencing batch hybrid membrane bioreactor (SB-HMBR) (Figure 27). The reactors were composed of identical hollow fiber membrane modules (ZW-10, Zenon Environmental Inc., General Electric Co.), submerged in a working volume of 18.3 L. The membrane modules were made of polyvinylidene difluoride (PVDF), with 0.04 μm nominal pore size and a filtration surface area of 0.9 m^2 in each reactor. For the SB-HMBR, 1960 cylindrical biocarriers made of polypropylene and with specific surface area of 500 m^2/m^3 (AMB BioMediaTM) were introduced in the reactor tank, resulting in a carrier filling ratio of 30%. To avoid the damage of the membrane and accumulation of plastic carriers between the membrane fibers, a piece of polyethylene screen was fitted exactly above the membrane module in the SB-HMBR.

The membrane filtration process was carried out by a peristaltic pump (Watson Marlow, 520) under intermittent suction (9 min on and 1 min off). To keep the hydraulic retention time (HRT) in 12 h in SB-HMBR and SB-CMBR, the membrane filtration flux was set at $15,2 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Both reactors were operated in sequencing batch mode, with the operating cycle composed of four phases: feeding (1 min), anoxic/anaerobic (59 min) reaction, aeration (255 min) and aeration/filtration (45 min). During the aeration/filtration phase, 9.15 L of effluent was removed from the reactor, leading to a volume exchange ratio (VER) of 50%. During the aeration and aeration/filtration phases, the reactors were aerated by means of a sparger located at the bottom. Aeration was used both to supply oxygen for the microorganisms and to scour the membrane surface to minimize biofouling. The air flow rate was kept at 6.4 L min^{-1} , which corresponds to a specific aeration demand (SADm) of $0.42 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. During the feeding and anoxic/anaerobic reaction phases, the aeration system was turned off and a recirculation pump was turned on. This device was employed to recirculate the mixed liquor from the bottom to the top of the reactors, thereby ensuring a complete mixing of sludge and wastewater during the anoxic/anaerobic reaction, as evidenced in preliminary hydrodynamic tests with saline tracer. The operating temperature of the SB-CMBR and SB-HMBR was controlled at $20 \text{ }^\circ\text{C}$, while the pH ranged between 7.1 and 8.0. The (suspended) solids retention time (SRT) applied in each reactor was maintained at 15 d by manually wasting mixed liquor suspended solids from SB-CMBR and SB-HMBR on a daily basis, at the end of the aeration phase. Different from the suspended solids, the biomass fraction attached to the carriers in the SB-HMBR could not be easily wasted, and therefore the SRT of this particular biomass fraction was not controlled. Under these conditions, accurate assessment of the overall SRT of the hybrid reactor was not possible.

Figure 27 - Experimental setup used in this study: a) SB-CMBR and b) SB-HMBR



1 Influent. -2 Feed pump. 3-Filtration pumps. 4 Pressure gauges. 5- Membrane module. 6 Blower. 7 Membrane aeration.8 Bioreactors aeration. 9 Rotameters. 10- Anaerobic recirculation pump. 11- Level sensor. 12-Plastic carriers. 13- Effluent. 14 - Sludge withdrawn.

The SB-CMBR and SB-HMBR were continuously operated for 60 days and were feed with municipal wastewater taken from a sewage collection system, using a submerged pump. To prevent the entrance of large solid materials, this pump was installed inside a PVC pipe covered with holes of 0.01 m. The inoculum sludge was obtained from the aeration tank of a conventional activated sludge plant treating municipal wastewater.

4.1.2.2 Experimental Procedures

The reactors performance were assessed based on COD, total nitrogen (TN), ammonium (NH_4^+-N), and total phosphorus (TP) removal efficiency. For this purpose, the influent and effluent of a given cycle was collected for determination of the concentration of the several components. Furthermore, samples were also taken from the SB-CMBR and SB-HMBR mixed liquor at the end of the feed, anoxic/anaerobic and aerobic phases to evaluate the dynamics of the several compounds over the operational cycle. The P-release and P-uptake processes were evaluated directly from the SB-CMBR and SB-HMBR by taking into

account the phosphate concentrations in the feeding, anoxic/anaerobic and aerobic phases. Cycle analyses were also performed in SB-CMBR and SB-HMBR. On the last operating day, the mixed liquor from each reactor were sampling at defined time intervals during anoxic/anaerobic and aerobic phases to follow COD degradation, nitrification, P-release and P-uptake processes over an operating cycle.

In order to better assess the anoxic and aerobic phosphate removal capability, batch experiments were carried out with the biomass from each reactor (Wachtmeister et al., 1997). The anoxic phosphate removal capability was assessed using nitrate as electron acceptor ($20 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^- \text{-N}$), according to the methodological procedure described in our previous study (Belli et al., 2016).

4.1.2.3 Microbial community analysis

DNA sequencing analyses were performed for bacteriological characterization of inoculum sludge, suspend biomass from each reactor and biofilm from biocarriers. The inoculum sludge and reactors sludge samples, collected on operational day 60, were stored at $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ until the moment of molecular analysis. Total nucleic acids were extracted using a commercial kit (Power Soil, Mobio), following the manufacturer's protocol. The sample preparation and sequencing was performed by Neoprosecta Microbiome Technologies. For amplification of the V3 and V4 hypervariable region of the 16S rRNA gene, the following universal primers were used: 341F 5'-CCTACGGGRSGCAGCAG-3' (Wang and Qian, 2009) and 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' (Caporaso et al., 2009). Purified PCR products were sequenced using the Miseq platform (Miseq, Illumina Inc, USA). Subsequently, the data was processed by specialized software (*Epiome*[®]) and loaded onto a specific platform for analysis and interpretation of results. High quality sequences were processed to generate operational taxonomic units (OTUs) at 97% sequence similarity threshold. The phylogenetic diversity of bacterial communities at different operating conditions was assessed at phylum and genus levels.

4.1.2.4 Analytical methods, statistical analysis and calculation procedures

Chemical oxygen demand (COD), ammonium nitrogen (NH_4^+ -N), total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) were analysed by spectrophotometry (Hach Lange, DR5000) using the Hach Methods 8000, 10031, 10072, and 10127, respectively, according to manufacturer's instructions. Nitrite (NO_2^- -N), nitrate (NO_3^- -N), and orthophosphate (PO_4^{3-} -P) were analysed by ion chromatography (DIONEX ICS 5000). Dissolved organic carbon (DOC) measurements were conducted in a total organic carbon analyser (TOC-LCSH/SHIMADZU). One-way ANOVA analysis was performed to assess the statistical significance of the obtained results ($p < 0.05$).

Soluble microbial products (SMP) were determined as protein, polysaccharide and transparent exopolymer particles (TEP) content by spectrophotometric analysis. Protein was measured according to the method described by Lowry et al. (1951) (Lowry et al., 1951) using bovine serum albumin as standard. Polysaccharides were measured using the phenol-sulphuric acid method, according to Dubois et al. (1956) (Dubois et al., 1956). The determination of TEP concentration was made according to de la Torre et al. (2008) (De la Torre et al., 2008), using xanthan gum as the standard solution. Total content of SMP was considered to be the sum of the protein, polysaccharide and TEP concentrations. Mixed liquor viscosity was measured by means of a digital viscometer (Brookfield DVI Prime, UK). To assess the capillary suction time (CST) of the sludge, five millilitres of mixed liquor was sampled from SB-CMBR and SC-HMBR and submitted to CST tests (304M CST, Triton). The floc size was measured using a laser diffraction particle size analyser with de-ionized water as dispersant (Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd, UK).

The attached biomass concentration was determined by biofilm extraction from the carriers. For this purpose, five carriers were collected from SB-HMBR and transferred to a Falcon tube filled with 25 mL of distilled water. The tube was vigorously shaken during five minutes for biofilm detachment. In case that some solids were still adhered to the support, the plastic carriers were manually scraped using a small tweezer to remove the remaining attached biomass. The solution containing the detached solids was used to estimate the attached biomass concentration within the SB-HMBR, according to the following equation (Zhang et al., 2014):

$$X = (m * N)/V$$

Where X is the adhered solids concentration present in the SB-HMBR (mg L^{-1}); m is the amount of the attached biomass in each carrier (mg VS per carrier); N is the number of suspended carriers in the reactor (1960 carriers) and V is the working volume of the reactor (18.3 L).

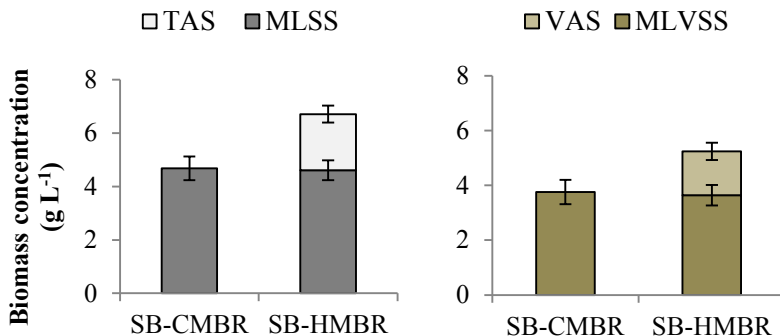
The specific nitrification activity was also assessed over the cycle tests. The specific ammonium uptake rate (SAUR) was estimated based on the ammonium concentration over time within the aerobic phase (Figure 31) and the biomass concentration in each reactor. Similarly, the phosphate uptake rate was estimated by considering the phosphate concentration along the aerated stage and the overall solids content in each tank. It should be mentioned that, for the SB-HMBR, besides the suspended solids fraction, the attached biomass was also considered in the calculations.

4.1.3 Results and discussion

4.1.3.1 Suspended and attached biomass concentration

The results revealed that the suspended biomass concentration was similar in both reactors, with mixed liquor volatile suspended solids (MLVSS) concentrations averaging 3761 ± 440 and $3646 \pm 375 \text{ mg L}^{-1}$ in SB-CMBR and SB-HMBR, respectively (Figure 28). In SB-HMBR, the average total attached solids (TAS) and volatile attached solids (VAS) contents were found to be 2190 mg L^{-1} and 1600 mg L^{-1} , respectively. The additional biomass grown attached to the carriers in the hybrid reactor resulted in a total (suspended + attached) amount of solids 40% higher than in SB-CMBR, where only suspended biomass was present. The higher amount of biomass in SB-HMBR was expected, since the SRT was controlled by discharging sludge only from suspension (hydraulic SRT control). On the other hand, the attached biomass was able to grow freely, being therefore wasted from the reactor only upon the occurrence of biofilm sloughing events.

Figure 28 - Average values of mixed liquor suspend solids (MLSS), mixed liquor volatile suspend solids (MLVSS) in SB-CMBR and SB-HMBR and total attached solids (TAS) and volatile attached solids (VAS) in SB-HMBR. Error bars indicate the standard deviation.



It is interesting to point out that in SB-HMBR, the suspended biomass content was 2.2 times greater than the attached biomass. Using the same carrier filling ratio (i. e., 30% v/v) in a SB-HMBR, Yang et al. (2010) also observed this behaviour. They reported that the amount of suspended biomass (MLSS) was 3.5 times higher than the adhered biomass (TAS). Conversely, Bassin et al. (2016) have found a greater attached biomass content in relation to the suspended biomass in a moving bed biofilm reactor (MBBR). However, the distribution between attached and adhered solids was dependent on the applied HRT. At higher HRT, the relative contribution of dispersed solids to the overall solids content became more important. As in pure MBBR systems sludge recycle is not implemented, the amount of suspended solids is usually low. This is especially valid for reactors operated at low HRT, under which washout of non-attached (suspended) solids is favoured. On the other hand, in MBBR coupled to membrane technology, there is no hydraulic pressure for the bacteria to grow attached to carriers. Therefore, regardless of the HRT, all the suspended biomass is kept inside the reactor. This may explain the predominance of suspended biomass in the SB-HMBR operated in this study.

4.1.3.2 Organic matter removal

SB-CMBR and SB-HMBR showed an appreciable COD removal performance, averaging 96.0% and 96.3%, respectively (Table 8). Despite the variability in the influent COD, which ranged from 454 mg L⁻¹ to 892 mg L⁻¹, the effluent COD of both reactors remained always below 30 mg L⁻¹ (Figure 28(a)). Average effluent COD was 24.8 mg L⁻¹ for SB-CMBR and 23.1 mg L⁻¹ for SB-HMBR (Table 8). The p-values obtained from one-way ANOVA analysis were higher than $\alpha = 0.05$. Therefore, as regards to COD removal, there was no significant difference between the SB-CMBR and SB-HMBR. Similar results were observed by Leyva-Díaz et al. (2015), who reported COD removal efficiency of 86.7% for a SB-CMBR and 87.6% for a SB-HMBR, both operated in continuous mode and without anaerobic stage.

Table 8 - NH₄⁺-N, TN, COD and TP concentration in the influent and effluent of SB-CMBR and SB-HMBR.

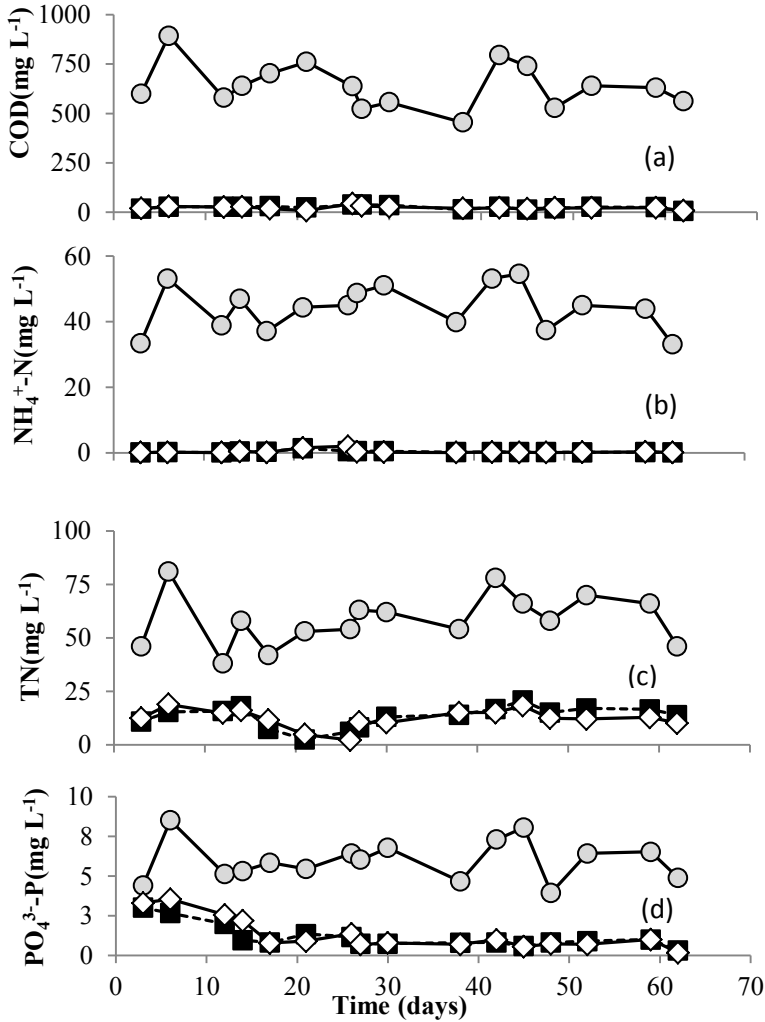
	Influent (mg L ⁻¹)	SB-CMBR		SB-HMBR	
		Effluent (mg L ⁻¹)	Removal (%)	Effluent (mg L ⁻¹)	Removal (%)
COD	640±122	24.8±9.8	96.0±1.7	23.1±9.4	96.3±1.6
NH ₄ ⁺	44.1±7.5	0.3±0.3	99.2±0.7	0.3±0.6	99.2±1.3
TN	58.4±12	13.1±5.1	77.6±9.6	12.3±4.6	78.9±9.0
TP	5.9±1.4	0.8±0.8	85.7±16.3	0.7±0.7	87.1±13.5

The reactors exhibited a similar behavior in terms of organic matter removal within the different operating phases. As can be seen in Figure 30a, the COD removal in anaerobic phase in both reactors tended to increase during the operating days. Consequently, the amount of COD available in the subsequent aerobic phase diminished, and this stage contributed less to the overall organic matter abatement (Figure 30b). These results indicate that anoxic/anaerobic processes associated with COD consumption from the bulk, such as P-release by PAOs and denitrification, were gradually becoming more important over time. From day 30 onwards, anaerobic COD removal amounted to 80-90%. Data from cycle analysis (Figure 32) revealed that the anaerobic DOC consumption rate was 61.4 and 53.9 mg DOC L⁻¹ h⁻¹, for SB-HMBR and SB-CMBR, respectively, whereas the aerobic DOC consumption rate was only 1.3 and 1.4 mg DOC L⁻¹ h⁻¹, for SB-HMBR and SB-CMBR,

respectively. Consequently, the COD consumption by ordinary aerobic heterotrophs became marginal in both reactors. Such behavior is similar to those reported by Yang et al. (2010) in a sequencing batch membrane bioreactor performing nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater. The lower organic content during the aerobic phase results in economic advantages, since the oxygen demand becomes smaller, leading to a reduction of aeration costs.

Figure 29 - (a) COD, (b) TN, (c) $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and (d) TP concentration in influent and effluent from each reactor.

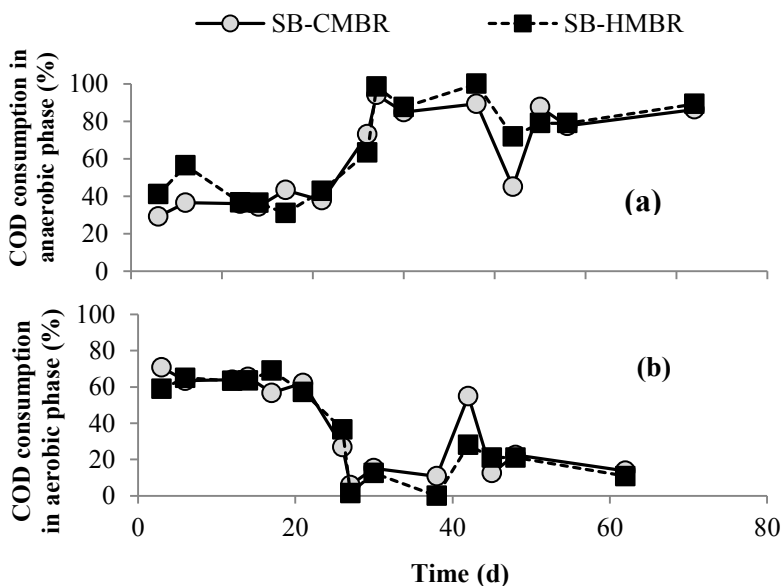
—○— Influent --■-- SB-CMBR effluent —◇— SB-HMBR effluent



4.1.3.3 Nitrogen removal assessment

Given that most of the incoming COD was removed under anaerobic conditions, the aerated phase was subjected to low COD/N ratio. Therefore, the available oxygen was essentially used for nitrification and aerobic P-uptake, enabling high ammonium and phosphorus removal to be obtained. Indeed, the effluent ammonium concentrations in both reactors were lower than 2 mg L^{-1} (Figure 28b), whereas the average ammonium removal efficiency was above 99% (Table 8). Consequently, no significant differences in terms of ammonium removal were observed between the CMBR and HMBR ($p > 0.05$).

Figure 30 - Perceptual of COD removal in (a) anaerobic phase and (b) aerobic phase for each reactor during the operational days.

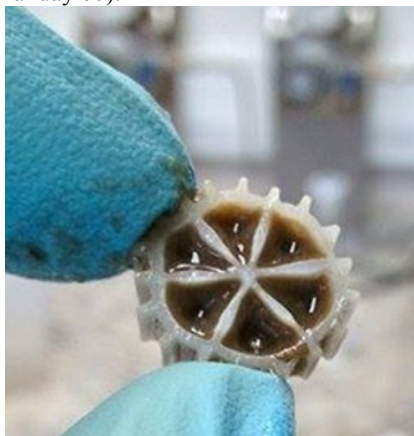


Although the reactors exhibited similar ammonium removal efficiencies, data from the cycle analysis revealed that the volumetric ammonium conversion rate was different in each system. The ammonium uptake rate (AUR) was higher in SB-CMBR ($17.0 \text{ mg NH}_4^+-\text{N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) in comparison with SB-HMBR ($14.9 \text{ mg NH}_4^+-\text{N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Since the suspended biomass content was similar in both reactors

(Figure 28), it was expected that the presence of the biofilm carriers would result in an additional ammonium conversion rate in SB-HMBR, as reported in previous studies (Rodríguez-Hernández et al., 2014). However, such trend was not observed. These results suggest that the fraction of nitrifying bacteria growing attached to the carriers in SB-HMBR had a minor contribution to the overall ammonium removal. Evaluating the specific ammonium removal activity of suspended and attached biomass fractions in a moving bed biofilm reactor (MBBR) subjected to high organic loads, Bassin et al. (2016) observed that the specific nitrifying activity of the bulk phase biomass was considerably higher than that of attached biomass. Under certain conditions, the suspended biomass-specific nitrification rate was 20 times greater than the biofilm specific nitrification activity. Similar behavior may have happened in the SB-HMBR, where the nitrifying activity in the biofilm was rather low. This can be attributed to the lower competitiveness of the autotrophic nitrifiers by oxygen as compared to ordinary heterotrophs in the biofilm environment (Nogueira et al., 2002; Prosser, 1989).

In the presence of carbon, the biofilm outer layer becomes dominated by heterotrophic bacteria, which exhibit much higher growth rate in relation to autotrophic nitrifiers (Okabe et al., 1996). Consequently, the latter organisms are potentially forced to grow deeper into the biofilm, where greater mass transport resistance of oxygen and ammonium is experienced. Thus, nitrification activity in the biofilm maybe negatively impacted (Bassin et al., 2016; Ødegaard., 2006) reported that biofilm thickness larger than 100 μm allows for only partial penetration of substrate into the biofilm. Therefore, when the thickness of the biomass grown on the carrier inner surface is high ($>100 \mu\text{m}$), the substrate (e.g., ammonium) penetration in biofilm is limited, resulting in a low nitrification activity. As displayed in Figure 31, the internal regions of the plastic media were completely covered by biomass. Although the biofilm thickness was not precisely assessed in this study, it can be easily seen that the biofilm thickness on the carrier surface is larger than 100 μm . Such conditions would explain the lower AUR of the SB-HMBR compared to the SB-CMBR.

Figure 31 - Image of plastic media covered by biofilm (taken from the SB-HMBR on operational day 60).



The TN concentration in the effluent of both reactors was similar (Figure 29c), with an average value of 14.9 mg L^{-1} for SB-CMBR and 13.7 mg L^{-1} SB-HMBR. This corresponded to a TN removal efficiency of 75.4 and 76.5%, respectively. However, in the last 20 days of the reactors operation, the hybrid reactor exhibited a significantly ($p < 0.05$) higher TN removal. During this period, SB-HMBR achieved an average TN removal efficiency of 78.9%, whereas in the SB-CMBR the TN removal was 73.6%. Considering that nitrification was practically complete in both reactors (ammonium elimination $> 99\%$), the total effluent nitrogen in the reactors effluent was essentially in the nitrate form. Hence, the better SB-HMBR performance in terms of TN removal in the last operational days may indicate an enhanced denitrifying activity in this reactor, probably related to the formation of anoxic zones within the inner zones of the biofilm established in the plastic carriers. It is interesting to mention that, over time, the thickness of the biofilm was observed to gradually increase. On day 50, the biofilm thickness was estimated to be approximately 1.5 mm. Other studies have reported some difficulties in the development of thicker biofilms in continuous HMBR (Liang et al., 2010). In such reactor setup, the plastic media are constantly exposed to shear forces generated by the air bubbles in the aeration tank, used to minimize membrane fouling. This procedure can limit the attached biomass growth. On the other hand, in this study, the reactors were subjected to an anoxic/anaerobic period prior to the

aeration stage. Under these conditions, the plastic media in the SB-HMBR were exposed to lower shear stress and higher F/M ratio, favoring the development of a thicker biofilm.

4.1.3.4 Phosphorus removal

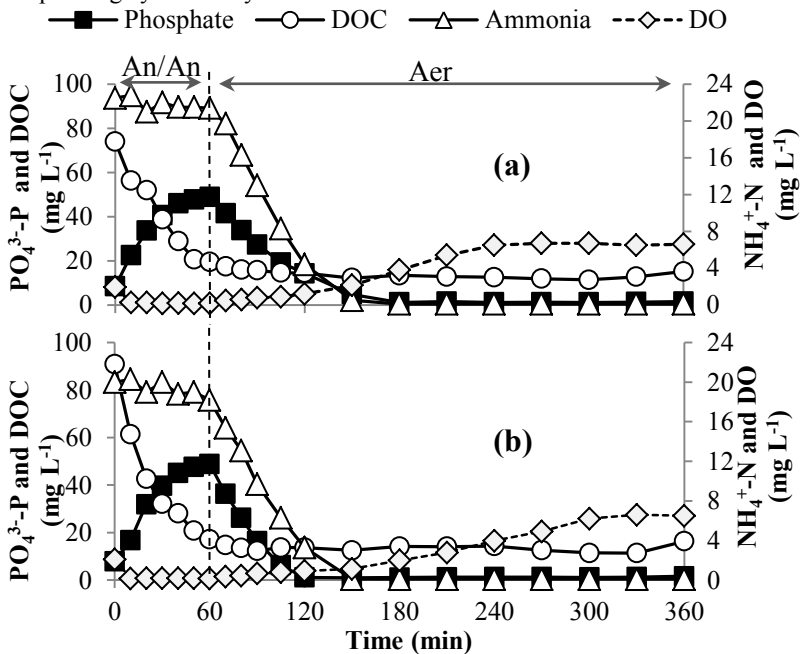
Figure 29d shows the TP concentrations in the influent and effluent of the reactors over the experimental period. A gradual decrease in the effluent TP content was observed over time in SB-CMBR and SB-HMBR, and, after around 20 days of operation, it remained relatively constant at around 1 mg L^{-1} . These results indicate that the steady state condition on TP removal was achieved at same time in both reactors. The average TP removal efficiency was observed to be 85.7% in SB-CMBR and 87.1% in SB-HMBR, whereas the average TP effluent concentration was less than 1 mg L^{-1} in both reactors (Table 8). Therefore, SB-CMBR and SB-HMBR showed a good performance on phosphorus removal.

Comparing these results with those reported by Rodríguez-Hernández et al. (2014) (Rodríguez-Hernández et al., 2014), who carried out a comparative study between a SB-HMBR and a SB-CMBR operated under continuous mode, a higher TP removal performance was observed in our study. These authors observed a TP removal efficiency of 42% for SB-HMBR and 37% for SB-CMBR, with average TP effluent concentration close to 2 mg L^{-1} in both reactors. Since the influent TP content was around 3.5 mg L^{-1} , the observed TP removal was attributed only for bacterial anabolic requirements. Indeed, there was not separate anaerobic phase in their study, a condition known to be essential for the development of PAOs and therefore to the EBPR process (Oehmen et al., 2005). Hence, operation in sequencing batch regime, as used in our study, becomes attractive, since different redox conditions can be implemented in a single tank to meet the treatment goals (Metcalf, 2003).

As evidenced by the measurements conducted over the experimental cycle (Figure 32), the P-uptake process was complete before the aeration/filtration phase has started (315 min) in both reactors, ensuring the low and similar $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ concentration in SB-CMBR and SB-HMBR permeates (Table 1). Although P-uptake has been completed at the end of the cycle of both reactors, the phosphate uptake rate (PUR) during the aerobic phase was faster in SB-HMBR than SB-CMBR. Complete phosphate removal was observed within 60

minutes of aeration in SB-HMBR, whereas in the CMBR it took 120 minutes for complete aerobic P-uptake. The calculated volumetric PUR in SB-HMBR and SB-CMBR during the aerated stage (Figure 32) was $56.9 \text{ mgP L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and $39.5 \text{ mgP L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively. Since the SB-CMBR and SB-HMBR showed similar MLVSS concentrations (Figure 30), the higher phosphate uptake rate in SB-HMBR was potentially related to the attached biomass fraction present in this reactor. The biomass (suspended + attached) specific PUR in this reactor was $13.05 \text{ mgPgMLVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$, whereas for SB-CMBR it corresponded to $10.30 \text{ mgPgMLVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$.

Figure 32 - $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, dissolved organic carbon (DOC), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and dissolved oxygen (DO) concentration profiles in (a) SB-CMBR and (b) SB-HMBR during the operating cycle on day 60.



The highest SPUR observed in the SB-HMBR could be related somehow to the lower AUR observed in this reactor (item 3.3). Once P-uptake and nitrification are aerobic processes, PAOs and nitrifying bacteria may have potentially competed for oxygen. In the beginning of aeration, during which the phosphate and ammonium uptake rates were

calculated, the DO concentration in the bulk was only around 1 mg/L (Figure 32). As autotrophic microorganisms are in disadvantage in comparison with heterotrophic bacteria for the bulk components (substrate, oxygen, biofilm space), nitrifiers could have had less access to oxygen, which may resulted in lower nitrifying activity (Gieseke et al., 2002; Prosser, 1989)]. Similarly to our study, Levia-Diaz et al. (2016) also found a lower ammonium removal and higher phosphorus removal in a hybrid membrane bioreactor compared to a conventional membrane bioreactor. Thus, particularly for the SB-HMBR, the nitrifying activity seems to be negatively impacted by the higher P-uptake activity observed in this hybrid system.

The high TP removal performance observed in SB-CMBR and SB-HMBR are in agreement with others studies reported in the literature. Deng et al. (2016) reported TP removal of 70% in a sponge-based moving-bed membrane bioreactor operating at the same HRT used in the current study (i.e., 12 h). The TP removal increased to 84% at HRT of 6 h. Yang et al. (2014) obtained a TP removal of 85% in a moving bed membrane bioreactor with similar concentrations of attached biomass observed in our study, but with HRT of approximately 25 h. Yang et al. (2010) observed a TP removal of 85% in a sequencing batch moving bed membrane bioreactor operated at HRT of 26 h and fed with synthetic wastewater containing acetate as carbon source. Guo et al. (2010) found a better EBPR performance in a MBR with attached biomass compared to a MBR containing only suspended solids. From the results obtained in this study and other correlated literature works, it seems that the hybrid MBR technology harboring attached bacteria may provide advantages for the removal of phosphorus from wastewaters.

4.1.3.5 Batch assays for evaluation of aerobic and anoxic phosphate removal potential

Although SB-CMBR and SB-HMBR have shown similar TP removal performance, the results obtained in batch tests suggest that the phosphorus removal mechanism may have been different in these reactors. Batch tests carried out with biomass from SB-CMBR and SB-HMBR (Figure 33) showed that the aerobic and anoxic P-uptake potential were different for suspended and attached biomass. The anoxic P-uptake rate of SB-HMBR ($4.92 \text{ mgP gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$) was higher than that of SB-CMBR ($2.87 \text{ mgP gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$). On the other hand, the aerobic specific phosphate uptake rate (SPUR) was similar in both reactors,

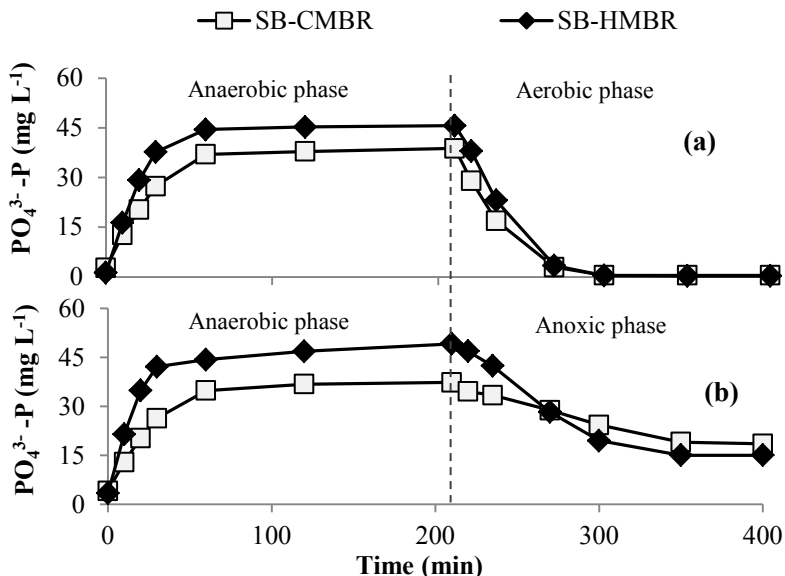
amounting to 12.42 and 11.49 mgP gVSS⁻¹ h⁻¹ in SB-CMBR and SB-HMBR, respectively. The anoxic SPUR relative to the overall (aerobic+anoxic) SPUR was 42% for SB-HMBR and 23% for SB-CMBR (Table 9). These values suggest that the SB-HMBR showed a higher potential to removal phosphorus under anoxic conditions, and, therefore, greater denitrifying dephosphatation capability. It can be speculated that an anoxic environment may have been established in the inner layers of the biofilm grown on the suspended carriers, contributing to enhance anoxic P-uptake activity in SB-HMBR as compared to SB-CMBR (Yang et al., 2010). Maximizing anoxic P-uptake is advantageous as nitrate and phosphate are simultaneously removed by using the same carbon source (Monclús et al., 2010). Furthermore, aeration requirements are diminished due to the use of nitrate as electron acceptor for PHA degradation in a PAO-enriched culture (Kuba et al., 1996).

Table 9 - Phosphate uptake rate (PUR) and specific phosphate uptake rate (SPUR) under aerobic and anoxic condition for each reactor at day 60.

	SB-CMBR		SB-HMBR	
	PUR (mgP L ⁻¹ h ⁻¹)	SPUR (mgP gVSS ⁻¹ h ⁻¹)	PUR (mgP L ⁻¹ h ⁻¹)	SPUR (mgP gVSS ⁻¹ h ⁻¹)
Aerobic	35.8	12.4	42.2	11.5
Anoxic	8.6	2.9	20.9	4.9
% DDC	--	23.0	--	42.0

DDC: Denitrifying dephosphatation capability.

Figure 33 - P-release (anaerobic phase) and P-uptake (aerobic or anoxic phase) obtained in batch tests for determination of the maximum (a) aerobic and (b) anoxic phosphate uptake rates in each reactor.



In order to assess the potential contribution of the biofilm to TP removal in SB-HMBR, two additional batch tests were performed: one with and other without the moving carriers. In the latter experiment, only mixed liquor sludge was retained in the reactor. The results suggest that the suspended biomass played a major role on aerobic P-uptake, as it exhibited a SPUR under aerobic conditions of $10.9 \text{ mgP gMLVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$. The attached biomass SPUR was found to be only $4.16 \text{ mgP gMLVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$, less than half of that shown by the dispersed biomass. Conversely, the adhered biomass fraction showed a highest anoxic SPUR, which was found to be $5.41 \text{ mgP gMLVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$. On the other hand, anoxic SPUR obtained with the suspended solids was $4.27 \text{ mgP gMLVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$. These results indicate a higher potential of the attached biomass to remove phosphate anoxically, probably related to the existence of anoxic and anaerobic microzones in biofilm resulting from oxygen transport resistance.

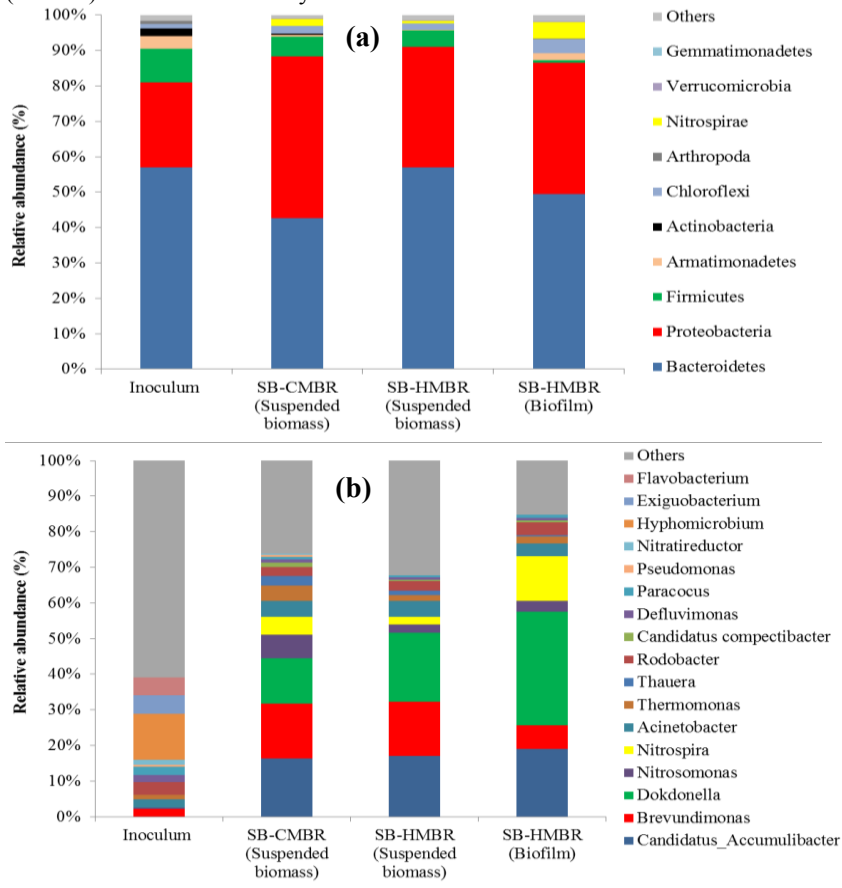
4.1.3.6 Microbial community analysis

The bacteria relative abundance in different sludge samples (inoculum, suspended biomass in SB-CMBR, suspended and attached biomass in SB-HMBR) at phylum and genus levels are displayed in Figure 34a-b. At phylum level (Figure 34a), all samples were dominated by Bacteroidetes and Proteobacteria. Together, they corresponded to more than 80% of the overall bacterial community in all sludge samples. The dominance of these phylotypes was also observed by Wan et al. (2011) in a full-scale membrane bioreactor treating municipal wastewater.

Both Bacteroidetes and Proteobacteria are Gram-negative bacteria. *Bacteroidetes* are known to degrade high molecular weight organic compounds, as proteins and carbohydrates (Thomas et al., 2011). Their ability to degrade these biopolymers suggests that they may play a key role as consumers of metabolites derived from other bacteria. As SB-CMBR and SB-HMBR experienced low soluble organic content during the aerobic phase, the relatively high abundance of Bacteroidetes in both reactors can be attributed to their ability to degrade polymeric organic matter (Fernández-Gómez et al., 2013), such as polysaccharides, proteins, lipids, among others extracellular polymeric substance (EPS).

In municipal wastewater treatment plants, Proteobacteria has been reported as a preponderant phylum, within which Betaproteobacteria is the most abundant class, regarded as the main responsible for organic matter and nutrient removal from wastewaters (Cyzdik- and Zielinska, 2016);Hu et al., 2012). Firmicutes appeared as the third most relevant genus in the inoculum and suspended biomass fractions in SB-CMBR and SB-HMBR, but was negligible in the biofilm of the hybrid reactor.

Figure 34 - Relative abundance at phylum (a) and genus (b) level in the inoculum, suspended biomass in SB-CMBR, suspended and attached biomass (biofilm) in SB-HMBR at day 60.



At the genus level, *Hyphomicrobium* was observed to be the dominant genus in the inoculum sludge, accounting for 13% of all sequence reads (Figure 34b). However, these organisms were not detected in any of the reactors. Although commonly found in soil and aquatic ecosystems, *Hyphomicrobium* were also detected in biological wastewater treatment reactors (Gliesche et al., 2005). Organisms belonging to *Brevundimonas* genus were also found in considerable amounts in the reactors, accounting for around 15% of the planktonic bacterial community. This genus was hardly reported to be present in

wastewater treatment plants (Del Casale et al., 2011), although some species were isolated from activated sludge reactors (Abraham et al., 2010). The DNA sequencing data also showed that *Dokdonella* was the dominant genus in the biofilm sample from SB-HMBR (Figure 34b), with relative abundance of 31.8%. On the other hand, it corresponded to only 12.6% and 19.4% of the overall reads in SB-CMBR and SB-HMBR (suspended solids fraction), respectively. *Dokdonella*-like organisms are aerobic heterotrophs that were firstly reported in 2013 (Li et al., 2013). They belong to the family Xanthomonadaceae, aerobic denitrifier, with potential ability to develop the nitrate reducing activity (Xing et al., 2016; Hu et al., 2012; Yoon et al., 2006). *Dokdonella* was also found as the most abundant genus in an A₂O process, possibly playing an important role in nitrogen removal (Kim et al., 2013).

Candidatus Accumulibacter, regarded as one of the main genus of PAOs responsible for the EBPR process (Metcalf, 2003), was not detected in the inoculum sludge (Figure 33b). This is directly related to the fact that the seed material was collected from wastewater treatment plant designed only for COD removal and nitrification, but not for nutrient removal. Over the operation of the reactor under alternated anaerobic-aerobic conditions, the relative importance of *Candidatus Accumulibacter* within the bacterial community has increased, and it became one of the dominant genus in the suspended (SB-CMBR and SB-HMBR) and attached (SB-SB-HMBR) biomass fractions. The relative abundance of *Candidatus Accumulibacter* was 19% in the biofilm of HMBR, while in the suspended biomass of SB-HMBR and SB-CMBR it corresponded to 17% and 16.4% of all reads, respectively. Although the percentages are very similar, the presence of significant amounts of *Candidatus Accumulibacter* in both suspended and adhered biomass portions can justify the higher SPUR obtained in the hybrid reactor.

On the other hand, the relative importance of *Candidatus Competibacter*, known as one of the main glycogen-accumulating organisms (GAOs), was rather small. These organisms compete with PAOs for the available substrate under anaerobic conditions, but do not contribute for the enhanced phosphorus uptake (Bassin et al., 2012). Therefore, they are considered undesirable organisms from the perspective of phosphate removal. Their low frequency in the microbial community (often less than 1% of the reads) suggests that most of the incoming COD was removed anaerobically by PAOs, resulting in P-release to the bulk. Other denitrifiers contributed to COD uptake in the

non-aerated SBR cycle phase, as nitrite and nitrate remaining from the previous cycle were used as electron acceptors for denitrification.

As regards to the nitrifying community, it was observed that the relative abundance of *Nitrosomonas* in SB-CMBR was 6.7%, whereas in the suspended and attached solids of SB-HMBR it corresponded to 2.3% and 3.1%, respectively. *Nitrosomonas* are known as key players in the nitrification process, being regarded as the main genus responsible for the oxidation of ammonium to nitrite in biological wastewater treatment plants (Wagner et al, 2002). The higher abundance of this particular genus in SB-CMBR may explain the higher SAUR obtained in this reactor.

Other important remark regarding the nitrifying community is related to the *Nitrospira*-like organisms. Not detected in the inoculum sludge, they corresponded to 5.1% and 2.1% of the reads in the suspended biomass samples from SB-CMBR and SB-HMBR, respectively. Moreover, their frequency was substantially higher in the biofilm sample collected from the hybrid reactor. This may explain why no accumulation of nitrite took place in the reactors at any time. It is important to highlight that no *Nitrobacter* 16S rRNA gene was detected in any sample. *Nitrobacter*-like nitrite oxidizers are commonly classified as r-strategists, being able to outcompete other nitrite oxidizing bacteria at high nitrite concentrations (Scheramm et al., 2000) . In this study, nitrite concentrations within the operating cycle in the two reactors were always low, which may have favoured the predominance of the K-strategists *Nitrospira* (Kim et al., 2006).

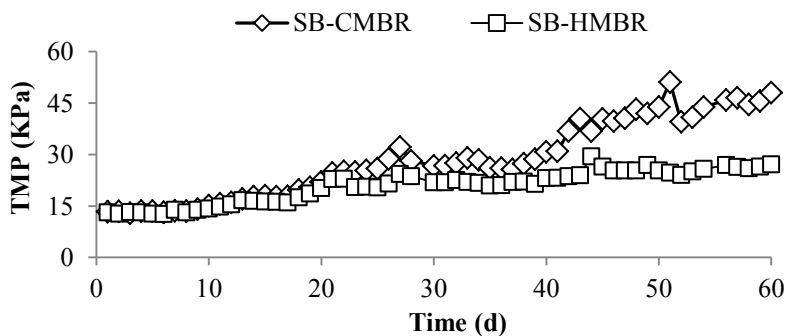
Acinetobacter, reported in early studies as the main responsible for the EBPR process (Cloete et al., 1988), was detected in all samples. Its relative frequency varied from 2.2% (inoculum sludge) to 4.5% (suspended biomass in both reactors). Low amounts of *Acinetobacter* (around 2% of the overall bacterial community) was also reported by Keating et al. (2016) , who evaluated the biological phosphorus removal in a high-rate anaerobic digestors treating synthetic wastewater.

4.1.3.7 Membrane fouling behaviour

Figure 35 shows the transmembrane pressure (TMP) profiles at a constant flux ($15.2 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) for both reactors throughout the experimental period. The TMP increased faster in the SB-CMBR than in SB-HMBR. Consequently, the membrane fouling rate (MFR) was greater in the former reactor, where it averaged 0.58 KPa d^{-1} . In the

hybrid reactor, the mean MFR was 0.23 KPa^{-1} , which corresponds to only 38% of that observed in SB-CMBR. These results suggest that the mixed liquor of SB-HMBR had a lower fouling potential. Comparing conventional and hybrid MBR systems operated in continuous mode, Rodriguez-Hernandez et al. (2014) reported that the MFR in hybrid MBR corresponded only to 57% of that observed in the conventional MBR. However, is important to note that the MFR values reported by these authors for both continuous MBR systems ranged from 1 to 3 KPa^{-1} , well above than those observed in our study. It appears that MBR operation in a sequencing batch mode is beneficial for membrane fouling mitigation, as previously reported by Zhang et al. (2006b). Unlike the MBRs operated in continuous mode, the filtration process in both SB-CMBR and SB-HMBR was performed discontinuously. Under such conditions, the adhesion of substances on the membrane surface is reduced, especially during the aerobic phase, when the filtration process is discontinued while the shear forces on membrane surface are maintained. As a result, the processes usually associated with membrane fouling, such as adsorption of SMP, biofilm growth and cake layer formation on membrane surface (Judd, 2006) are minimized. Consequently, the reversible fouling can be most effectively removed by air scouring under sequencing batch operation, while the frequency of chemical cleaning procedure for removing the irreversible fouling is reduced. Indeed, during the 60 days of operation of both reactors, no chemical cleaning was required to recover the membrane permeability.

Figure 35 - Transmembrane pressure (TMP) profile in SB-CMBR and SB-HMBR over the experimental period.



The results showed that the SB-CMBR exhibited higher values for all parameters commonly related to fouling propensity (Table 10). The average value for floc size was significantly higher ($p < 0.05$) in SB-HMBR (84 μm) as compared to SB-CMBR (61 μm). Likewise, CST value was significantly lower in the hybrid MBR. Larger floc sizes and lower CST of the suspended sludge is usually reported to minimize membrane fouling, being therefore beneficial to the membrane filtration process (Lim et al., 2003; De la Torre et al., 2008). Yang et al. (2014) also observed that the sludge flocs in a hybrid MBR was higher than those in a conventional MBR, result attributed to detachment of the biofilm from the plastic carriers. However, these authors noticed a higher fouling rate in the hybrid MBR as compared to the conventional MBR. In fact, Ahl *et al.* (2006) reported that submicron colloidal particles ($< 0.1 \mu\text{m}$) represent the most important factor on the fouling process. Hence, the assessment of these colloidal submicron particles should also be considered for a better understanding of the dominant fouling mechanisms in both reactors systems.

The higher average CST value observed in SB-CMBR indicates poorer sludge dewatering properties, which can also be associated with more filamentous bacteria and colloidal matter [60]. Despite the higher SVI value (Table 10), no overgrowth of filamentous bacteria was observed in the conventional MBR. As observed in previous studies [61], excessive growth of filamentous-like organisms results in serious membrane fouling problems in a moving bed MBR operated in continuous mode. Thus, MBR operation in sequencing batch mode seems to be beneficial for restraining the overgrowth of filamentous bacteria, thereby reducing membrane fouling.

The concentration of total SMP, which play an important role in the membrane fouling process (Judd, 2006), was also slightly higher in the SB-CMBR (50.4 mg L^{-1}) than in SB-HMBR (47.4 mg L^{-1}). The soluble COD in the mixed liquor within the aeration/filtration phase was slightly higher in the conventional MBR, which resulted in higher amount of COD retained by membranes in this tank. Sun et al. (2012) have found a strong correlation ($R^2 = 0.91$) between membrane fouling rate and the soluble COD in the mixed liquor of a moving bed membrane bioreactor. Therefore, the high COD removal achieved during the anoxic/anaerobic phase of both reactors (as discussed on section 3.2) assumes a great importance, given that the filtration process will occur under low COD levels in the subsequent aeration/filtration phase.

Table 10 - Sludge characteristics, soluble microbial products (SMP) and soluble COD values in each reactor.

		SB-CMBR	SB-HMBR
Sludge characteristics			
Viscosity	cP	3.86±0.15	3.73±0.17
CST	s	58.8±12	42.0±11
MLSS	mgL ⁻¹	4708±444	4615±388
Particle size	µm	61±12.7	84±20.2
SVI	mL g ⁻¹	178±41.6	156±41.3
SMP			
TEP	mg L ⁻¹	26.3±7.8	24.2±8.9
Polysaccharides	mg L ⁻¹	7.7±2.1	7.4±3.3
Protein	mg L ⁻¹	16.4±3.7	15.8±5.4
Total SMP	mg L ⁻¹	50.4±4.8	47.4±5.7
COD			
At end of aerobic phase	mg L ⁻¹	58±10	53±11
In the permeate	mg L ⁻¹	25±9.8	23±9.4
COD retained in membrane ¹	mg L ⁻¹	33±6.1	30±6.4

CST: Capillary suction time; MLSS: mixed liquor suspended solids. SMP: soluble microorganism products. TEP: transparent exopolymer; COD: Chemical oxygen demand. ¹Obtained from the difference between the COD values at the end of the aerobic phase and in the permeate.

4.1.4 Conclusions

In this study, the performance between a SB-CMBR and a SB-HMBR operated in parallel at lab-scale and fed with real municipal wastewater was compared. Both reactors showed appreciable COD, ammonium, total nitrogen and total phosphorus removal. However, cycle analysis data revealed that the phosphate uptake rate (PUR) in SB-HBMR was higher than in SB-CMBR. In addition, results derived from activity batch assays showed that the SB-HMBR exhibited higher phosphate removal potential under anoxic conditions, likely due to the establishment of anoxic zones within the biofilm. On the other hand, the ammonium uptake rate (AUR) was higher in SB-CMBR in comparison with SB-HMBR. DNA sequencing results showed that *Candidatus accumulibacter* was one of the dominant genera in the suspended (SB-CMBR and SB-HMBR) and attached (SB-HMBR) biomass fractions. Overall, the mixed liquor of SB-CMBR showed higher fouling

propensity, resulting in more pronounced membrane fouling rate compared to the SB-HMBR.

4.2 ARTIGO 2

No Artigo 1 foi possível constatar que a eficiência no tratamento de esgoto realizado pelo BRMBS e do BRMBS-LM foi bastante elevada e semelhante, no que diz respeito à remoção de matéria orgânica e nutrientes. Em relação a isso, destacam-se os resultados de análise de ciclo, que demonstraram que a baixa e similar concentração de PT nos reatores e permeados estavam atrelados ao fato de que o processo de absorção de fosfato era concluído antes do término da fase de aeração/filtração em ambos os reatores. Considerando ainda que o processo EBPR pode ser favorecido com a aplicação de maior carga orgânica, buscou-se, no Artigo 2², aperfeiçoar a operação do sistema, visando à redução do período destinado a fase de aeração nos reatores, promovendo, por sua vez, a redução do TDH e consequentemente o aumento da carga orgânica aplicada aos mesmos.

Nesse sentido, um biorreator à membrana convencional e um biorreator de membrana de leito móvel foram operados em modo de batelada sequencial por mais de 200 dias em diferentes tempos de detenção hidráulica, ou seja, 12 e 6 h, para a comparação de seus desempenhos quanto à remoção de DQO e nutrientes, incrustação de membrana e características da comunidade microbiana. Ambos os sistemas exibiram alto desempenho de remoção de matéria orgânica (> 95%) e amônia (> 98%), independentemente da TDH aplicada com concentrações médias de DQO e N-NH₄⁺ abaixo de 30 mg L⁻¹ e 0,80 mg L⁻¹, respectivamente. Com a redução da TDH de 12 para 6 h, a eficiência total de remoção de nitrogênio aumentou ligeiramente nos dois reatores, partindo de 65,1 para 67,9% no BRMBS e de 70,0 para 72,5% no BRMBS-LM, onde zonas anóxicas podem ter sido estabelecidas dentro do biofilme. Por outro lado, a remoção de PT melhorou apenas no BRM convencional (81,9 a 84,2%), enquanto que no BRM de leito móvel uma queda na eficiência de remoção de PT (84,2 a 78,3%) foi notada quando o TDH diminuiu para 6 h. Tais resultados foram obtidos por meio da realização de ensaios de bancada, evidenciando um processo de P-Absorção mais rápido no BRMBS do

² Artigo sob avaliação na revista *Environmental Science and Pollution Research*: Costa R.E., Lobo-Recio M. A., Bassin J. P., Belli T. J., Lapolli, F. R. (2017). Comparative study on treatment performance, membrane fouling and microbial community profile between conventional and hybrid sequencing batch membrane bioreactors for municipal wastewater treatment.

que o BRMBS-LM durante o período com TDH mais curto. Coincidentemente, uma menor abundância relativa de organismos acumuladores de fosfato, relatada como gênero *Brevundimonas*, foi encontrada tanto na biomassa aderida quanto na biomassa suspensa no BRMBS-LM no TDH de 6 h. Comparativamente ao BRMBS, o sistema híbrido apresentou menor propensão à incrustação, independentemente do TDH aplicado, indicando que a adição dos suportes plásticos para o crescimento do biofilme conduziu a melhores condições de filtrabilidade.

Transcrição adaptada do Artigo 2:

4.2.1 Introduction

In recent years, the stricter effluent quality requirements posed by environmental regulations have pushed the development of effective wastewater treatment technologies for the removal of many classes of pollutants (Bassin et al., 2016). In this scenario, the removal of nutrients (namely nitrogen and phosphorus) has gained special attention as they are directly related to the eutrophication of aquatic ecosystems (Pal et al. 2012).

The removal of nitrogen and phosphorus-containing compounds from wastewaters is usually carried out by sustainable and environmentally-friendly biological treatment processes. Biological nitrogen removal is traditionally accomplished in a two-step process: autotrophic nitrification under aerobic conditions followed by heterotrophic denitrification under anoxic environment. In the first step, sequential oxidation of ammonium to nitrate via nitrite takes place, whereas in the second process nitrite and/or nitrate are reduced via nitric oxide and nitrous oxide to nitrogen gas (Reboleiro-Rivas et al. 2015). On the other hand, biological phosphate removal is achieved by subjecting the sludge to alternating anaerobic-aerobic conditions, in the so-called enhanced biological phosphate removal (EBPR) process (Leyva-Díaz et al. 2016). Phosphate-accumulating organisms (PAOs) are regarded as essential in the EBPR process (Metcalf and Eddy, 2003). This group of bacteria can uptake the readily biodegradable organic matter from the wastewater and store it as polyhydroxyalkanoates (PHA) under anaerobic conditions (Wu et al. 2006). To accomplish this conversion, PAOs use the energy released from the hydrolysis of intracellular polyphosphate, leading to phosphate release from the

bacterial cells to the bulk liquid phase (Mino et al., 1998). Under the subsequent aerobic or anoxic conditions, the accumulated PHA serves as an energy source to replenish their polyphosphate reserves, leading to the removal of soluble phosphate from the liquid and consequent cell growth (Oehmen et al., 2005; Yang et al., 2010). Phosphate is then removed from the system by periodic discharge of phosphorus-rich sludge (Wilderer et al., 2001).

Currently, several continuous biological nutrient removal (BNR) processes have been employed for municipal wastewater treatment, including the anaerobic/anoxic/oxic (A²/O) process, the five-stage Bardenpho process and the University of Cape Town (UCT) process (Chen et al., 2011). These continuous flow activated sludge-based systems are very land-consuming and requires additional energy consumption for internal sludge recirculation between the different tanks (Hait and Mazumder 2011; Marner et al., 2016). The sequencing batch reactor (SBR) is an interesting alternative to the conventional (continuous) activated sludge process to accomplish the removal of nitrogen and phosphorus in small footprint treatment facilities (Juan et al., 2009). This is because the SBRs combine different environmental conditions required for nutrient removal in a single reactor tank by performing cyclic and sequential events, such as filling, reaction (anaerobic, anoxic and/or aerobic), settling and effluent withdrawal (Belli et al., 2015). Moreover, there is no need for sludge recirculation, resulting in significant savings of pumping energy (Arora et al., 1985).

However, the occurrence of poor settling sludge under some particular conditions (e.g., when filamentous bulking occurs) are concerns in SBR operation (Kang et al., 2003). To facilitate and improve solid-liquid separation, SBR operating mode has been recently combined with micro or ultrafiltration processes, which has been commonly referred to as sequencing batch membrane bioreactor (SB-MBR) (Dong and Jiang 2009). Unlike the conventional SBRs, in the SB-MBR there is no need for a separate settling phase, since biomass separation is conducted during the reaction (aerobic) phase. Such condition enables a reduction in the operating cycle length and, therefore, an increase in the volumetric treatment capacity (Xu et al., 2014). Furthermore, the biomass separation under aerobic environment is advantageous for EBPR processes, as it improves the overall P-removal performance by minimizing the risk of phosphate release during final effluent production, typically observed in secondary clarifiers (Monti et al., 2006).

Despite the advantages reported, the total nitrogen (TN) removal is often incomplete, especially when high volume exchange ratio (VER) is employed in the SB-MBR. Unless a post-anoxic stage with external carbon source is implemented, the nitrate generated during the aerobic phase tends to be discarded with the permeate, depreciating the nitrogen removal efficiency. Additionally, the remaining oxidized nitrogen species (nitrite and nitrate) of a given cycle will act as electron acceptors in the anaerobic phase of the subsequent cycle, inducing the consumption of organic carbon by denitrifying bacteria. So, the amount of COD available to PAOs decreases, which may hamper the biological phosphorus removal process. Thus, to obtain a better EBPR process performance, it is necessary to prevent or minimize the transfer of nitrite and nitrate to the anaerobic phase (Yang et al., 2010).

One alternative that has been previously investigated for this purpose is the addition of carriers in suspended growth processes to promote attachment of bacteria and biofilm development (Ødegaard 1999). In attached growth systems, anoxic zones may be established within the biofilm structure, even in an aerated environment. Therefore, denitrification may take place within the aeration phase of an SBR cycle (Liu et al., 2010). Consequently, the transfer of oxidized nitrogen compounds to the anaerobic phase is minimized, leading to an improvement of EBPR process performance. The combination of conventional membrane bioreactor (with suspended biomass) and biofilm reactor (with attached biomass) has recently been designated as hybrid biofilm membrane bioreactor (HMBR) (Rodríguez-Hernández et al., 2010). This technology has emerged as a promising process for the enhancement of nitrogen and phosphorus removal, particularly important when space limitation is a primary constraint (Hooshyari et al., 2009). Besides, this hybrid reactor has some advantages over the suspended biomass systems, such as higher resistance of the attached biomass to toxic compounds (Rahimi et al., 2011), capacity to accommodate higher organic loading rates (Yang et al., 2009) and a lower propensity to membrane fouling (Yang et al., 2014).

In view of these advantages, there has been a growing interest in the application of HMBR on wastewater treatment. However, most of the previous studies were carried out in continuous systems (Yang et al., 2012b; Luo et al., 2014; Rodríguez-Hernández et al., 2014; Duan et al., 2015; Reboleiro-rivas et al., 2015; Leyva-Díaz et al., 2015; Deng et al., 2016), whereas few results have been reported on the performance of HMBR operated in sequencing batch mode (SB-HMBR) (Yang et al.,

2010). Hence, there is a need for further research in this field, mainly using real municipal wastewater. In addition, studies comparing the performance of hybrid over conventional MBRs at different HRTs are also scarce. Rodriguez-Hernandez et al. (2014) and Leyva-Díaz et al. (2016) have conducted a comparative study between these two types of MBRs, but in both cases the reactors were operated in continuous mode. Thus, the aim of this study was to evaluate and compare the overall performance of a conventional (SB-CMBR) and a hybrid (SB-HMBR) sequencing batch membrane bioreactor in terms of nutrient removal and membrane fouling characteristics at different HRTs. Activity batch assays were performed to better characterize the nitrogen and phosphorus removal conversions. Mixed liquor filterability was assessed based on transmembrane profile, filtration batch tests and sludge properties. To better link the process conversions with the key microbial functional groups, DNA sequencing analyses were performed to reveal the bacterial profile of each reactor.

4.2.2 Material and Methods

4.2.2.1 Experimental setup and operation conditions

The lab-scale experimental reactors and its operational conditions were previously described in detail elsewhere (Costa et al., 2017). Briefly, the experimental setup consisted of two MBRs: a conventional (SB-CMBR) and a hybrid (SB-HMBR) sequencing batch membrane bioreactor. The reactors were composed of identical hollow fiber membrane modules (ZW-10, Zenon), submerged in a working volume of 18.3 L. For the SB-HMBR, 1960 cylindrical biocarriers made of polypropylene and with specific surface area of $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (AMB BioMedia™) were introduced in the reactor tank, resulting in a media filling ratio of 30%, similarly to the practiced in others studies (Reboleiro-Rivas et al, 2015; Leyva-Díaz et al 2015). The operating cycle of the sequencing batch reactors comprised four phases: feeding, anoxic/anaerobic period, aeration and filtration. During the filtration phase, 9.15 L of effluent were discharged from the reactor, leading to a volume exchange ratio (VER) of 50%, similarly to that used by Xu et al (2014) in sequencing batch membrane bioreactor treating municipal wastewater. The solids retention time (SRT) applied in each reactor was maintained at 15 d by manually wasting 1.22 L of sludge (on a daily basis) at the end of the aeration phase.

The SB-CMBR and SB-HMBR were feed with municipal wastewater (Table 13), taken from a sewage collection system, using a submerged pump. To prevent the entrance of large solid materials, this pump was installed inside a polyvinyl chloride (PVC) pipe covered with holes of 0.01 m of diameter. The inoculum sludge was obtained from the aeration tank of an activated sludge process installed at a municipal wastewater treatment plant, which also operated in sequencing batch mode.

Table 11 - Wastewater characteristics in each experimental run.

	COD (mg L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N (mg L ⁻¹)	TN (mg L ⁻¹)	TP (mg L ⁻¹)	COD/N	COD/TP
Run I	649±109	42±12	56±17	5.7±2.0	11.6	114
Run II	589±38	49±3	65±10	6.6±2.6	9.06	89

4.2.2.2 Experimental runs

SB-CMBR and SB-HMBR were initially subjected to acclimation period during 60 days. After this start-up period, the reactors were operated for another 145 days, divided into two experimental runs (I and II). In run I, which lasted 60 days, the hydraulic retention time (HRT) was set at 12 h, whereas in run II, lasting 85 days, the HRT was kept at 6 h. The HRT was controlled by adjusting the reactors cycle time to 6 h and 3 h for run I and II, respectively. As the filtration flux was constant in all runs (15.2 L m² h⁻¹), the aeration phase was shortened from 255 min (run I) to 75 min (run II) to enable the HRT reduction from 12 to 6 h., as indicated in Table 14.

Table 12 - SBR cycle profile, hydraulic retention time (HRT) and the respective organic loading rate (OLR) in each experimental run.

	Feed (min)	An/an (min)	Aer (min)	Filt (min)	Total cycle (h)	HRT (h)	OLR (gCOD L ⁻¹ d ⁻¹)
Run I	2	58	255	45	6	12	0.97±0.3
Run II	2	58	75	45	3	6	1.73±0.37

An/An: anaerobic/anoxic phase; Aer: Aeration phase; HRT: hydraulic retention time; OLR: Organic loading rate.

4.2.2.3 Experimental Procedures

The reactors performance were assessed based on COD, total nitrogen (TN), ammonium ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), and total phosphorus (TP) removal efficiency. For this purpose, the influent and effluent of a given cycle were collected for determination of the concentration of the several components. Furthermore, samples were also taken from the mixed liquor of SB-CMBR and SB-HMBR at the end of the feeding and anoxic/anaerobic and aerobic phases to evaluate the dynamics of the several parameters over the operating cycle. On the last day of operation within experimental runs I and II, the mixed liquor from each reactor was sampled at predefined time intervals during anoxic/anaerobic and aerobic phases to follow the P-release and P-uptake processes over an operating cycle.

During the experiments, the membrane was subjected to chemical cleaning when the transmembrane pressure (TMP) reached about 0.7 bar, as previously reported (Martin-Pascual et al., 2014). The cleaning procedure consisted of soaking the membrane module in a separate tank for 2 h in a sodium hypochlorite (200 mg L^{-1}) solution.

4.2.2.4 Batch Experiments

- Oxygen and ammonium uptake rate

Oxygen uptake rate (OUR) tests were used to assess the biological activity of autotrophic and heterotrophic microorganisms, whereas the ammonium uptake rate (AUR) was used to follow the nitrification process. The OUR was assessed by a respirometric procedure, in accordance to the protocol described by Iversen et al. (2009), whereas AUR was determined on basis of ammonium oxidation kinetic batch tests. For both tests, 1 L of mixed liquor was taken from the SB-CMBR and SB-HMBR and transferred to the respective vessel where the batch tests were conducted. For the hybrid reactor, the plastic carriers were also collected and transferred to the batch test vessel in order to keep the same media filling ratio employed in the SB-HMBR (i. e. 30%, v/v). Temperature and pH were controlled at 20°C and 7.5, respectively. For determination of OUR, an optical-based sensor (YSI ProODO) was used for dissolved oxygen (DO) monitoring, enabling the (DO) concentration to be measured and stored every 5 seconds in the data logger. To assess oxygen uptake due to endogenous respiration,

respirometric tests were performed after aerating the sludge samples overnight. Ammonium chloride was then added to the vessel to obtain the autotrophic oxygen uptake rate ($OUR_{\text{Autotrophic}}$). To estimate the heterotrophic oxygen uptake rate ($OUR_{\text{Heterotrophic}}$), allylthiourea (ATU) was added to inhibit the nitrification process and the vessel was spiked with sodium acetate. Exogenous (autotrophic and heterotrophic) OUR were calculated by considering the slopes of DO consumption in the ammonium and acetate-added experiments and those obtained in the endogenous respiration test. For AUR determination, a pulse of a NH_4Cl concentrated solution was added to the vessels to achieve initial ammonium concentrations of 40 mg N L^{-1} . The flasks were kept under aerobic conditions for 120 min, and samples were collected every 10 min for ammonium determination. The AUR values were then obtained from linear regression of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations over time. The total amount of biomass (volatile attached + volatile suspended solids) was determined to assess the specific OUR (SOUR) and specific AUR (SAUR) in the batch tests.

- Batch experiments for phosphate uptake assessment

In order to better evaluate the phosphate removal capability, batch experiments were carried out with the biomass from each reactor. Particularly for SB-HMBR, the batch experiments were conducted with and without the carriers to separately estimate the phosphate uptake rate (PUR) obtained either by the attached or by the suspended biomass. In both tests, the biomass was collected from the reactors immediately after the aerobic phase and transferred to the respective sealed vessels. Then, the vessels were kept in an anaerobic environment in the presence of sodium acetate (0.2 g L^{-1}) for 3.5 h to promote phosphate release and PHA accumulation (Monclus et al., 2010). Subsequently, the aerobic P-uptake activity was estimated subjecting the flask to continuous aeration during 3 h. The volumetric PUR was calculated by linear regression of phosphate concentration over time whereas the biomass-specific PUR (SPUR) was determined by dividing the volumetric PUR by the total amount of biomass in the test vessel. The extraction of the biofilm from the carriers for volatile attached solids (VAS) determination was accomplished as described in section 4.2.2.6 (analytical methods).

- Filtration tests

The filterability of the mixed liquor from both reactors was assessed by membrane fouling index (MFI), which was determined in dead-end filtration batch tests. The MFI provides an idea of the fouling potential of the mixed liquor. A higher MFI value can result in a higher membrane fouling rate (MFR) in MBR systems (Zhang et al., 2008). The filtration batch tests were conducted under unstirred conditions, using a flat sheet membrane (acetate cellulose) with nominal pore size of 0.2 μm . All experiments were carried out at 0.2 bar pressure. The permeation flux was obtained by weighing the cumulative permeate in an electronic balance. The filtration experiments were carried out using the mixed liquor suspended solids and also a supernatant solution, the latter obtained by subjecting the mixed liquor to centrifugation at 10000 rpm. Such procedure was followed to separately evaluate the filterability of all mixed liquor components (MFI) and that of its colloidal and dissolved components ($\text{MFI}_{\text{supernatant}}$). The MFI values were then taken as the slope of the linear region of the inverse flow rate (t/V) versus cumulative volume (V) curve (Koo et al., 2013).

4.2.2.5 Microbial community analysis

High-throughput sequencing was used to characterize the bacterial communities in the MBRs at genus level. DNA sequencing analyses were performed with the suspended biomass (from both reactors) and biofilm (from the carriers of the hybrid system). Total nucleic acids were extracted using a commercial kit (Power Soil, Mobio), following the manufacturer's protocol. The sample preparation and sequencing was performed by Neopropecta Microbiome Technologies. For amplification of the V3 and V4 hypervariable regions of the 16S rRNA gene, the following universal primers were used: 341F 5'-CCTACGGGRRSGCAGCAG-3' (Wang et al., 2009) and 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' (Caporaso et al., 2012). Purified PCR products were sequenced using the Miseq platform (Miseq, Illumina Inc, USA). Subsequently, the data was processed by specialized software (*Epiome*[®]) and loaded onto a specific platform for analysis and interpretation of the results. High quality sequences were processed to generate operational taxonomic units (OTUs) at 97% sequence similarity threshold.

4.2.2.6 Analytical methods and calculation procedures

Chemical oxygen demand (COD), ammonium nitrogen (NH_4^+ -N), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), and orthophosphate (PO_4^{3-} -P) were analysed by spectrophotometry (Hach Lange, DR5000) using the Hach Methods 8000, 10031, 10072, 10127 and 8114, respectively, according to manufacturer's instructions.

Soluble microbial products (SMP) were determined as protein, polysaccharide and transparent exopolymer particles (TEP) content by spectrophotometric analysis. Protein was measured according to the method described by Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin as standard. Polysaccharides were measured using the phenol-sulphuric acid method, according to Dubois et al. (1956). The determination of TEP concentration was made according to de la Torre et al. (2008), using xanthan gum as the standard solution. Total content of SMP was considered to be the sum of the protein, polysaccharide and TEP concentrations. Mixed liquor viscosity was measured with a digital viscometer (Brookfield DVI Prime, UK). The diluted sludge volume index (DSVI) was determined by diluting the sludge samples with the permeate of the reactors (Belli et al., 2015), and the settled sludge volume was normalized with the MLSS content (Metcalf and Eddy 2003). The turbidity of supernatant at the end of the DSVI test (after 30 min settling) was used as an indirect measure of sludge flocculating ability (Fallah et al., 2010). To assess the capillary suction time (CST) of the sludge, five millilitres of mixed liquor were sampled from SB-CMBR and SC-HMBR and submitted to CST tests (304M CST, Triton).

The attached biomass concentrations were determined after biofilm extraction from the carriers. For this purpose, five carriers were collected from SB-HMBR and transferred to a Falcon tube filled with 25 mL of distilled water. The tube was vigorously shaken for biofilm detachment. The solution containing the detached solids was used to estimate the attached biomass concentration within the SB-HMBR, according to Equation (Zhang et al., 2014):

$$X = (m * N)/V$$

Where X is the total adhered solids concentration present in the SB-HMBR (mg L^{-1}); m is the amount of the attached biomass in each carrier (mg TS per carrier); N is the number of suspended carriers in the reactor (1960 carriers) and V is the working volume of the reactor (18.3 L).

4.2.3 Results and discussion

4.2.3.1 Organic matter removal and biomass concentration

Fig. 35a shows the average effluent COD for SB-CMBR and SB-HMBR, as well as their respective COD removal efficiency attained in each experimental run. Both reactors systems showed an appreciable organic matter removal performance. The organic content was slightly lower in the effluent of SB-HMBR. The average effluent COD in this reactor within runs I and II was 15.3 and 15.1 mg L⁻¹, which corresponds to a COD removal efficiency of 97.2 and 96.9%, respectively. On the other hand, the effluent COD in SB-CMBR amounted to 20.2 and 29.2 mgO₂ L⁻¹ in runs I and II, respectively, which represents a COD removal of 97.1 and 94.7%. These results indicate that both reactors were practically not affected by the organic loading rate (OLR) increase from 0.97±0.30 (HRT of 12 h) to 1.73±0.37 gCOD L⁻¹ d⁻¹ (HRT of 6 h) (Table 14). Such behaviour could be related to the greater heterotrophic activity observed in both reactors under the higher OLR conditions (run II), as will be discussed further on (Section 4.2.3.2). Due to the higher biomass activity, the MLVSS values substantially increased (up to 50%) in both reactors during run II (Table 15). On the other hand, this trend is not valid for the attached biomass fraction in the SB-HMBR, for which a slight decrease (from 1.5 to 1.2 gVS L⁻¹) was observed at higher OLR. Similarly, Mannina et al (2018) also found a decrease in the biofilm concentrations as the HRT was reduced from 30 to 13 h in a continuous moving bed membrane bioreactor system. As pointed out by these authors, a possible reason for this behaviour may be associated to the greater organics removal capability of the suspended biomass as compared to the attached biomass.

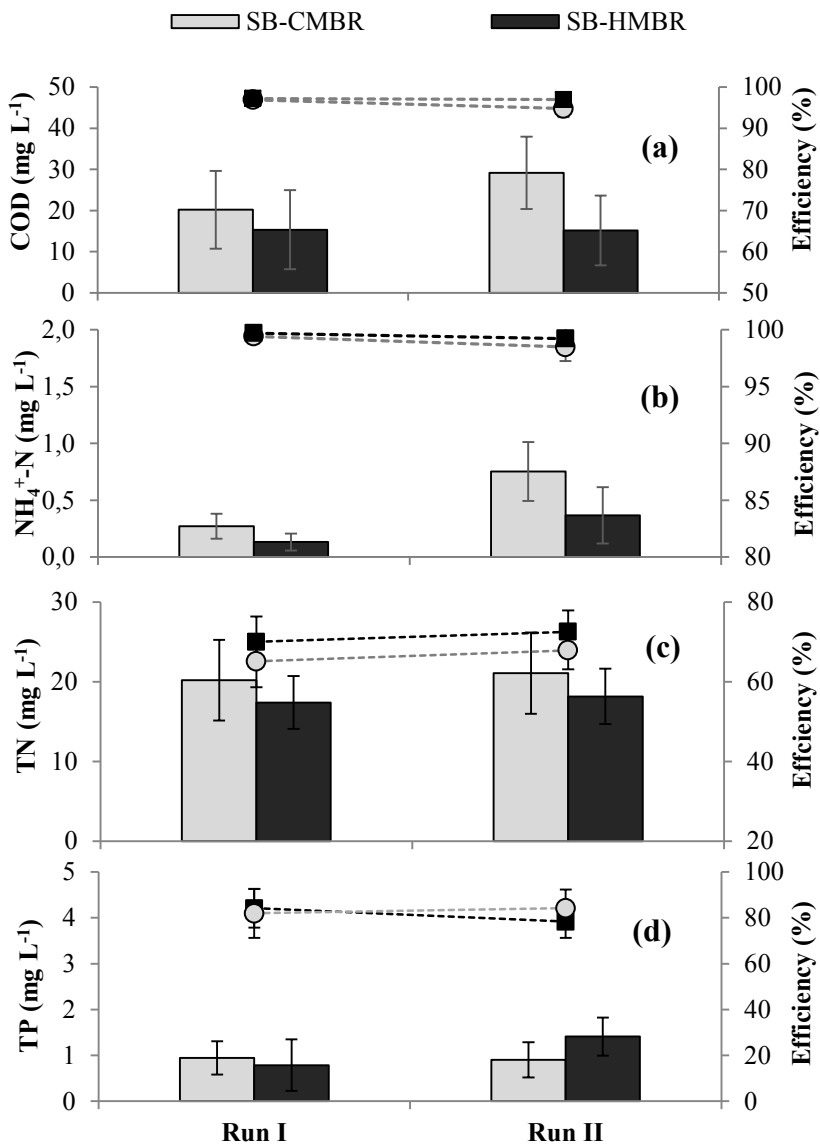
The slightly better performance shown by the SB-HMBR under increased OLR is likely due to the higher total (suspended+attached) biomass concentration present in the hybrid reactor (Table 15). Consequently, SB-HMBR experienced a lower food/microorganisms (F/M) ratio, which amounted to 0.26±0.07 (run I) and 0.33±0.05 gCODgVSS⁻¹ (run II). In SB-CMBR, the average F/M values were 0.35±0.06 (run I) and 0.41±0.04 gCODgVSS⁻¹ (run II).

Table 13 - F/M and MLVSS values for each reactor at run I and II.

	HRT (h)	SB-CMBR		SB-HMBR		
		F/M (gCOD gVSS ⁻¹)	MLVSS (g L ⁻¹)	F/M (gCOD gVSS ⁻¹)	MLVSS (g L ⁻¹)	BF (g L ⁻¹)
Run I	12	0.35±0.06	3.91±0.5	0.26±0.07	3.90±0.4	1.5±0.2
Run II	6	0.41±0.04	5.74±0.4	0.33±0.05	6.01±0.6	1.2±0.1

F/M: food to microorganism ratio; MLVSS: mixed liquor volatile suspended solids; BF: biofilm (volatile solids).

Figure 36 - (a) COD, (b) $\text{NH}_4^+\text{-N}$, (c) TN and (d) TP concentration effluent of each reactor, and their respective removal efficiency. HRT was set at 12 h and 6 h in run I and I, respectively.



Similarly to previous studies combining organic matter and nutrient removal processes (Yu et al., 2014), the biodegradable COD consumption occurred predominantly in the anoxic/anaerobic phase in both reactors (Fig. 36). Considering the theoretical biodegradable COD that would be available at the end of feeding phase if there was no organic matter removal in that period, 86.2% and 97.3% of the influent COD was found to be consumed in the anoxic/anaerobic phase at HRT of 12 and 6 h, respectively. For SB-HMBR, the corresponding values were 91.5% and 94.1%, respectively. Such results suggest that the incoming organic substrate was mainly used for PHA storage and P-release under anaerobic conditions as well as electron donor for the denitrification process.

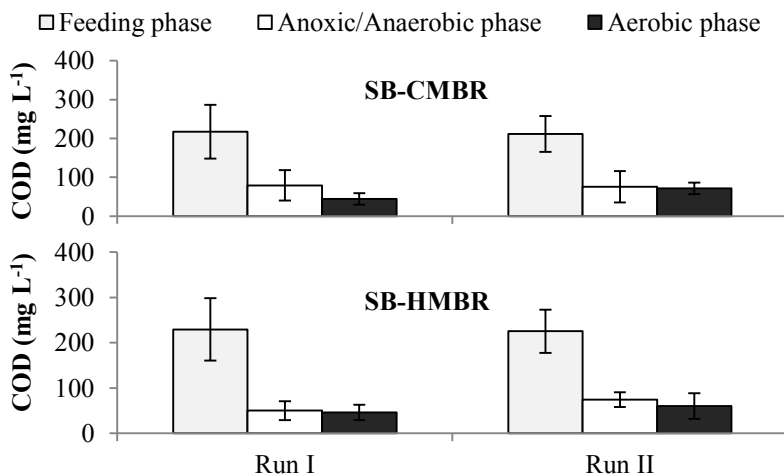
4.2.3.2 Nitrification and nitrogen removal: insights from reactors operation and activity batch tests

The average NH_4^+ -N concentrations in the effluent of SB-CMBR and SB-HMBR, as well as their respective average ammonium removal efficiency attained in each experimental run are shown in Fig. 35b. Both reactors exhibited high nitrification performance (>98%), resulting in very low ammonium concentrations in the effluent (< 1 mgNH_4^+ -N L^{-1}). Given that most of the incoming COD was removed within the anoxic/anaerobic phase (Fig. 36), a low COD/N ratio environment was established in the aerobic period, minimizing the competition between nitrifying bacteria and ordinary heterotrophic microorganisms by the available oxygen. This may have contributed to the high ammonium removal efficiency achieved in both reactors, regardless of the HRT applied in runs I and II.

Table 16 shows the results obtained in the batch assays for determination of ammonium uptake rate (AUR) and oxygen uptake rate (OUR) with the biomass from both reactors. The HRT reduction led to an increase of AUR values in SB-CMBR and SB-HMBR. Furthermore, it is observed that the SB-HMBR showed higher AUR values than SB-CMBR in both HRTs applied. Similarly, the autotrophic OUR values were higher in SB-HMBR (82.3 and 137.1 $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$) than in SB-CMBR (68.0 and 131.9 $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$). These results indicate that the ammonium oxidation process was faster in the hybrid reactor, which is line with the higher ammonium removal efficiency attained in this reactor (Fig. 35b). However, the specific ammonium uptake rate (SAUR) and the specific oxygen uptake rate (SOUR) did not follow the

same pattern, as the hybrid reactor presented a higher biomass concentration (Table 3). The SAUR for SB-CMBR and SB-HMBR within runs I and II were, respectively, 3.47 and 3.87 $\text{mgNH}_4^+ \text{-NgVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and 2.27 and 2.97 $\text{mgNH}_4^+ \text{-NgVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Furthermore, the SOUR was 11.7 and 17.3 $\text{mgO}_2 \text{gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for SB-CMBR and 10.1 and 14.1 $\text{mgO}_2 \text{gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for SB-HMBR, at HRT of 12 and 6 h, respectively. The results suggest that the relative percentage of nitrifying bacteria within the overall bacterial community was higher in SB-CMBR than in SB-HMBR. If the SAUR obtained in the batch tests are converted into their respective $\text{SOUR}_{\text{Autotrophic}}$ by taking into account the nitrification stoichiometry, very similar values are observed between the experimental (Table 16) and the theoretical values (Table 17). This behaviour validates the results of oxygen and ammonium consumption-based experiments.

Figure 37 - Average concentrations of COD at the end of the feeding, anoxic/anaerobic and aerobic phases in each experimental run (error bars indicate the standard deviation). HRT was set at 12 h and 6 h in run I and II, respectively.



The lower SAUR and SOUR values obtained in SB-HMBR may be associated with the presence of biofilm in the latter. Previous studies on hybrid reactors (with suspended + attached biomass fractions) have shown that the nitrifying activity of the attached biomass was lower than that of the suspended biomass (Bassin et al., 2016). In the

presence of organic carbon, the biofilm outer layer becomes dominated by heterotrophic bacteria, as they exhibit higher growth rate and greater competitiveness for the oxygen and nutrients as compared to autotrophic nitrifiers (Okabe 1996; Nogueira et al., 2002). Hence, nitrifiers are potentially forced deeper into the biofilm, where greater mass transport resistance is experienced in relation to the planktonic (suspended) phase (Bassin et al., 2016). Thus, the specific nitrification activity in the biofilm of SB-HMBR may be negatively impacted.

The respirometric assays also revealed that heterotrophic activity ($OUR_{\text{Heterotrophic}}$ and $SOUR_{\text{Heterotrophic}}$) was higher in SB-HMBR than in SB-CMBR, especially at HRT of 6 h (Table 16). The greater heterotrophic activity in SB-HMBR is possibly associated with the lower SAUR and $SOUR_{\text{Autotrophic}}$ observed in this reactor. Yang et al. (2009) have also reported a higher heterotrophic SOUR in a hybrid MBR compared to conventional MBR, confirming the higher heterotrophic activity in this type of reactor configuration.

The results also indicated a higher performance of the hybrid MBR on TN removal (70 – 72%) in comparison with the conventional MBR (65 – 68%) as presented in Fig. 35c. Considering that nitrification was practically complete in both reactors (ammonium removal higher than 99%), the total soluble nitrogen in the reactors effluent was essentially in the nitrate form. Thus, the higher SB-HMBR performance in terms of TN removal may indicate an enhanced denitrifying activity in this reactor, probably resulting from the formation of anoxic zones in the inner regions of the biofilm attached to plastic carriers. Yang et al. (2014) also found a greater TN removal in a moving bed biofilm membrane bioreactor than in a conventional counterpart, result attributed to the occurrence of denitrification within the biofilm. In addition, given the higher total biomass content in the SB-HMBR (Table 15), more nitrogen was assimilated for bacterial growth in this reactor, consequently leading to greater TN removal.

Table 14 - Ammonium uptake rate (AUR) and autotrophic/heterotrophic oxygen uptake rate (OUR) for each reactor in runs I and II.

		SB-CMBR		SB-HMBR	
		Run I ^a	Run II ^b	Run I ^a	Run II ^b
Ammonium uptake rate					
AUR	mgNH ₄ ⁺ -N L ⁻¹ h ⁻¹	13.53	22.9	16.81	26.1
SAUR ^c	mgNH ₄ ⁺ -NgVSS ⁻¹ h ⁻¹	3.47	3.87	2.27	2.97
Autotrophic OUR^d					
OUR _{Autotrophic}	mgO ₂ L ⁻¹ h ⁻¹	68.0	131.9	82.3	137.1
SOUR _{Autotrophic} ^e	mgO ₂ gVSS ⁻¹ h ⁻¹	11.7	17.3	10.1	14.1
Heterotrophic OUR^d					
OUR _{Heterotrophic}	mgO ₂ L ⁻¹ h ⁻¹	161.0	213.0	180.7	439.2
SOUR _{Heterotrophic} ^e	mgO ₂ gVSS ⁻¹ h ⁻¹	30.9	30.6	38.1	54.1

^a HRT of 12 h. ^b HRT of 6 h. ^c Specific ammonium uptake rate. ^d OUR: oxygen uptake rate. ^e Specific oxygen uptake rate.

Table 15 - Theoretical autotrophic oxygen uptake rates (OUR).

		SB-CMBR		SB-HMBR	
		Run 1 ^a	Run 2 ^b	Run 1 ^a	Run 2 ^b
OUR _{Autotrophic}	mgO ₂ L ⁻¹ h ⁻¹	61.8	104.6	76.8	119.2
SOUR _{Autotrophic} ^d	mgO ₂ gVSS ⁻¹ h ⁻¹	15.8	17.6	10.4	13.6

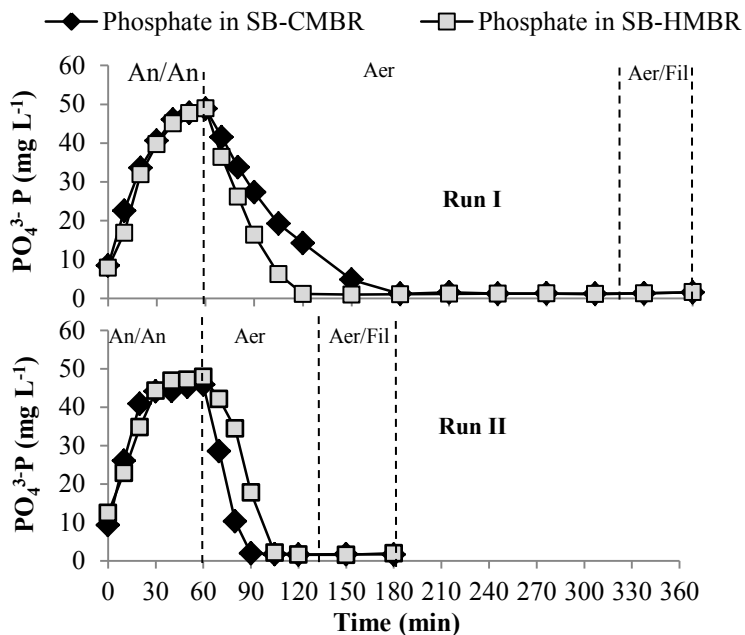
^a HRT of 12 h. ^b HRT of 6 h. ^c OUR: oxygen uptake rate. ^d Specific oxygen uptake rate.

4.2.3.3 Phosphorus removal

The average effluent TP concentration and the respective average TP removal efficiency of each reactor at different HRTs are displayed in Fig. 35d. Both MBR systems showed appreciable TP removal efficiencies, averaging near 80%, regardless of the HRT applied. Nevertheless, it was noticed that the HRT reduction led to a slightly better TP removal in the SB-CMBR (81.9 to 84.2%). On the other hand, for the SB-HMBR, an opposite behaviour was observed, and TP removal efficiency dropped from 84.2 to 78.3%.

Data from the cycle analysis (Fig. 37) revealed that the volumetric phosphate uptake rates (PUR) also showed the same trend as the HRT was reduced. For the SB-CMBR, the PUR increased from 39.5 to 106.7 mgP L⁻¹ h⁻¹, representing an increase of 170%. Conversely, for SB-HMBR, it decreased from 65.1 to 60.1 mgP L⁻¹ h⁻¹. The PUR rise obtained in the conventional MBR is in agreement with the results reported by Xu et al. (2014). These authors have found a P-uptake increase of 168% when the HRT applied to a conventional MBR was shortened from 24 to 12 h. At lower HRT, a higher organic substrate load is provided, which can actually induce PAOs to store more PHA during anaerobic phase and consequently take up more phosphate under subsequent aerobic conditions. Therefore, a higher volumetric PUR can be obtained. Interestingly, for the hybrid reactor, this pattern was not observed. In order to better understand these findings, batch tests were carried out to assess the maximum P-uptake potential of each biomass fraction (suspended and attached) present in the bioreactors over the different experimental runs. The results are presented in the following section.

Figure 38 - $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ concentration profiles in SB-CMBR and SB-HMBR during an operating cycle at HRT of 12 h (Run I) and 6 h (Run II). An/An: anoxic/anaerobic phase; Aer: aerobic phase; Aer/fil: aeration/filtration phase.



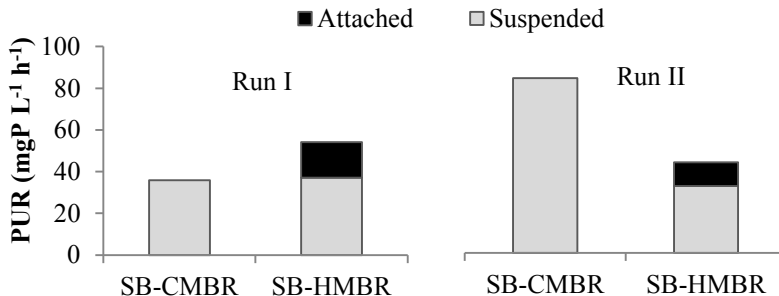
4.2.3.4 Batch assays for evaluation of the P-uptake pattern in both planktonic and biofilm-grown bacteria

The volumetric phosphate removal rates obtained with suspended and attached biomass fractions were assessed by means of activity batch tests (Fig. 38). Overall, the volumetric PUR showed the same trend as that observed in the cycle analysis of each reactor (Fig. 37). The HRT reduction from 12 to 6 h led to a substantial increase of PUR in SB-CMBR (35.8 to 83.1 $\text{mgP L}^{-1}\text{h}^{-1}$), whereas for SB-HMBR (mixed liquor + carriers) the PUR decreased (54.8 to 43.1 $\text{mgP L}^{-1}\text{h}^{-1}$). Such results support the hypothesis that the P-uptake process was faster in the conventional MBR and slower in the hybrid MBR during the period with shorter HRT.

Particularly for the SB-HMBR, the PUR attributed to suspended and attached biomass activity decreased, respectively, about 14% (37.04

to 31.73 mgP L⁻¹h⁻¹) and 34% (17.08 to 11.28 mgP L⁻¹h⁻¹) when the HRT was reduced to 6 h. Taking into account the amount of different biomass fractions, the specific P-uptake (SPUR) of the suspended and attached solids decreased 27% (10.9 to 7.9 mgP gMLVSS⁻¹h⁻¹) and 31% (14.8 to 10.2 mgP gVS⁻¹h⁻¹), respectively. On basis of these results, it can be inferred that the HRT reduction led to lower phosphate uptake capability for both dispersed and adhered biomass in the hybrid MBR. These findings may indicate that other bacterial groups may have experienced a more favorable growing condition in detriment to PAOs at shorter HRT.

Figure 39 - P-uptake rates achieved with the attached and suspended biomass in the batch tests carried out during the reactors operation at HRT of 12 h (Run I) and 6 h (Run II).



One possible explanation for the lower phosphate uptake activity in the carrier-based MBR may be associated to the feeding pattern. Both MBRs were fed from their upper part. During the feeding period, particularly in SB-HMBR, all the plastic carriers floated in the top part of the reactor. Consequently, the influent wastewater first percolated through the biomedica, similarly to what occurs in a trickling filter, and then came in contact with the mixed liquor. Under these conditions, the readily biodegradable organic carbon was preferentially consumed (under anaerobic/anoxic conditions) by the adhered biomass. However, in attached biomass-based systems, the sludge retention time is not easily controlled (Bryers 2000), and, to allow for phosphate removal via the EBPR process, the sludge age should be properly controlled by surplus sludge discharge. This means that the retention time of PAOs established in the biofilm of SB-HMBR was not controlled as desired for an efficient EBPR process. Hence, the higher organic loading rate at HRT of 6 h may have favored the growth of

other heterotrophic bacteria in the biofilm, such as ordinary denitrifiers, which consume the available COD much faster than PAOs (Metcalf and Eddy 2003). Indeed, this was further confirmed by analysis of the microbial community, as discussed further. Given this scenario, a lower organic content was available in the subsequent anaerobic phase of the SB-HMBR, which may explain the lower PUR values attained with the suspended biomass during the shorter HRT period. On the other hand, for the conventional MBR, this trend was not observed, and the additional COD load provided at lower HRT could be used by PAOs, leading to an enhancement of the PUR within run II.

4.2.3.5 Microbial community analysis of suspended and attached biomass fractions by next-generation sequencing

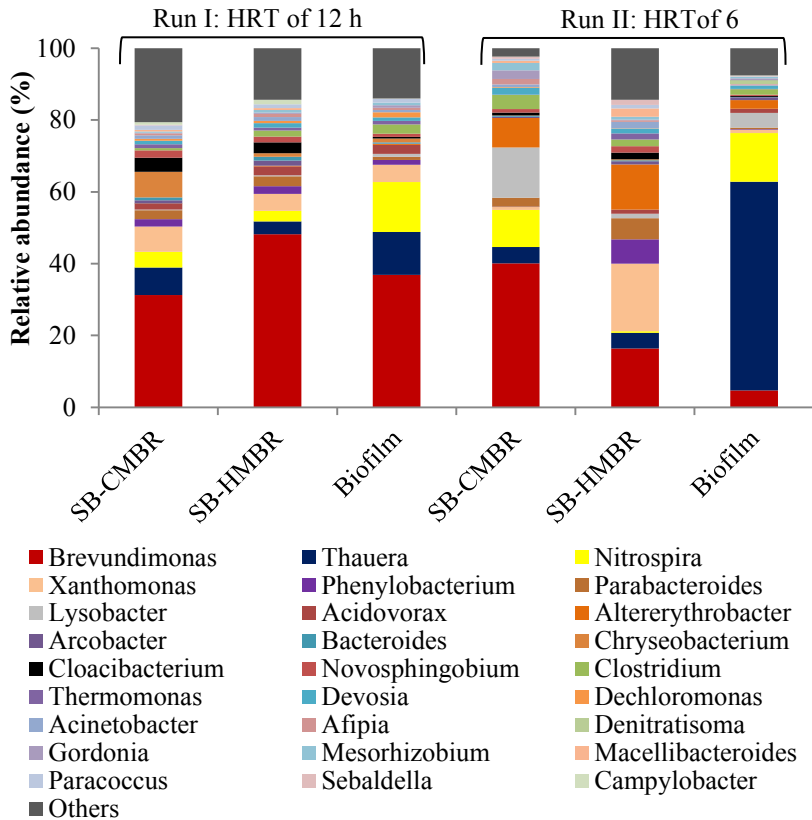
For a better understanding of the microbial conversions taking place in the reactors operated in this study, their bacterial community was assessed by high-throughput sequencing. The bacteria relative abundance in different sludge samples (suspended biomass in SB-CMBR, suspended and attached biomass in SB-HMBR) at genus level for each experimental run are displayed in Fig. 39.

The sequencing results revealed that the general bacterial profile at genus level was similar in both reactors in Run I, when the HRT was set at 12 h. Furthermore, despite some differences in the relative abundance of some bacterial groups, the microbial community was similar in the suspended and attached (biofilm) biomass fractions in SB-HMBR. However, when the HRT was reduced from 12 to 6 h, substantial changes in the bacterial profile at genus level were observed in the hybrid reactor. This is valid for suspended biomass and especially for the biofilm phase, where the dominant bacterial groups changed completely.

Microorganisms belonging to *Brevundimonas* genus were found in considerable amounts in both reactors, especially during the period with HRT of 12 h. Under this condition, *Brevundimonas* genus accounted for around 31% and 48% of the total bacterial community in the suspended biomass samples from SB-CMBR and SB-HMBR, respectively, and 37% of the attached biomass from SB-HMBR. On the other hand, at HRT of 6 h, *Brevundimonas*-related bacteria were found to be the dominant genus only in the SB-CMBR, showing a relative abundance of around 40%. In the SB-HMBR, however, this genus

accounted only for 16% and 5% of the overall bacterial community in the suspended and attached biomass fractions, respectively.

Figure 40 - Relative abundance at genus level in the suspended biomass in SB-CMBR and SB-HMBR and attached biomass in SB-HMBR (biofilm) for HRT of 12 and 6 h.



Ryu et al. (2007) described the taxonomic characterization of a novel species within the *Brevundimonas* genus, isolated from activated sludge, which was able to perform the EBPR process. They named these organisms as *Brevundimonas aveniformis* sp and classified them as a novel representative within the PAOs group. This finding may explain the change in EBPR performance observed in our study as the HRT was reduced to 6 h. Indeed, the results demonstrated that both the attached and suspended biomass of SB-HMBR exhibited a PUR decrease as HRT

was reduced, which coincided with the decrease in the relative abundance of *Brevundimonas* genus in both biomass fractions.

As regards to the attached biomass, in particular, a considerable amount of *Thauera* genus (relative frequency of 58%) was found during the period at shorter HRT. *Thauera* sp has been previously identified as denitrifying bacteria, playing an important role in many bioreactors performing denitrification (Jiang et al., 2008; Hao et al., 2013). This indicates that the bacterial community of biofilm was dominated by denitrifying microorganisms, particularly at HRT of 6 h, suggesting that the incoming COD was preferentially used for nitrate reduction by denitrifiers rather than for storing PHA by PAOs.

The sequencing results also revealed that *Xanthomonas*, present in smaller proportions in Run I, became the dominant genus (19%) in the microbial community of the suspended biomass fraction of the hybrid reactor at HRT of 6 h. These organisms were also reported to perform heterotrophic denitrification (Cheneby et al., 2000; Finkmann et al., 2000). The predominance of these organisms and the lower number of PAO-related bacteria as compared to the SB-CMBR may also explain the lower PUR obtained with this biomass fraction at HRT of 6 h in the SB-HMBR.

The substantial decrease of PAOs population in SB-HMBR at shorter HRT indicates that there is a need for improvement and optimization of the carried-based MBR process to ensure a higher TP removal performance at higher organic substrate loadings. One possible alternative to reduce the predominance of denitrifying bacteria in the attached biomass fraction in SB-HMBR would be to maintain the plastic carriers confined at the inferior compartment of reactor (where the membrane module is located) in order to prevent a prior contact of the influent wastewater with the biofilm. Such configuration could even mitigate the membrane fouling due to the collisions between the moving plastic media and the membrane surface, as previously reported by Lee et al. (2006).

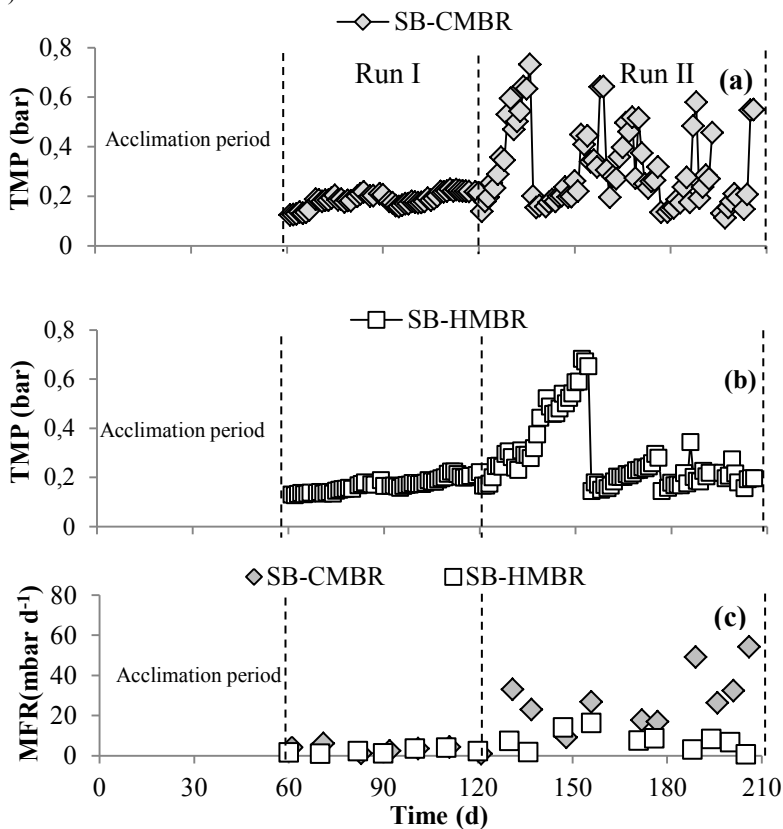
Nitrospira-like nitrite oxidizers were also abundantly present, especially in the biofilm of the SB-CMBR, where they accounted for 13.9% and 13.5% of the overall community in Runs I and II, respectively.

4.2.3.6 Membrane fouling behaviour as a comparison tool between conventional and hybrid MBRs

Fig. 40 a-b shows the TMP variations for the SB-CMBR and SB-HMBR throughout the experimental runs I (61-121 d) and II (121-204 d). During both periods, the TMP in the SB-CMBR increased faster than in SB-HMBR. Consequently, the membrane fouling rate (MFR) was greater in the conventional MBR (Table 18). The results indicate that the HRT reduction from 12 to 6 h and consequently increase in the OLR led to a higher MFR in both reactors. The increase in this parameter was more pronounced in SB-CMBR, where it raised 8 times (from 3.26 to 26.9 mbar d⁻¹). In SB-HMBR, only a 3-fold higher MFR was observed when the HRT was decreased (2.29 to 7.4 mbar d⁻¹). These findings suggest a greater fouling propensity in the conventional MBR. As observed for the MFR, the MFI values obtained in the filtration batch tests also increased as the HRT was reduced from 12 to 6 h, especially in SB-CMBR (Table 18).

Several studies have found that soluble microbial products (SMP) play an important role in the membrane fouling process (Meng et al., 2009; Drews 2010; Chen et al., 2017). As displayed in Table 18, the total SMP concentration was higher in SB-CMBR in all experimental runs. The sum of Protein, polysaccharides and transparent exopolymer (TEP) concentrations were found to be 42.1 and 65.5 mg L⁻¹ in SB-CMBR and 39.2 and 47.9 mg L⁻¹ in SB-HMBR, for HRT of 12 and 6 h, respectively. The higher membrane fouling rate observed in SB-CMBR is likely associated with the higher concentrations of SMP in this reactor. Among the total SMP, the TEP content showed the most pronounced increase (78% in SB-CMBR and 25% for SB-HMBR) after the HRT reduction.

Figure 41 - Transmembrane pressure (TMP) behaviour in SB-CMBR (a) and in SB-HMBR and the respective membrane fouling rate (MFR) in both reactors (c).



The use of TEP as fouling indicator in membrane bioreactors was initially investigated by de la Torre et al. (2008). The sticky nature of TEP enhances their capability to adhere to a surface, attracting suspended (planktonic) bacteria to form a biofilm matrix (Villacorte et al., 2009). Even though recent studies have reported the intensification of membrane biofouling by TEP, there is no consolidated knowledge regarding this aspect. Nevertheless, TEP is believed to induce membrane fouling by causing clogging and narrowing of membrane pores, or forming gel-like cake layers on membranes (Wu and Fane 2012).

Table 16 - Membrane fouling, mixed liquor filterability and sludge characteristics for each reactor in runs I and II.

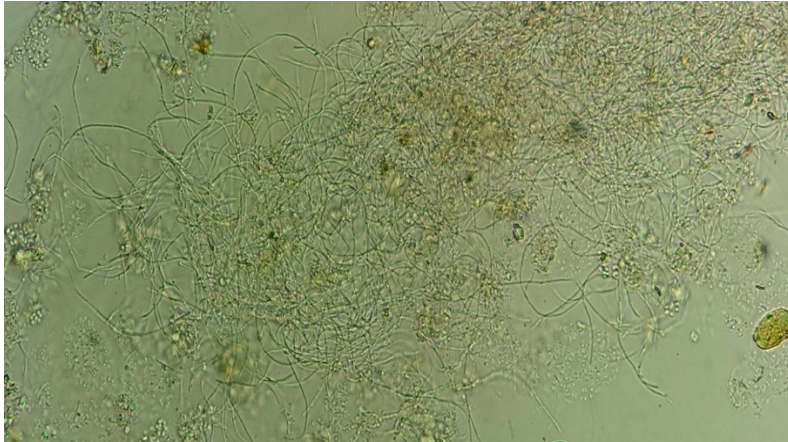
		SB-CMBR		SB-HMBR	
		Run I	Run II	Run I	Run II
Membrane fouling					
Membrane Fouling rate	mbar d ⁻¹	3.26	26.9	2.29	7.4
MFI	s mL ⁻²	0.69	3.7	0.61	1.63
MFI _{supernatant}	s mL ⁻²	0.05	0.34	0.04	0.06
Sludge characteristics					
Viscosity	cP	2.54	4.41	3.03	4.51
CST	s	42.1	81.1	42.0	87.1
MLSS	mgL ⁻¹	5007	7117	4911	7050
SNT	NTU	35.1	77.5	28.2	38.4
SMP					
TEP	mg L ⁻¹	21.4	38.1	19.5	24.5
Polysaccharides	mg L ⁻¹	5.1	8.6	5.2	6.6
Protein	mg L ⁻¹	15.6	18.8	14.5	16.8
Total SMP	mg L ⁻¹	42.1	65.5	39.2	47.9

MFI: membrane fouling index; MFI_{supernatant} : membrane fouling index using the supernatant of mixed liquor. CST: Capillary suction time; MLSS: mixed liquor suspended solids. SNT: supernatant turbidity values; SMP: soluble microorganism products. TEP: transparent exopolymer;

The other parameters commonly related to fouling propensity, such as viscosity, MLSS and capillary suction time (CST) showed similar values in both reactors in all experimental runs (Table 18). On the other hand, the supernatant turbidity (SNT) was found to be higher in SB-CMBR than in SB-HMBR. With the HRT reduction from 12 to 6 h, the average SNT increased 120% (from 35.1 to 77.5 NTU) in SB-CMBR and 36% (from 28.2 to 38.4 NTU) in SB-HMBR.

The higher increase in SNT in SB-CMBR may indicate that this reactor exhibited a greater amount of non-flocculating microorganisms. Such condition is usually reported to be harmful to the filtration process, leading to higher membrane fouling behaviour (Pan et al., 2010). Hence, the greater values for MFR and MFI in SB-CMBR may also be due to the greater amount of non-flocculating microorganisms, especially at HRT of 6 h, when the average SNT increased by 120%. Optical microscopy images (Fig. 41) revealed a great amount of filamentous bacteria in the SB-CMBR during the period at HRT of 6 h, which was not observed in SB-HMBR. The overgrowth of filamentous bacteria, which commonly leads to the well-known “bulking sludge”, typically hamper the *settleability* of sludge (Metcalf e Eddy 2003) and have been reported to cause a negative effect on mixed liquor filterability (Pan et al., 2011). Under sludge bulking conditions, a drastic increase in SMP content was noticed by Pan et al. (2011), as observed in this study, particularly during the operation SB-CMBR at HRT of 6 h. Therefore, it can be speculated that the filamentous outgrowth may have contributed to the higher membrane fouling rate, increased SMP content and deterioration of SNT in the conventional MBR. The causes for the filamentous overgrowth in the non-carrier-based conventional reactor need further investigation.

Figure 42 - Optical microscopy image of the mixed liquor suspended solids from SB-CMBR at HRT of 6 h.



4.2.4 Conclusions

In this study, a sequencing batch conventional (SB-CMBR) and a hybrid (SB-HMBR) membrane bioreactor, both fed with municipal wastewater and operated at different HRT (12 and 6 h), were compared in terms of COD and nutrient removal, microbial community and membrane fouling behavior. Both reactors systems exhibited high COD (>94%) and ammonium (>98%) removal performance, regardless of the HRT applied. Reduction of HRT from 12 to 6 h led to slightly better TP removal in the SB-CMBR (81.9 to 84.2%), whereas for the SB-HMBR an opposite trend was observed (TP removal dropped from 84.2 to 78.3%). Activity batch tests demonstrated that both suspended and attached biomass in the SB-HMBR exhibited a lower P-uptake activity during the period at shorter HRT. Concomitantly, a lower relative abundance of PAOs was found in both suspended and attached solids in the hybrid MBR, which were dominated by denitrifying microorganisms. As compared to the SB-CMBR, the hybrid system containing plastic media showed a lower fouling propensity at all hydraulic conditions tested, leading to better filterability conditions.

4.3 ARTIGO 3

O biorreator à membrana de leito móvel operado em batelada sequencial é uma combinação de tecnologias bastante recente, e por isso pouco explorada. Consequentemente, existem muitas incertezas quanto ao desempenho operacional desse tipo de reator. Nos Artigos 1 e 2 ficaram evidentes a boa eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes nos reatores sob altas condições de aeração. No entanto pouco se sabe sobre o desempenho desses sistemas em condições limitantes de oxigênio.

Considerando o maior potencial de remoção de nutrientes dos sistemas de biofilme atrelado à flexibilidade da operação em bateladas sequenciais, o BRMBS-LM surge como alternativa tecnológica para promover a nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo em um único reator simultaneamente. Apesar das vantagens relatadas, sabe-se que se a concentração de oxigênio não for controlada adequadamente durante a fase aeróbia o processo de nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS) pode não ocorrer, e consequentemente a remoção de nitrogênio poderá ser incompleta.

Nesse sentido, o Artigo 3³ teve por objetivo avaliar durante 145 dias o desempenho de um BRMBS-LM em termos de eficiência de remoção de matéria orgânica, nutrientes e comportamento de incrustação de membrana sob condições de alta (4 mg L^{-1}) e baixa ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$) concentração de OD na fase aeróbia. Para avaliar se o biofilme é benéfico para o desempenho global do tratamento do BRMBS-LM, um BRMBS foi operado em paralelo e sujeito às mesmas condições operacionais durante todo o período operacional. A operação dos reatores sob a condição de alta concentração de OD propiciou um bom desempenho na remoção de DQO, N-NH_4^+ e P-PO_4^{3-} em ambos os reatores, com eficiências médias acima de 95, 98% e 78%, respectivamente, enquanto a remoção de N_{total} foi menos efetiva, apresentando valor médio próximo a 70%. Com a redução na concentração de OD o desempenho na remoção de matéria orgânica de ambos os reatores permaneceu inalterada. Contudo, ambos os reatores exibiram um pior desempenho do processo de nitrificação e a eficiência

³ Artigo dará origem a seguinte publicação:

Costa R.E., Bassin J.P., Belli T, J., Lapolli F.R. Effect of dissolved oxygen concentration on the performance of a hybrid and conventional sequencing batch MBR systems treating municipal wastewater. A ser submetido.

média de remoção de amônia caiu para 68% e para 88% no reator convencional e de leito móvel, respectivamente. Os resultados sugerem que a adaptação dos organismos nitrificadores ao ambiente deficiente em oxigênio foi mais satisfatória no reator híbrido, permitindo maior eficiência de remoção de N-NH_4^+ . Além disso, a eliminação de nitrato melhorou no BRMBS-LM sob condições de baixa concentração de OD, o que permitiu um permeado com concentração média de N-NO_3 abaixo de 10 mg L^{-1} , enquanto que para o BRM convencional esse parâmetro permaneceu acima de 15 mg L^{-1} . Por outro lado, as baixas condições de OD resultaram em maior propensão a incrustação de membrana em ambos os reatores. Contudo, o BRMBS-LM foi o reator que apresentou menor taxa de incrustação na membrana em ambas as condições de OD testadas. No geral, os resultados sugerem que o reator de leito móvel exibiu uma maior capacidade de suportar as condições limitadas de oxigênio, evidenciando uma característica importante das configurações deste reator para fins de economia de energia.

Transcrição adaptada do Artigo 3:

4.3.1 Introduction

Nitrogen removal is of great concern in wastewater treatment. The discharged of municipal or industrial wastewater into aquatic systems leads to increase amount of nitrogen ammonia in the natural waters, which can resulting in several eutrophication problems (Kellogg et al., 2014). Hence, the reduction of nitrogen levels from discharges play an important role for environmental protection of receiving water bodies.

Biological removal of nitrogen compounds is generally accomplished in two steps: autotrophic nitrification under aerobic conditions and heterotrophic denitrification under anoxic conditions. In the nitrification step, the ammonia is converted into nitrite by ammonium-oxidizing bacteria (AOB) and then to nitrate by nitrite-oxidizing bacteria (NOB) (Leyva-Díaz et al., 2015). In denitrification step, nitrite and/or nitrate are reduced to gaseous nitrogen by heterotrophic denitrifiers bacteria. In conventional processes for biological nitrogen removal, these nitrifying and denitrifying bacterial activities occurs into separate tanks to provide the proper environment for each bacteria group. However, it is also known that simultaneous nitrification and denitrification (SND) can occur in a single aerobic tank

if the oxygen concentration is carefully controlled (Münch et al., 1996). Under these conditions, the SND take place as result of the oxygen concentration gradient created within microbial aggregates (flocs and/or biofilms), leading to development of anoxic microenvironments in its inner layers, where the denitrifying activity occur (Puznava et al., 2001). Hence, heterotrophic denitrifying bacteria could become dominant in the interior of biofilms, whereas nitrifying bacteria are active on the surface of biofilms (Ma et al., 2017).

The SND process have been receiving increasing attention of researchers due to its potential for simplifying the operating procedures, reducing the oxygen supplied and eliminating the need for separate tanks to promote N-removal (Pochana and Keller, 1999; Seifi and Fazaelpoor, 2012). A number of activated sludge-based systems have been proposed to be promising alternatives for SND process, such as sequencing batch reactor (SBR) (Guo et al., 2013), fixed bed sequencing batch reactor (Rahimi et al., 2011), moving bed biofilm reactor (MBBR) (Zinatizadeh and Ghaytooli, 2015) and sequencing batch moving bed bioreactor (SB-MBBR) (Cao et al., 2017). Among these, SB-MBBR has been receiving growing attention as technological alternative for achieving SND, once this reactor configuration combines the higher flexibility of SBR operating mode (Freitas et al., 2009) with the higher potential to nutrient removal of biofilm systems (Helness and ØDegaard, 1999). Moreover, sequencing batch reactors is also an interesting alternative to accomplish the biological phosphorus removal (Belli et al., 2017). This is because the SBRs can provide in its operational cycle the alternating anaerobic-aerobic conditions required for the growing of phosphate-accumulating organisms (PAOs), regarded as essential in the so-called enhanced biological phosphorus removal (EBPR) process. Thus, the SBR-MBBR appears as a promising technological alternative to promote the nitrification, denitrification and the EBPR process into a single reactor, without the need for sludge recirculation.

Despite the advantages reported, if the oxygen concentration is not proper controlled during the aerobic phase, the SND process may not occur, and consequently, the total nitrogen (TN) removal will be incomplete. Additionally, the remaining oxidized nitrogen species (nitrite and nitrate) of a given cycle will act as electron acceptors in the anaerobic phase of the subsequent cycle, inducing the consumption of organic carbon by denitrifying bacteria. So, the amount of COD available to PAOs decreases, which may hamper the EBPR process.

Therefore, to enable effective nitrogen and phosphorus removal in the SB-MBBR, is crucial ensure that denitrification take place within its aeration phase, via SND process. It was estimated that SND could reduce by 40% carbon source demand in denitrification process (Yoo et al., 1999). Consequently, the competition between heterotrophic denitrifies and PAOs in the anaerobic phase by organic carbon would be minimized, leading to an improvement of EBPR process performance.

As any biological wastewater treatment system, the quality of the SB-MBBR effluent depends on the settling properties of the biomass (suspended biomass and detached biofilm from the support media), which can be problematic under some conditions (e.g. when filamentous bulking occurs). Among the new technologies proposed for the improvement of solid-liquid separation in the settling phase, the membrane filtration has been attracted growing attention in the last years. Besides ensure a final effluent free of suspended solids, the use of membranes eliminates the need for a separate settling phase, since the effluent withdraw can take place during the aeration phase (Dong and Jiang, 2009; Melin et al., 2006).

The combination of membrane technology and SB-MBBR has been explored at first time by Yang et al. (2010), named a sequencing batch moving bed membrane bioreactor (SB-MBMBR). Since in this reactor configuration the suspended and attached biomass grow simultaneously, it can also called as sequencing batch hybrid membrane bioreactor (SB-HMBR). To the best of our knowledge, only Costa et al. (2017) have evaluating this reactor performance in a short-term study on nutrient removal from municipal wastewater. Hence, these SB-HMBR systems are relatively new, being scarce in the literature studies with this reactor configuration. Consequently, there are some uncertainties regarding the effect of specific operational parameter, as DO concentration within aerobic phase, on the SB-HMBR performance, which suggest the need for further research in this field. Thus, the aim of this study was to evaluated during 145 days the performance of SB-HMBR in terms of organic matter and nutrient removal efficiencies, biokinetic activity and membrane fouling behavior under two DO concentration conditions in the aerobic phase. To evaluate if the biofilm is beneficial for the overall treatment performance of SB-HMBR, a conventional sequencing batch membrane bioreactor (SB-CMBR) was operated in parallel and subject to the same operational conditions during all experimental period.

4.3.2 Material and Methods

4.3.2.1 Experimental setup and operation conditions

The experiment was carried out by using two lab-scale reactors working in parallel: a sequencing batch conventional membrane bioreactor (SB-CMBR) and a sequencing batch hybrid membrane bioreactor (SB-HMBR). In both reactors, an ultrafiltration membrane module of hollow fibres (ZW-10, Zenon) was used to carry out the solid liquid separation, submerged in an operating volume of 18.3 L. For the SB-HMBR, a piece of polyethylene screen was fitted exactly at the half height of the tank, dividing this reactor into two zones with same volume. On the upper part, 1960 cylindrical plastic carriers made of polypropylene and with specific surface area of $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (AMB BioMedia™) were introduced, resulting in a carrier filling ratio of 30% (taking into account the total volume of the reactor). Adding the polyethylene screen was carried out in order to avoid the accumulation of plastic carriers between the membrane fibers.

The hydraulic retention time (HRT) was kept at 6 h in the SB-HMBR and SB-CMBR systems, using a membrane filtration flux of $15.2 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Both reactors were operated in sequencing batch mode, with total operating cycle of 3 h divided into four phases: feeding (2 min), anoxic/anaerobic (58 min), aeration (75 min) and aeration/filtration (45 min). During the aeration/filtration phase, 9.15 L of effluent was withdrawn, leading to a volumetric exchange ratio (VER) of 50%. The solids retention time (SRT) applied in each reactor was maintained at 15 d by manually wasting sludge from SB-CMBR and SB-HMBR on a daily basis, at the end of the aeration phase. The design of the experimental setup and others operational conditions applied in both reactors were displayed in our previous study (Costa et al., 2017).

Membrane chemical cleaning (2% citric acid and 0.02% sodium hypochlorite for 2 h soaking, respectively) was conducted when the TMP reached about 70.0 kPa. Throughout the experimental period, the SB-CMBR and SB-HMBR were fed with real municipal wastewater. The average values of COD, TN and TP concentrations as well as the respective COD/N ratio in the raw wastewater are displayed on Table 19.

Table 17 - Wastewater characteristics in each experimental run.

	COD (mg L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N (mg L ⁻¹)	TN (mg L ⁻¹)	TP (mg L ⁻¹)	COD/N
Run I	589±38	49±3	65±10	6.1±1.2	9.06
Run II	593±152	47±9	60±12	6.3±1.5	9.88

The reactors were start-up using an inoculum sludge take from an activated sludge process installed at a municipal wastewater treatment plant. Subsequently, the SB-CMBR and SB-HMBR systems were initially subjected to acclimation period and for biofilm growth on the plastic media during 60 days (data not shown). After this period, the reactors were operated for another 145 days, divided into two experimental runs (I and II). Run I lasted 85 days, employing in both reactors the maximum dissolved oxygen in aerobic phase of 4 mg L⁻¹, whereas the run II lasted 60 days, using a maximum DO of 1.5 mg L⁻¹. To meet such DO conditions, the air flow rate was kept at 6.4 and 1.6 L min⁻¹ during runs I and II, respectively, implying in the corresponding values of specific aeration demand per membrane area (SAD_m) of 0.426 and 0.106 3.3 m³ m⁻² h⁻¹. Table 20 shows the operational conditions applied in each experimental run in SB-CMBR and SB-HMBR.

Table 18 – Operational conditions applied in each experimental run for both reactors

	Maximum DO (mg L ⁻¹)	Air flow rate (L min ⁻¹)	SAD _m (m ³ m ⁻² h ⁻¹)	VER (%)	HRT (h)	Time (d)
Run I	4	6.4	0.426	50	6	85
Run II	1.5	1.6	0.106	50	6	60

DO: dissolved oxygen; SAD_m: specific aeration demand per membrane area. VER: volumetric exchange ratio. HRT: Hydraulic retention time.

4.3.2.2 Experimental Procedures

The reactors performance were assessed based on COD, total nitrogen (TN), ammonium (NH₄⁺-N), and total phosphorus (TP) removal efficiency. For this purpose, the influent and effluent of a given cycle was collected for determination of the concentration of the several components. Furthermore, samples were also taken from the SB-CMBR and SB-HMBR mixed liquor at the end of the feed, anoxic/anaerobic and aerobic phases to evaluate the dynamics of the several parameters

over the operational cycle. On the last operating day of experimental run I and II, the mixed liquor from each reactor were sampled at defined time intervals during anoxic/anaerobic and aerobic phases to follow the P-release and P-uptake processes over an operating cycle.

4.3.2.3 Batch Experiments

- Oxygen uptake rate

The oxygen uptake rate (OUR) from autotrophic and heterotrophic biological activity was determined during respirometric batch experiments, in accordance to protocol described by Iversen et al. (2009). One litre of the reactors content was withdrawn and transferred to the respective respirometer vessel. From the hybrid reactor was also taken the plastic carriers, taking into account the same proportion employed in the SB-HMBR (i. e. 30%, v/v). The respirometer vessels containing the biomass samples were aerated overnight to obtain endogenous respiration conditions. In order to evaluate the autotrophic and heterotrophic respiration rates, the batch reactor tests was spiked with ammonium chloride (30 mg L^{-1}) and sodium acetate (200 mg L^{-1}), respectively. Temperature and pH and were controlled at $20 \text{ }^\circ\text{C}$ and 7.5, respectively. An optical oxygen-meter (YSI ProODO) was employed, with stored dissolved oxygen (DO) concentration every 5 seconds in dattaloger of DO probe. Endogenous and exogenous (autotrophic and heterotrophic) OURs were calculated by the slopes of DO consumption. The total amount of biomass (volatile attached + volatile suspended solids) was determined to asses the specific OURs (SOUR) values in the correspondent reactor batch test.

- Aerobic and anoxic phosphate uptake assessment

The anoxic and aerobic phosphate release and uptake potential were assessed by batch experiments using the methods reported by Wachtmeister et al. (1997). Particularly for SB-HMBR, the batch tests were conducted with and without the carriers to separately estimate the phosphate uptake rate (PUR) obtained either by the attached or by the suspended biomass. In both tests, the biomass was collected from the reactors immediately after the aerobic phase and transferred to the respective sealed vessels. Then, the vessels were kept in an anaerobic environment in the presence of sodium acetate (0.2 g L^{-1}) for 3.5 h to

promote phosphate release and PHA accumulation. To separately evaluating the aerobic and anoxic P-uptake activity, the corresponding vessels was then subject to aerobic ($7 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$) and anoxic ($20 \text{ mg NO}_3^- \text{-N L}^{-1}$) conditions during 3 h (Monclús et al., 2010). The phosphate uptake rates were estimated from linear regression of phosphate concentrations over time. The anoxic phosphate removal potential within the total (aerobic + anoxic) phosphate removal capability could then be obtained.

4.3.2.4 Analytical methods and calculation procedures

Chemical oxygen demand (COD), ammonium nitrogen (NH_4^+ -N), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), and orthophosphate (PO_4^{3-} -P) were analysed by spectrophotometry (Hach Lange, DR5000) using the Hach Methods 8000, 10031, 10072, 10127 and 8114, respectively, according to manufacturer's instructions.

Soluble microbial products (SMP) were determined as protein, polysaccharide and transparent exopolymer particles (TEP) content by spectrophotometric analysis. Protein was measured according to the method described by Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin as standard. Polysaccharides were measured using the phenol-sulphuric acid method, according DuBois et al. (1956). The determination of TEP concentration was made according to De La Torre et al. (2008) using xanthan gum as the standard solution. Total content of SMP was considered to be the sum of the protein, polysaccharide and TEP concentrations.

The attached biomass concentrations were determined after biofilm extraction from the carriers. For this purpose, five carriers were collected from SB-HMBR and transferred to a Falcon tube filled with 25 mL of distilled water. The tube was vigorously shaken for biofilm detachment. The solution containing the detached solids was used to estimate the attached biomass concentration within the SB-HMBR, according to Equation (Zhang et al., 2014):

$$X = (m * N)/V$$

Where X is the total adhered solids concentration present in the SB-HMBR (mg L^{-1}); m is the amount of the attached biomass in each carrier (mg TS per carrier); N is the number of suspended carriers in the reactor (1960 carriers) and V is the working volume of the reactor (18.3 L).

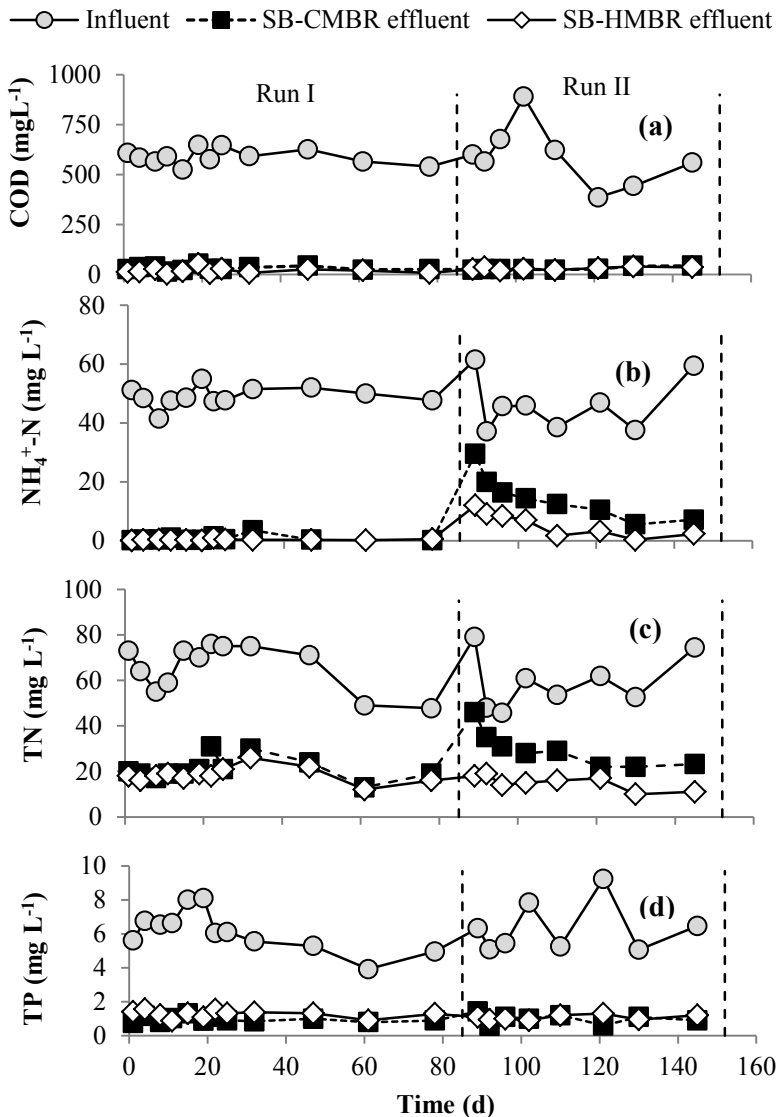
4.3.3 Results and discussion

4.3.3.1 Organic matter removal and biomass concentration

The influent and effluent COD concentrations are displayed in Fig. 42(a). The organic content in the effluent of both reactors practically are not affected by influent COD fluctuations (386 - 890 mg L⁻¹), remaining always below 50 mg L⁻¹ during the entire experimental period. Likewise, the reduction in the DO concentration from 4 mg L⁻¹ (run I) to 1.5 mg L⁻¹ (run II) did not adversely influence the organic removal performance of both reactors, since the average COD efficiency removal of SB-CMBR and SB-HMBR were kept at 95% and 97%, respectively, regardless the DO applied in the aerobic phase (Table 21).

As can be seen from Fig. 43, the contribution of the aerobic phase for the global COD removal was secondary in both reactors, being practically the entire biodegradable organic content removed within the anoxic/anaerobic phase. These results justify because the DO limitation imposed during run II do not impaired the reactors performance on organic matter removal. Such results represent an advantage over SBRs that do not include the anoxic/anaerobic phase in their operational cycle and which are subjected to oxygen-limited conditions during the aerobic phase. Ma et al. (2017) operating a sequencing batch biofilm reactor without an anoxic/anaerobic phase have found a decrease on COD removal performance from 90 to 85% when the DO was reduced from 2.5 to 0.35-1.0 mg L⁻¹. Hence, maximize the COD consumption within the anoxic/anaerobic phase, as observed in our study, seems to be important to ensure the high organic matter removal in SBRs subject to low dissolved oxygen concentration.

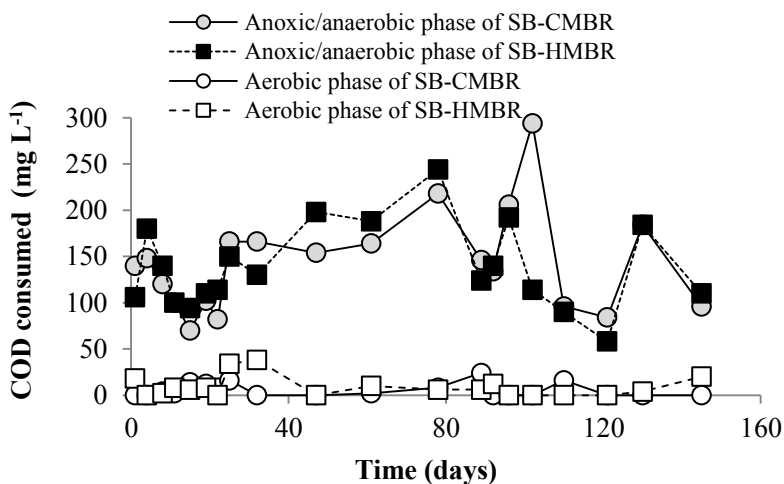
Figure 43 - (a) COD, (b) $\text{NH}_4^+\text{-N}$, (c) TN and (d) TP concentration in influent and effluent from each reactor over the experimental period.



Besides the COD removed by biodegradation, the retention of macromolecular COD components by the membrane filtration played an

important role for the total COD removal in both MBRs, mainly during the experimental run II. As the DO was reduced to 1.5 mg L^{-1} , the average residual soluble COD (sCOD) at the end of aerobic phase increased 24% (71 to 88 mg L^{-1}) in the conventional MBR and 33% (69 to 92 mg L^{-1}) in the hybrid MBR (Fig. 44). Consequently, the membranes experienced a mixed liquor with higher soluble organic content during the filtration process, resulting in rise of sCOD retained by the membrane in 45% (40 to 58 mg L^{-1}) for the SB-CMBR and 38% (45 to 62 mg L^{-1}) for the SB-HMBR. Obviously, such conditions led to a higher membrane fouling rate, as will be discussed further on.

Figure 44 - Anoxic/anaerobic and aerobic COD consumption of both reactors taking into account the available COD at the end of the respective feeding phases



Results from respirometric assays revealed that the aerobic heterotrophic activity declined sharply in both reactors during the experimental run II (Figure 45a-b). For the conventional MBR, the heterotrophic OUR was found to be decreased by 48% (213 to $110 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) and for the hybrid MBR the corresponding decrease was 73% (439 to $118 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Likewise, the specific OURs (SOUR) also decreased in the SB-CMBR (from 30.5 to $25.5 \text{ mgO}_2 \text{ gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$) and SB-HMBR (from 54.1 to $23.3 \text{ mgO}_2 \text{ gVSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$) as the DO concentration was reduced. Faust et al. (2014) also found similar

behavior in a comparative study between two lab-scale MBRs operated under DO concentration of 4 and 1 mg L⁻¹. These authors have observed an OUR value nearly two-fold lower in that MBR subjected to low DO concentrations.

The relationship between OUR and DO concentrations fits the Monod kinetic model, as previously reported by Fan et al. (2017). In the Monod function, the growth rate depends on the concentration of the limiting nutrient, which can be a carbon source, ammonium or other factors needed by the microorganisms for growth, such as the dissolved oxygen (Metcalf and Eddy, 2003). Thus, the lower heterotrophic biomass activity observed during run II can be attributed to oxygen-limiting conditions, since other parameters (e.g. COD, NH₄⁺-N, TP) were similar in the reactors influent over the both experimental runs (Table 19). Additionally, these lower microbial activities may explain the average value decreasing of MLVSS observed in both MBRs systems during the experimental run II (Figure 46). Although lower biomass concentrations can represent a reduction in the volumetric treatment capacity, from operational point of view, such condition can be attractive in activated sludge-based systems. Under lower MLVSS values, the KLa is usually higher (Krampe and Krauth, 2003), which leads to a higher efficiency of oxygen mass transfer and, consequently, less energy consumption.

Figure 45 - Average soluble COD at the end of aerobic phase, permeate and the respective COD retained by membrane filtration in each reactor during experimental run I and II.

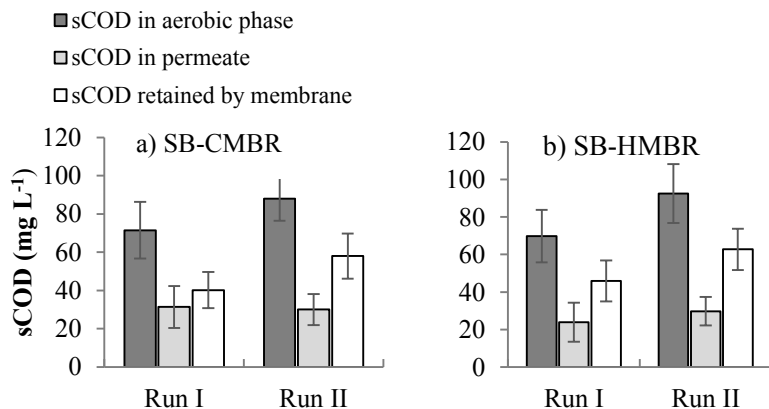
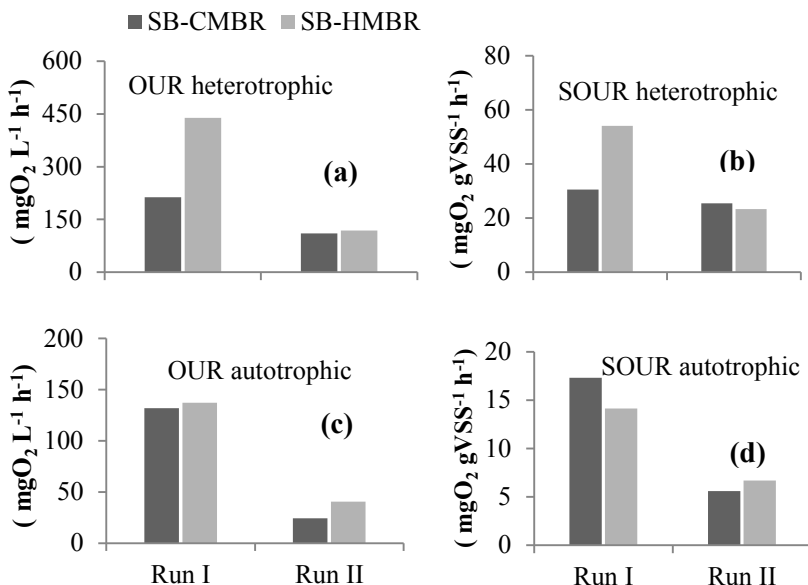


Figure 46 - Heterotrophic and autotrophic oxygen uptake rate (OUR) for each reactor in runs I and II.



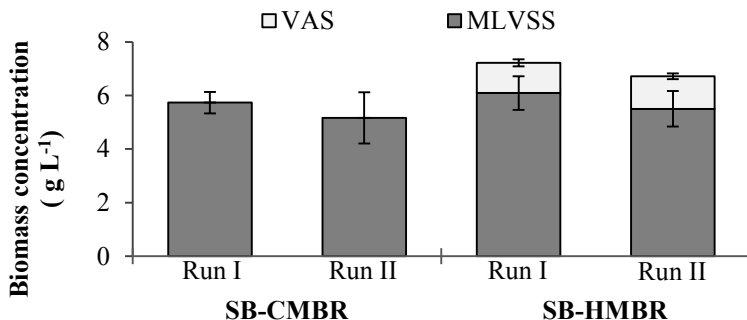
4.3.3.2 Nitrogen removal

Figure 42(b) shows effluent $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations of SB-CMBR and SB-CHBR under different DO conditions. During the period with high dissolved oxygen, very low ammonium concentrations were observed in the effluent from both MBRs systems (mostly $<1 \text{ mg L}^{-1}$), which enabled the high efficiency removal of 98 and 99% for the SB-CMBR and SB-HMBR, respectively (Table 21). On the other hand, after DO reducing to 1.5 mg L^{-1} (day 85 onwards), the reactors nitrification performance decreased immediately. The $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations in the effluent of SB-CMBR and SB-HMBR increased to about 30 and 12 mg L^{-1} , respectively (day 89). However, a gradual decreasing in the reactors effluent $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration were observed on the onward days, indicating a recovery of nitrification performance under low DO conditions. As result, the ammonium effluent concentration of SB-CMBR and SB-HMBR attained lower level, ranging from 5.6-10.5 and $0.3\text{-}3.3 \text{ mg L}^{-1}$ during the last 35 operational days, respectively. These results suggests that nitrifiers were gradually adapted to the oxygen-

deficient environment, becoming more resilient to the impact of low DO, as previously reported in other study which have evaluated the influence of DO level on nitrification process (Fan et al., 2017).

The results obtained in our study evidenced that this nitrifiers community adaptation under low DO condition was faster in the hybrid MBR, which enable an average $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal efficiency of 88%, considering the entire period of run II, whereas in the conventional MBR the removal efficiency achieved was 68% (Table 21). Therefore, the SB-HMBR have demonstrated higher ability to support the oxygen-limited conditions, achieving a complete nitrification in most cases during the final period of run II. These results indicates an important feature of the hybrid MBR for energy saving purposes without impair significantly the treatment performance.

Figure 47 - Average values of mixed liquor volatile suspend solids (MLVSS) in the SB-CMBR and SB-HMBR and volatile attached solids (VAS) in the SB-HMBR.



As can be seen from Figure 45c, the DO concentration reduction led to a substantial decrease of autotrophic OUR value in the SB-CMBR (131.9 to 24.2 $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$) and SB-HMBR (137.1 to 40.7 $\text{mgO}_2 \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$). These results demonstrate that nitrifiers exhibited a slower activity in both reactors at low DO condition, which could justify the lower ammonia removal efficiencies observed during the experimental run II (Fig 42b). Likewise, the specific OUR (SOUR) follow the same pattern, decreasing 68% in the conventional MBR (17.3 to 5.5 $\text{mgO}_2 \text{gVSS}^{-1} \text{h}^{-1}$) and 53% in the hybrid MBR (14.3 to 6.7 $\text{mgO}_2 \text{gVSS}^{-1} \text{h}^{-1}$). The SOURs values obtained suggest that the relative percentage of nitrifying bacteria within the overall bacterial community

decreased most accentually in the conventional than hybrid MBR as the DO was reduced to 1.5 mg L^{-1} . Such results may represent an operational advantage of SB-HMBR regarding nitrification when this reactor configuration is subjected to oxygen-limited conditions.

The TN concentration in the effluent of both reactors was similar during run I (Figure 42c), with an average value slightly lower in the SB-HMBR (18.5 mg L^{-1}) than in the SB-CMBR (21.1 mg L^{-1}) (Table 21). Once the nitrification was practically complete in both MBR systems under high DO conditions (ammonium removal $>98\%$), the effluent NO_3^- -N concentrations followed the same pattern observed for the TN, with an average concentration lower in the SB-HMBR (17.9 mg L^{-1}) regarding to SB-CMBR (19.7 mg L^{-1}). After DO reducing to 1.5 mg L^{-1} , the NO_3^- -N concentration in reactors effluent remained at a lower level, with average value of 16.6 and 9.1 mg L^{-1} for the SB-CMBR and SB-HMBR, respectively. These results indicate an enhanced of denitrifying activity as the DO was reduced, mainly in the hybrid MBR, which exhibited an decrease about 50% in effluent nitrate concentration, whereas for the conventional MBR the correspondent decrease was around 15% . Such results suggests that DO concentration of 1.5 mg L^{-1} exerted a less negative impact on nitrate-reductive activity in the hybrid MBR, attributing to this reactor configuration a more suitable condition for SND achievement under oxygen-limited conditions. Previous studies reported that when DO concentration was higher than 2.5 mg L^{-1} , the anoxic microenvironment of biofilm was destroyed rapidly due to DO penetration (Cao et al., 2017). These findings may justify the reason because the hybrid reactor exhibited a similar performance to conventional reactor on nitrate elimination under high DO conditions applied in run I.

Table 19 - NH_4^+ -N, TN, COD and TP effluent concentration of both reactors and its removal efficiencies.

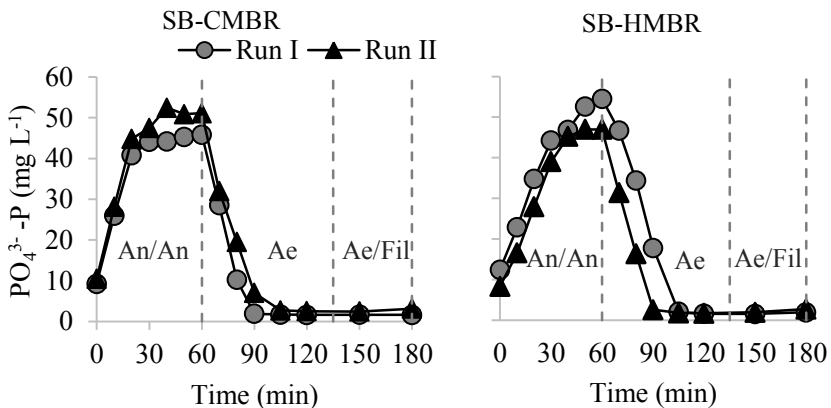
	SB-CMBR				SB-HMBR			
	Run I		Run II		Run I		Run II	
	Effluent (mg L^{-1})	Removal (%)	Effluent (mg L^{-1})	Removal (%)	Effluent (mg L^{-1})	Removal (%)	Effluent (mg L^{-1})	Removal (%)
COD	31.3±10.9	95±1.6	30.0±8.1	95±2.4	23.6±13.6	97±2.1	28.8±7.6	97±2.4
NH_4^+-N	0.9±1.1	98±2.1	14.5±7.7	68±11.2	0.35±0.24	99±0.5	5.4±3.9	88±8.9
NO_3^--N	19.7±3.4	--	16.6±6.3	--	17.9±3.3	--	9.1±4.5	--
TN	21.1±5.1	68±5.4	29.5±8.1	49±15	18.5±3.4	72±4.2	15.0±3.2	74±7.7
TP	0.9±0.2	84±4.5	1.0±0.4	83±7.9	1.4±0.2	78±4.7	1.1±0.4	82±8.5

4.3.3.3 Phosphorus removal

The profile of TP concentration in effluent of both reactors over time are depicted in Fig. 42d. For the two DO conditions experienced, the average TP effluent concentrations were less than 1.5 mg L^{-1} for both MBRs systems (Table 21), with average TP removal efficiencies above 75%. However, it was observed that the DO concentration reduction slightly improved the TP removal in the SB-HMBR (78 to 82%), whereas for the SB-CMBR the average efficiencies practically did not change (84-83%).

Results obtained from the cycle analysis (Figure 47) revealed that the volumetric phosphate uptake rates (PUR) showed a similar behavior as the DO concentration was reduced to 1.5 mg L^{-1} . For the SB-HMBR, the PUR was found to be increased 32% (from 69.9 to $91.7 \text{ mgP L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), whereas for SB-CMBR the corresponding increase was more subtly, close to 7% (106.7 to $114.5 \text{ mgP L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Such results suggest that the low DO condition led to a most prominent improvement of the EBPR process in the hybrid reactor. A possible reason to explain these results is the better nitrate removal achieved in the SB-HMBR during the run II, attributed to the SND process within the aerobic phase. As result, the nitrate transfer to the subsequent anaerobic phase was reduced, which is reported as beneficial to the EBPR process due to the lower competition by the organic carbon between denitrifiers and PAOs (Kuba et al., 1994). Consequently, the amount of COD available to PAOs increases, which could improve the biological phosphorus removal process (Mulkerriens et al., 2004). Therefore, the lower nitrate concentration observed in the SB-HMBR during run II may have ensured that the most of the incoming COD was used anaerobically by PAOs for the P-release process. As result, the hybrid MBR was able to exhibit a higher PUR increase under the low DO conditions.

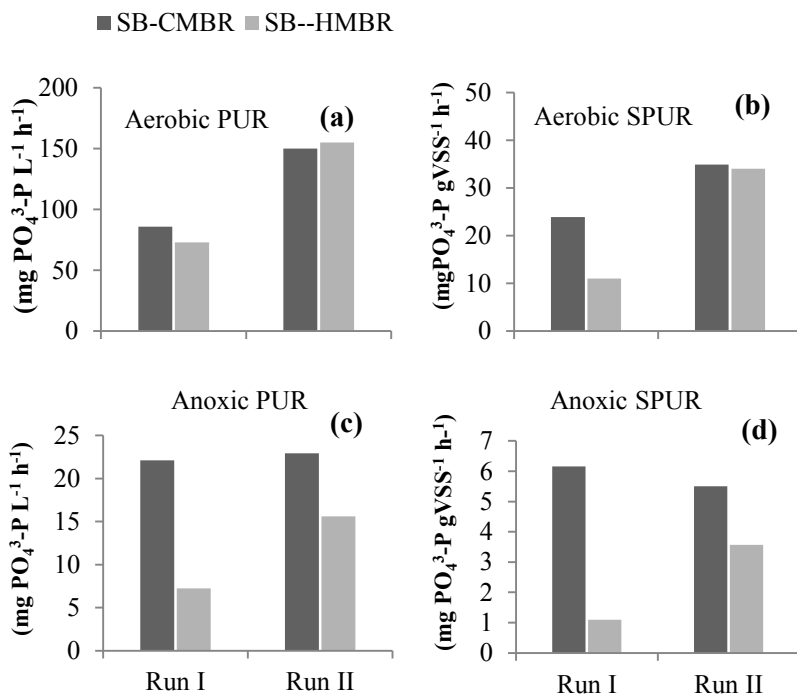
Figure 48 - $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ concentration profiles during an operating cycle in run I (day 65) and II (day 142). An/An: anoxic/anaerobic phase. Ae: aeration phase. Ae/Fil: aeration/filtration phase.



In order to better understanding the biological phosphorus removal process, batch tests were carried out to assess the maximum aerobic and anoxic P-uptake potential of each reactors in the different experimental runs. The results are showed in the Fig 48a-d. It is observed that the aerobic volumetric P-uptake rates had an expressive increase in the experimental run II (Fig. 49a), exhibiting thereby a similar trend as that observed in the reactors cycle analysis. For the SB-CMBR, the aerobic P-uptake potential increased 75% (85.9 to 150 $\text{mgP L}^{-1}\text{h}^{-1}$), whereas for the SB-HMBR the corresponding increase was 112% (72.9 to 155 $\text{mgP L}^{-1}\text{h}^{-1}$). Similarly, the aerobic specific P-uptake rate (SPUR) also increased substantially in both reactors during run II (Fig. 48b), attaining a SPUR rise of 46% (23.9 to 34.9 $\text{mgP gVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$) and 208% (11.05 to 34.07 $\text{mgP gVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$) in the SB-CMBR and SB-HMBR, respectively. On the other hand, the volumetric anoxic P-uptake potential was found to be increase only in the hybrid MBR (7.2 to 15.6 $\text{mgP L}^{-1}\text{h}^{-1}$), while in the conventional MBR it practically did not change (22.1 to 22.9 $\text{mgP L}^{-1}\text{h}^{-1}$) during run II (Fig. 48c). In Addition, it was noticed that the specific anoxic P-uptake have decreased in the SB-CMBR (6.16 to 5.5 $\text{mgP gVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$) under lower DO condition, while in the SB-HMBR the anoxic SPUR increased substantially (1.09 to 3.57 $\text{mgP gVSS}^{-1}\text{h}^{-1}$) (Fig. 48d). These results indicates that the lower DO concentration applied in run II had a positive impact in the aerobic P-uptake potential in both reactors, but only have enhanced the anoxic P-

uptake potential in the hybrid MBR. It can be speculated that an anoxic environment may have been most successfully established in the inner layers of the adhered biomass under low DO conditions, contributing to enhance anoxic P-uptake activity in the SB-HMBR as compared to the results obtained in run I.

Figure 49 - Phosphate uptake rate (PUR) and specific phosphate uptake rate (SPUR) under aerobic and anoxic condition for each reactor under high (run I) and low (run II) dissolved oxygen condition.



4.3.3.5 Membrane fouling behavior

The average membrane fouling rate (MFR) observed in both MBR systems in the experimental run I and II are illustrated in Fig. 49a. It is noticed that the MFR have increased in both reactors as the DO concentration was reduced. For the conventional MBR, the MFR rise was nearly two-fold (28.9 to 54.2 mbar d⁻¹), whereas for the hybrid MBR it increased around three times (7.4 to 22.3 mbar d⁻¹). Although the SB-HMBR had shown a greater relative increase of the MFR when

the DO concentration was reduced, the absolute MFR value still remained below that observed in the SB-CMBR. This results suggests that conventional MBR experienced a greater membrane fouling propensity compared with hybrid MBR, regardless the DO concentration. Chen et al. (2016) also observed a lower membrane fouling in a hybrid MBR compared to conventional MBR, which extended its membrane filtration operating time by 1.5 fold regarding to the conventional MBR.

A number of studies have found that soluble microbial products (SMP) strongly contribute to increase the membrane fouling propensity (Drews, 2010; Ly et al., 2018). Among the SMP compounds, some biopolymers are commonly reported as the major fouling-causing substances in MBRs, such as the polysaccharides, protein and, most recently, the transparent exopolymer particles (TEP) (De La Torre et al., 2008; Meng et al., 2017). As can be seen from Fig. 49b-d, the polysaccharides, protein and TEP concentrations were found to be greater in the conventional MBR in both DO conditions, similarly to MFR values. Thus, it can be inferred that the higher fouling propensity noticed in the SB-CMBR is likely associated with the higher concentrations of SMP in this reactor.

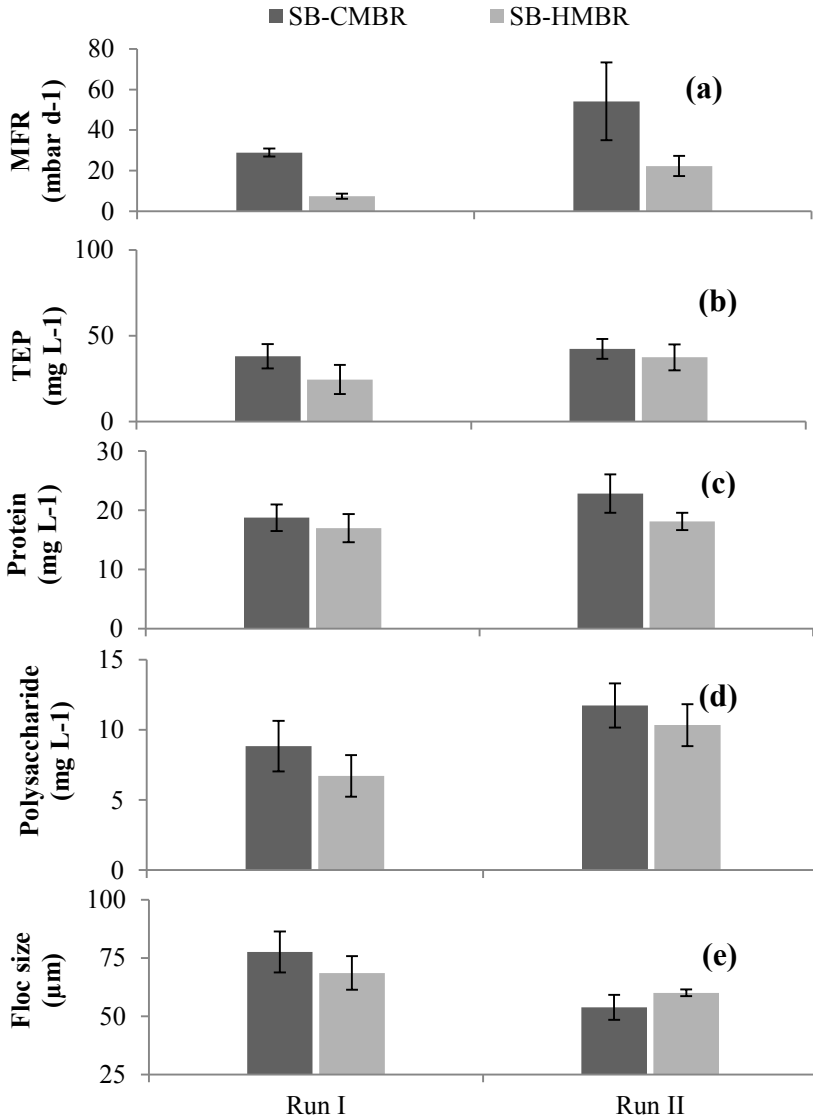
Interestingly, as the DO concentration was reduced, the polysaccharides concentration was the one with the highest relative increase among the SMPs evaluated in both reactors. For the SB-CMBR, the polysaccharides concentration increased 33% during run II, while for the SB-HMBR the corresponding increase was 54%. Due to its large-size nature and its gelling properties, polysaccharides are intensely associated with membrane fouling process (Meng et al., 2011). Notably, these results may contribute to explain the substantial increase in the MFR noticed during run II in both reactors.

Similarly, Faust et al. (2014) also have found a higher fouling propensity under low DO conditions. They observed that MBR operation at a DO of 1 mg L^{-1} resulted in a worse activated sludge bioflocculation than a DO of 4 mg L^{-1} and, consequently, in a most severe membrane fouling. Van den Broeck et al. (2010) also observed a worsened filtration characteristic during sludge deflocculation episodes. At low DO condition, the aerobic activity is reduced, leading to a slower production of extracellular polymeric substances (EPS) that are needed to accomplish bioflocculation (Wilén et al., 2000). As result, the sludge flocs may become smaller, increasing the membrane filtration resistance in MBRs systems by pore blocking (Park et al., 2015). In present study,

No clear relationship between DO concentration and sludge floc size could be found. However, the average floc size was found to decrease slightly in SB-CMBR (77.5 to 53.7 μm) and SB-HMBR (68.6 to 60.0 μm) as the DO concentration as reduced (Fig. 49e). Besides floc size reduction, the deflocculation process can also result in greater release and consequent solubilization of bound EPS to the bulk liquid phase, increasing thereby the SMP content. As a consequence of deflocculation, Zhang and Allen (2008) observed a 20-fold increase in soluble protein concentration in a activated sludge batch experiments conducted under low DO conditions. Hence, the high SMP concentrations experienced in both reactors during run II are likely related to the deflocculation process.

Another point which also should be considered to explain the higher membrane fouling is the lower airflow rate applied in both reactor during run II. The lower aeration condition led to a low shear stress on the membrane surface, given the reduced value of SAD_m experienced on run II (Table 20). This scenario may have conducted to a less effective removal of reversible fouling by air scouring, enabling a higher accumulation of biosolids on the membrane surface and, consequently, the higher MFR values. Nywening and Zhou (2009) have found that the membrane fouling rate increased exponentially with decreasing scouring aeration intensity. Overall, the membrane permeability usually increase as the SAD_m is raised (Judd, 2006). However, contradictory results have been reported elsewhere. Meng et al. (2008) observed that a high airflow rate have intensified the disintegration of sludge flocs, leading to the release of colloids and solutes from the microbial flocs to the bulk liquid phase, negatively affecting the membrane permeation. These results indicates that exist an optimal airflow rate, wherein the aeration intensity smaller or larger than this optimal value can increased the membrane fouling propensity. Besides, the identification of the ideal airflow rate have important implications for decreasing the energy consumption in the MBRs systems, indicating thereby the need of further investigations to found the suitable SAD_m value for each MBR.

Figure 50 - (a) Average values of membrane fouling rate (MFR), (b) transparent exopolymer (TEP), (c) protein (d) polysaccharide and (e) sludge floc size for each reactor at high (run I) and low (run II) dissolved oxygen conditions.



4.3.4 Conclusions

A hybrid moving bed MBR and a conventional MBR was operated in parallel under high (4 mg L^{-1}) and low (1.5 mg L^{-1}) DO conditions. The reactors' performance were examined in terms of organic and nutrient removal from real municipal wastewater, as well as membrane fouling process. Robust performance of COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and PO_4^{3-}P removal was obtained in both reactors at high DO conditions, with average efficiencies above 95, 98% and 78%, respectively, while the total nitrogen removal was less effective, showing average value around 70%. As the DO was reduced to 1.5 mg L^{-1} , both reactors exhibited a poorer nitrification process performance and the average ammonium removal efficiency dropped to 68% in conventional MBR and to 88% in the hybrid MBR, respectively. The results suggests that nitrifiers adaptation to the oxygen-deficient environment was more satisfactory in the hybrid reactor, enabling the higher $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal efficiency. In addition, the nitrate elimination improved significantly in the hybrid MBR under low DO conditions, which enabled an permeate with average $\text{NO}_3^-\text{-N}$ concentration below to 10 mg L^{-1} , while for the conventional MBR this parameter remained above of 15 mg L^{-1} . Results obtained from the activity batch tests revealed the anoxic and aerobic P-uptake potential increased expressively in the hybrid MBR, confirming the same trend observed in the reactor cycle analysis. On the other hand, the low DO conditions resulted in a higher membrane fouling propensity in both reactors. Besides, as compared to the SB-CMBR, the hybrid MBR showed a lower membrane fouling rate in both DO conditions tested. Overall, the results postulated suggests that SB-HMBR exhibited a greater ability to support the oxygen-limited conditions, evidencing an important feature of this reactor configurations for energy saving purposes.

4.4 SÍNTESE DOS RESULTADOS OBTIDOS

Em relação à remoção de nitrogênio:

No que se refere ao processo de nitrificação, verificou-se que embora o BRMBS e o BRMBS-LM demonstrassem eficiências de remoção de amônia similares, a velocidade de consumo específica desse nutriente (VCAE) foi maior no primeiro reator em praticamente todas as condições operacionais testadas, exceto na corrida II do Artigo 3, sugerindo que a biomassa do reator convencional fosse mais abundante em bactérias nitrificantes em relação ao reator de leito móvel.

Diferentemente do que se esperava a presença de biofilme nas biomídias durante o período de aclimação (Artigo I), não resultou em uma taxa de conversão de amônia adicional no BRMBS-LM. Isso pode ser atribuído a menor competitividade dos organismos nitrificadores autotróficos pelo oxigênio em relação aos heterotróficos comuns presentes nas biomídias. Além disso, acredita-se que a maior espessura do biofilme observada nos suportes durante o período experimental possa ter limitado a penetração do substrato no mesmo, impactando negativamente o processo de nitrificação.

Embora a redução no TDH de 12 para 6 h, apresentada no Artigo 2, tenha favorecido um processo de oxidação de amônia mais rápido no reator de leito móvel, constatou-se que a VCAE não seguiu o mesmo padrão, indicando novamente as limitações do biofilme em remover esse contaminante.

Constatou-se ainda que, a redução na concentração de OD na fase aeróbia do ciclo operacional dos reatores, abordada no Artigo 3 corrida II, propiciou a queda imediata no desempenho de nitrificação nos dois reatores. No entanto, uma diminuição gradual na concentração de amônia no efluente dos mesmos foi observada ao longo do tempo, indicando uma recuperação no desempenho da nitrificação e mostrando que a comunidade nitrificante foi gradualmente adaptada ao ambiente restrito em oxigênio, tornando-se mais resiliente aos seus impactos. Quando comparados, o BRMBS-LM foi o sistema no qual tal adaptação ocorreu de forma mais rápida, possibilitando uma eficiência média de remoção de amônia 20% maior em relação ao BRMBS, alcançando por vezes uma nitrificação completa no final do período experimental.

No que diz respeito ao processo de desnitrificação, verificou-se que a formação de microzonas anóxicas nas regiões internas do biofilme, presente nos suportes do BRMBS-LM, proporcionou um

melhor desempenho na remoção de nitrato nesse reator em relação BRMBS, em todas as condições operacionais testadas. Os resultados encontrados a partir da condição de baixa concentração de OD na etapa aeróbia dos reatores demonstram a sua incontestável eficácia quanto ao processo de desnitrificação, uma vez que o reator de leito móvel exibiu uma diminuição de aproximadamente 50% na concentração de nitrato no efluente. Tais resultados sugerem que a concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de OD exerceu um impacto menos negativo sobre a atividade redutora de nitrato no BRMBS-LM, atribuindo a essa configuração de reator uma condição mais adequada para a obtenção da nitrificação e desnitrificação simultânea sob condições limitante de oxigênio.

Em relação à remoção de fósforo:

Os resultados da análise de ciclo, obtidos durante o período de partida dos reatores (Artigo 1), revelaram que a fração de biomassa aderida, foi capaz de conferir ao BRMBS-LM maior velocidade de absorção de fosfato durante a fase aeróbia. Contudo, esse processo era completado antes do término da fase de filtração em ambos os reatores, garantindo, assim a baixa e similar concentração de fósforo em seus efluentes.

Embora o BRMBS e o BRMBS-LM mostrassem desempenho de remoção de P total semelhantes, ensaios de bancada revelaram que o mecanismo com o qual essa remoção ocorria era diferente entre os reatores, devido principalmente ao processo de absorção anóxico de fósforo, que era distinto para a biomassa suspensa e aderida. Nesse sentido, destacam-se os resultados que indicam que o processo de P-Absorção específica anóxica relativo à P-Absorção geral (aeróbia + anóxica) foi de 42% para o BRMBS-LM e 23% para o BRMBS. Assim, pode-se constatar que houve o estabelecimento de um ambiente anóxico nas camadas internas do biofilme, que contribuiu para aumentar a atividade de P-Absorção anóxica no reator de leito móvel.

A redução do TDH, de 12 para 6 h (Artigo 2), por sua vez, levou a uma menor capacidade de absorção de fósforo para biomassa suspensa e aderida no BRMBS-LM, diferentemente do que era esperado, pois em condições de menor TDH, uma carga de substrato orgânico elevada é proporcionada ao sistema, a qual pode induzir os PAOs a armazenar mais PHA durante a fase anaeróbia e, conseqüentemente, absorver mais fosfato em condições aeróbias subseqüentes. Assim, uma taxa de absorção de fósforo maior poderia ser

obtida. Curiosamente, para o reator híbrido, este padrão não foi observado.

Acredita-se que essa situação esteja associada ao padrão de alimentação do reator, que favorecia o consumo de carbono orgânico biodegradável, em condições anaeróbias/anóxicas, pela biomassa aderida que estava dominada por bactérias heterotróficas, como os desnitrificadores comuns, que consomem a DQO com maior velocidade do que os PAOs. Dado esse cenário, um menor conteúdo orgânico estava disponível na próxima fase anaeróbia do BRMBS-LM, o que pode explicar os valores mais baixos de absorção de fósforo alcançados pela biomassa suspensa durante o TDH mais curto.

Por outro lado, a redução na concentração de OD na fase de aeração (Artigo 3), de 4 mg L^{-1} (corrida I) para $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ (corrida II), levou a uma melhoria proeminente do processo EBPR no reator de leito móvel, devido, provavelmente, a maior remoção de nitrato obtida nesse reator por meio da NDS. Como resultado, a sua transferência para a fase anaeróbia subsequentemente foi reduzida, o que é relatado como benéfico para o processo, devido a menor competição pelo carbono orgânico entre os organismos desnitrificantes e PAOs. Consequentemente, a quantidade de DQO disponível para os PAOs foi aumentada, o que poderia proporcionar uma melhora na remoção de fósforo.

Além disso, a aplicação de menor concentração de OD teve um impacto positivo no potencial de absorção de fósforo aeróbio em ambos os reatores, mas apenas aumentaram o potencial de absorção de fósforo anóxico no reator de leito móvel. Entende-se, portanto, que a condição de oxigênio limitante favoreceu ainda mais o desenvolvimento de um ambiente anóxico no biofilme aderido aos transportadores, contribuído para aumentar a atividade de absorção de fósforo anóxico no reator de leito móvel em comparação com os resultados obtidos sob maior abundância de oxigênio.

Em relação ao processo de colmatação das membranas:

Ao longo do período de aclimação (Artigo 1), constatou-se que a PTM aumentou mais rapidamente no BRMBS do que no BRMBS-LM. Consequentemente, a taxa de incrustação da membrana foi menor no segundo reator, correspondendo a apenas 38% do valor observado no primeiro. Além disso, o reator convencional exibiu valores mais altos para todos os parâmetros comumente relacionados à propensão à

incrustação, tais como tamanho do floco, CST, Turbidez do permeado e concentração de SMP total.

Com o aumento da carga orgânica aplicada nos BRMs, obtidas por meio da redução do TDH de 12 para 6 h (Artigo 2), grandes quantidades de partículas coloidais submicrônicas adentram ao sistema, provocando um aumento na taxa de incrustação das membranas nos dois reatores. No entanto, o aumento desse parâmetro foi mais pronunciado no reator convencional.

Outros parâmetros comumente relacionados com a propensão à incrustação como viscosidade, teor de sólidos e CST, mostraram valores semelhantes em ambos os reatores nas duas corridas (I e II) dessa etapa experimental. Por outro lado, a turbidez do sobrenadante foi expressivamente maior no BRMBS, indicando que esse exibiu uma maior quantidade de microrganismos não floculantes, situação essa confirmada por meio de imagens de microscopia óptica. Portanto, pode-se especular que o crescimento de bactérias filamentosas pode ter contribuído para a maior taxa de incrustação da membrana, aumento do conteúdo de SMP e deterioração da turbidez do sobrenadante no reator convencional. No entanto, as causas do crescimento excessivo de organismos filamentosos nesse reator precisam de uma investigação mais aprofundada.

Além do aumento da carga orgânica provocada pela redução do TDH, verificou-se que a operação do sistema sob condições limitantes de oxigênio (Artigo 3, corrida II) também foi capaz de elevar consideravelmente a taxa de incrustação das membranas nos dois reatores. No entanto, o BRMBS foi aquele que apresentou maior propensão à incrustação independentemente da concentração de OD aplicada.

Dentre as causas apontadas como possíveis responsáveis pelo aumento na taxa de incrustação das membranas nos reatores durante a corrida II, destacam-se: (a) o processo de desfloculação, capaz de aumentar o teor de SMP no meio, bem como causar bloqueio de poros devido ao favorecimento de formação de flocos menores e; (b) a menor taxa de fluxo de ar aplicada nos reatores, que levou a uma baixa tensão de cisalhamento na superfície das membranas, conduzindo a uma remoção menos efetiva de incrustações reversíveis por lavagem com ar.

Em relação à configuração e operação dos reatores:

Entende-se que a operação do BRM e do BRM-LM na forma de batelada sequencial foi capaz de condicionar o desenvolvimento dos processos de nitrificação, desnitrificação, liberação e absorção de fosfato, em um único tanque, mediante alternância de fases.

Ao contrário do que ocorre em MBRs contínuos, a operação em batelada sequencial pode ter favorecido a obtenção de menores taxas de incrustação nas membranas dos reatores, devido a minimização da adesão de substâncias na superfície da mesma, especialmente durante a fase aeróbia, quando o processo de filtração é interrompido enquanto as forças de cisalhamento na superfície da membrana são mantidas. Além disso, esse tipo de operação pode ter beneficiado ainda o desenvolvimento de um biofilme mais espesso no BRMBS-LM, em decorrência da submissão do sistema a um período anóxico/anaeróbio antes do estágio de aeração, expondo as biomédias a uma menor força de cisalhamento e maior relação A/M.

Nesse contexto, destaca-se a importância da presença do biofilme aderido nos transportadores do BRMBS-LM, o qual foi capaz de proporcionar menores taxas de incrustação nesse reator em comparação com o reator convencional em todas as condições operacionais testadas. Ademais, a formação das microzonas anóxicas no interior de sua estrutura favoreceu também um melhor desempenho na remoção de nutrientes.

Dentre todas as condições operacionais testadas, constatou-se que a utilização de um BRMBS-LM com TDH de 6h e sob baixa concentração de OD na fase aeróbia, tal como descrito na corrida II do Artigo 3, foi a que apresentou maiores vantagens à remoção de nutrientes, pois pôde proporcionar condições mais favoráveis para a remoção de fósforo e a ocorrência da nitrificação e desnitrificação simultânea. Ademais, a maximização da P-Absorção anóxica, durante a fase aeróbia desse reator, tornou-se vantajosa à medida que nitrato e fosfato são removidos simultaneamente usando a mesma fonte de carbono, favorecendo a diminuição nos requisitos de aeração no sistema e, conseqüentemente promovendo menor gasto energético para a manutenção do mesmo. Embora o processo de nitrificação tenha sofrido um impacto negativo e, por tanto, tornou-se uma etapa limitante à remoção mais eficiente de nitrogênio, verificou-se uma diminuição gradual na concentração de amônia no efluente do BRMBS-LM ao longo do período operacional, indicando uma recuperação do

desempenho da nitrificação sob condições de baixa concentração de OD.

Apesar das muitas vantagens apresentadas, a taxa de incrustação das membranas foi mais severa nesse período em questão. Nesse sentido, uma possível alternativa para mitigar essa situação, seria manter o material suporte confinado no compartimento inferior do reator, onde o módulo de membrana está localizado, promovendo colisões entre ambos, o que poderia resultar em menor acúmulo de bio-sólidos na superfície da membrana.

5. CONCLUSÕES

As conclusões apresentadas a seguir foram baseadas nas hipóteses inicialmente levantadas, considerando os objetivos específicos da presente tese.

- *Primeira hipótese*

O estabelecimento da biomassa aderida no reator de leito móvel resultou em maior remoção de nitrogênio total ao final do seu período de partida, provavelmente associado a maior atividade desnitrificante na zona anóxica do biofilme. Ensaio de bancada sugerem que o biofilme mais espesso ao final da partida do BRMBS-LM possibilitou não apenas uma maior atividade desnitrificante clássica, mas também uma maior atividade desnitrificante vinculada a biodesfosfatação em seu interior. Destaca-se também que a operação do reator de leito móvel em batelada sequencial foi decisiva para o crescimento robusto do biofilme sobre o material suporte, com espessura estimada de 1,5 mm no dia operacional 50. A baixa turbulência durante as fases anóxica/anaeróbia do seu ciclo operacional certamente tornaram a aderência dos microrganismos menos dificultosa, diferentemente do que se observa em BRMs de leito móvel operados em regime contínuo, em que o material suporte é constantemente exposto a alta turbulência da aeração necessária a minimização da colmatação das membranas.

- *Segunda hipótese*

A redução do TDH de 12 a 6 h levou a um melhor desempenho do processo de biodesfosfatação no BRMBS convencional, enquanto que para a BRMBS-LM observou-se uma tendência inversa, com uma queda de eficiência na remoção de fósforo. A partir dos resultados de sequenciamento genético, constatou-se que ambas as frações de biomassa foram dominadas por microrganismos desnitrificantes sob o regime de TDH de 6 h, o que poderia explicar a diminuição da absorção de fósforo no BRMBS-LM sob essas condições. Acredita-se que tal cenário tenha ocorrido em decorrência da forma de alimentação dos reatores, em que o esgoto percolava pela coluna de biomídia antes de entrar em contato com o licor misto desse reator. Nessas condições, o carbono orgânico rapidamente biodegradável era preferencialmente consumido pela biomassa aderida. Dado que a idade de lodo em reatores

baseados em biomassa fixa não é facilmente controlada e que, para permitir a remoção de fosfato através da biodesfosfatação, a idade do lodo deve ser baixa, entende-se que a junção desses fatores tenham conduzido ao decaimento do processo de biodesfosfatação, e ao mesmo tempo, levado a proliferação das desnitrificantes, menos exigentes quanto ao parâmetro idade de lodo e mais rápidas na assimilação do carbono orgânico.

- *Terceira hipótese*

A utilização de baixa concentração de oxigênio dissolvido durante a fase aeróbia estimou substancialmente a remoção de nitrato no BRMBS de leito móvel, ao passo que no BRMBS convencional tal aumento de remoção foi pouco significativo. Além disso, observou que a remoção de fósforo aumentou no BRMBS-LM a partir da redução da concentração de OD, enquanto que para o BRMBS convencional as eficiências médias de remoção deste nutriente praticamente não mudaram. Além disso, resultados obtidos a partir dos ensaios de bancada revelaram que o potencial anóxico e aeróbio de absorção de P aeróbio aumentaram de maneira mais expressiva no reator de leito móvel em comparação ao convencional.

6. RECOMENDAÇÕES

Tendo em vista os resultados observados na presente pesquisa, são sugeridas as seguintes recomendações para trabalhos futuros:

- Operar o BRM de leito móvel sem a divisória entre o compartimento do módulo de membranas e o compartimento das biomídias, avaliando se as colisões do material suporte contra a superfície das membranas traria algum prejuízo a sua integridade, bem como se tal configuração, de fato, minimizaria o seu processo de colmatção, tal como hipotetizado na discussão dos resultados.
- Avaliar a alimentação dos reatores pela parte inferior e de maneira distribuída ao longo de toda a fase anaeróbia, sobretudo no BRM de leito móvel, visando o favorecer o crescimento das bactérias responsáveis pela remoção de fósforo, em detrimento a outras heterotróficas comuns, como as desnitrificantes.
- Estudar o efeito da redução do oxigênio dissolvido nos reatores de maneira gradativa, permitindo assim uma adaptação dos microrganismos à nova condição operacional, sobretudo aqueles responsáveis pelo processo de nitrificação autotrófica aeróbia.
- Investigar alternativas capazes de minimizar o processo de colmatção das membranas na condição de baixa concentração de oxigênio dissolvido, dado o melhor desempenho da remoção de nutrientes nessa condição.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, W.R.; ESTRELA, A. B.; NIKITIN, D. I.; SMIT, J. VANCANNEYT, M. *Brevundimonas halotolerans* sp. nov., *Brevundimonas poindexterae* sp. nov. and *Brevundimonas staleyi* sp. nov., prosthecate bacteria from aquatic habitats. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v.60, p.1837–1843, 2010.

ÅHL, R.M.; LEIKNES, T.; ØDEGAARD, H. Tracking particle size distributions in a moving bed biofilm membrane reactor for treatment of municipal wastewater. **Water Science and Technology**, v. 53, p. 33 – 42. 2006.

AHMED, Z.; CHO, J.; LIM, B. R.; SONG, K. G.; AHN, K. H. Effects of sludge retention time on membrane fouling and microbial community structure in a membrane bioreactor. **Journal of Membrane Science**, v. 287, p. 211-218, 2007.

AL-MALACK, M. Performance of an immersed membrane bioreactor (IMBR). **Desalination**, v. 214, p.112-127, 2007

AMANN R.I.; BINDER B.J.; OLSON R.J.; CHISHOLM S.W.; DEVEREUX R.; STAHL D. A. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. **Applied Environmental Microbiology**, v. 56, p.1919-1925, 1990.

AMARAL, M. C. S. **Tratamento de efluente de branqueamento de polpa celulósica empregando sistema de microfiltração conjugado com biorreator com membrana**. 2009. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

ANDREOTTOLA, G.; FOLADORI, P.; RAGAZZI, M. AND TATANO, F. Experimental comparison between MBBR and activated sludge system for the treatment of municipal wastewater. **Water Science and Technology**, v. 4, p. 383-391,2000.

APHA, AWWWA, WPCF (1998). Standard method for the examination of water and wastewater, 20th Edition, Washington DC.

APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21ed., Washington, 2005.

ARORA, M.; BARTH, E. F.; UMPHRES, M. B. Technology evaluation of sequencing batch reactors. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 57(8), p.867–875, 1985.

ARTAN, N.; ORHON, D. **Mechanism and design of sequencing batch reactors for nutrient removal**. Scientific and Technical Report Series, 19. London: IWA Publishing, 2005.

ARTAN, N.; WILDERER, P.; ORHON, D.; MORGENROTH, E.; ÖZGÜR, N. The Mechanism and Design of Sequencing Batch Reactor Systems for Nutrient Removal – the State of the Art. **Water Science and technology**, v. 43, p, 53-60, 2001.

AYGUN, A.; NAS, B.; BERKTAY, A. Influence of high organic loading rates on COD removal and sludge production in moving bed biofilm reactor. **Environmental Engineering Science**, v. 25, p. 1311–1316, 2008.

BARWAL, A.; CHAUDHARY, R. To study the performance of biocarriers in moving bed biofilm reactor (MBBR) technology and kinetics of biofilm for retrofitting the existing aerobic treatment systems: a review. Reviews in **Environmental Science and Bio/Technology**, v. 13, p. 285–299, 2014.

BASSIN, J.P.; DIAS, I.N.; CAO, S.M.S.; SENRA, E.; LARANJEIRA, Y.; DEZOTTI, M. (2016). Effect of increasing organic loading rates on the performance of moving-bed biofilm reactors filled with different support media: Assessing the activity of suspended and attached biomass fractions. *Process Safety and Environmental Protection* 100: 131– 141.

BASSIN, J. P.; WINKLER, M. K.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Improved phosphate removal by selective sludge discharge in aerobic granular sludge reactors.

Biotechnology and Bioengineering Journal, v.109 (8), p.1919–1928, 2012.

BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Simultaneous nitrogen and phosphate removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. **Water Research**, v. 46, p.3805–3816, 2012.

BASSIN, J.P. 2011. Novos processos de remoção de nitrogênio. In: DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR, G.L.; BASSIN, J.P. (Org.) Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana, Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BASSIN, J.P.; DEZOTTI, M. 2011. Reator de leito móvel com biofilme. In: DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR, G.L.; BASSIN, J.P (Org.) Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana. Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BACCHINA, P.; AIMARA, P.; FIELD, R.W. Critical and sustainable fluxes: Theory, experiments and applications. **Journal of Membrane Science**, v.15, p.42-69, 2006.

BAILY, J. E; OLLIS, D. F. Bioch. Eng. New York: MCGraw Hill, cap 8. 1986.

BELLI, T. J.; BERNARDELLI, J. K. B.; DA COSTA, R.E.; BASSIN, J.P.; AMARAL, M. C. S.; LAPOLLI, F.R. 2017. Effect of solids retention time on nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater in a sequencing batch membrane bioreactor. **Environmental Technology**, v. 38,p. 806–815, 2017.

BELLI, T. J.; BERNARDELLI, J. K. B.; BASSIN, J. P, COSTA, R. E.; AMARAL, M. C. S.; LAPOLLI, R. R. Effect of solids retention time on nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater in a sequencing batch membrane bioreactor. **Environmental Technology**, v. 38 (7), p.806-815, 2016.

BELLI, T. J. **Biorreator à membrana em batelada sequencial para a remoção de nutrientes de esgoto sanitário: desempenho do tratamento, colmatação das membranas e estratégias de otimização.** 2015. Teses (doutorado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

BELLI, T. J, BERNARDELLI, J. K. B, AMARAL, P. A. P, COSTA, R. E, AMARAL, M. C. S, LAPOLLI, F. R. Biological nutrient removal in a sequencing batch membrane bioreactor treating municipal wastewater. **Desalination Water Treatment**, v. 55 (6), p. 1654–1661, 2015.

BELLI, T. J. **Biorreator à membrana em batelada sequencial aplicado ao tratamento de esgoto visando a remoção de nitrogênio total.** Dissertação (mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

BERNADELLI, J. K. B. **Biodegradação de Estrona, 17 β -Estradiol E 17 α -Ethinilestradiolem sistemas aeróbios de tratamento.** 2014. Teses (doutorado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

BHATTA, C.P.; MATSUDA, A.; KAWASAKI, K.; OMORL, D. Minimization of sludge production and stable operational condition of a submerged membrane activated sludge process. **Water Science and Technology**, v.50, p.121, 2004.

BISWAS, K.; TAYLOR, M. W.; TURNER, S. J. Successional development of biofilms in moving bed biofilm reactor (MBBR) systems treating municipal wastewater. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 1429-1440, 2014.

BITTON, G. **Wastewater microbiology.** 3th edition. Gainesville, Florida: Wiley, 2005.

BLACKBURNE, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Demonstration of nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. **Water Research**, v. 42, p. 2166-2176, 2008.

BOERLAGE, S. F. E. et al. The MFI-UF as a water quality test and monitor. **Journal of Membrane Science**, v. 211, p.271–289, 2003.

BORKAR, R. P.; GULHANE, M. L.; E KOTANGALE, A. J. Moving Bed Biofilm Reactor – A New Perspective in Wastewater Treatment. **Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 6, p. 15–21, 2013.

BRYERS, J. D. 2000. Biofilms II, Process Analysis and Applications, Ecological and Applied Microbiology. Wiley-Liss.

BROWN, P; ONG, S. K; LEE, Y. L. Influence of anoxic and anaerobic hydraulic retention time on biological nitrogen and phosphorus removal in a membrane bioreactor. **Desalination**, v. 270, p. 227–232, 2011.

CAMPELLO, F. **Nitrificação e Pré-desnitrificação em sistema de tratamento de esgoto sanitário utilizando biorreator à membrana submersa visando reuso**. 2009. Dissertação (mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CANZIANI, R.; EMONDI, V.; GARAVAGLIA, M.; MALPEI, F.; PASINETTI, L.; BUTTIGLIERI, G. Effect of oxygen concentration on biological nitrification and microbial kinetics in a cross-flow membrane bioreactor (MBR) and moving-bed biofilm reactor (MBBR) treating old landfill leachate. **Journal of Membrane Science**, v. 286, p. 202-212, 2006.

CAO, Y.; ZHANG, C.; RONG, H.; ZHENG, G.; ZHAO, L. The effect of dissolved oxygen concentration (DO) on oxygen diffusion and bacterial community structure in moving bed sequencing batch reactor (MBSBR). **Water Research**. 108, 86–94, 2017.

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C.; WALTERS, W. A.; LYONS, D. B.; HUNTLEY, J.; FIERER, N.; OWENS, S. M.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, M.; GORMLEY, N.; GILBERT, J. A.; SMITH, G.; KNIGHT, R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, v. 6(8), p. 1621–1624, 2012.

CHANG, I.-S.; CLECH, P.L.; JEFFERSON, B.; JUDD, S. Membrane fouling in membrane bioreactors for wastewater treatment. **Journal of Environmental Engineering**, v.128, p.1018–1029, 2002.

CHANG, H. N.; MOON, R. K.; PARK, G.B.; LIM, S-J.; CHOI, D. W.; LEE, W. G.; SONG, S. L.; AHN, Y. H. Simulation of sequential batch reactor (SBR) operation for simultaneous removal of nitrogen and phosphorus. **Bioprocess Engineering**, v. 23, p. 513–521, 2000.

CHAUDHARY D.; VIGNESWARAN S.; NGO H. H., SHIM W.; MOON H. Biofilter in Water and Wastewater Treatment. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 20, p. 1054-1056, 2003.

CHEN, R. ; NIEC, Y.; HU, Y.; MIAO, R.; UTASHIRO, T.; LI, Q.; XU, M.; LI, Y. Y. Fouling behaviour of soluble microbial products and extracellular polymeric substances in a submerged anaerobic membrane bioreactor treating lowstrength wastewater at room temperature. . **Journal of Membrane Science**, v. 53, p.1–9, 2017.

CHEN, F.; XUEJUN, B.; HOW, YNG. Effects of bio-carriers on membrane fouling mitigation in moving bed membrane bioreactor. **Journal of Membrane Science**, v.499, p. 134–142, 2016.

CHEN, Y.; PENG, C.; WANG, J.; LIU, Y.; ZHANG, L.; PENG. Effect of nitrate recycling ratio on simultaneous biological nutrient removal in a novel anaerobic/anoxic/oxic (A²/O)-biological aerated filter (BAF) system. **Bioresource Technology**, v.102, p. 5722–5727, 2011.

CHEN, S.; SUN, D.; CHUNG, J. S. Simultaneous removal of COD and ammonium from landfill leachate using an anaerobic-aerobic moving-bed biofilm reactor system. **Waste Management**, v. 28, p. 339-346, 2008.

CHENG, K.C.; DEMIRCI, A, CATCHMARK J.M. Advances in biofilm reactors for production of value-added products. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, p. 445–456, 2010.

CLOETE, T. E.; STEYN, P. L. THE ROLE OF *ACINETOBACTER* AS A PHOSPHORUS REMOVING AGENT IN ACTIVATED SLUDGE, **Water Research**, v. 22(8), p. 971-976,1998.

Costa, R.E., Battistelli, A.A., Bernardelli, J.K.B., Bassin, J.P., Belli, T.J., Lapolli, F.R., 2017. Assessing the performance and microbial community of hybrid moving bed and conventional membrane bioreactors treating municipal wastewater. **Environmental Technology**, 0, p.1–14, 2017.

CYBIS, L. F. A.; SANTOS, A. V.; GEHLING, G. R. Eficiência do reator sequencial em batelada (RSB) na remoção de nitrogênio no tratamento de esgoto doméstico com DQO baixa. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, vol. 9, p. 260-264, 2004.

CYDZIK-KWIATKOWSKA, A.; ZIELIŃSKA, M. Bacterial communities in full-scale wastewater treatment systems. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.32 (4), p. 66, 2016.

DANESH, S.;_OLESZKIEWICZ, J. Use of a new anaerobic–aerobic sequencing batchreactor system to enhance biological phosphorus removal. **Water Science and Technology**, v. 35, p.137–144, 1997.

DAVIS, M. **Water and Wastewater Engineering**. 1296 p. Mc.Graw-Hill, 2010.

DE LA TORRE, T.; LESJEAN, B.; DREWS, A. E KRAUME, M. Monitoring of Transparent Exopolymer Particles (TEP) in a Membrane Bioreactor (MBR) and Correlation with other Fouling Indicators. **Water Science and Technology**, v.58 p.1903-1909, 2008.

DEL CASALE, A.; FLANAGAN, P. V.; LARKIN, M. J.; ALLEN, C. C. R.; KULAKOV, L. A. Analysis of transduction in wastewater bacterial populations by targeting the phage-derived 16S rRNA gene sequences. **FEMS microbiology ecology**, v.76, p.100–108, 2011.

DELGADO, S.; DÍAZ, F.; VILLARROEL, R.; VERA, L.; DÍAZ, R.; ELMALEH, S. Nitrification in a hollow-fibre membrane bioreactor. **Desalination**, v. 146, p. 445–449, 2002.

DELNAVAZ, M.; AYATI, B.; GANJIDOUST, H. Prediction of moving bed biofilm reactor (MBBR) performance for the treatment of aniline using artificial neural networks (ANN). **Journal of Hazardous Materials**, v.179, p. 769-77, 2010.

DENG, L.; GUO, W.; NGO, H. H.; ZHANG, X.; CHANG, X.; WANG, C.; ZHANG, Q.; CHEN, R. New functional biocarriers for enhancing the performance of a hybrid moving bed biofilm reactor–membrane bioreactor system. **Bioresource Technology**, p.208, p. 87–93, 2016.

DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR, G. L.; BASSIN, J. P. **Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana**. Editora Interciência. 1^a. ed. Rio de Janeiro. 2011.

DI TRAPANI, D.; DI BELLA, G.; MANNINA, G.; TORREGROSSA, M.; VIVIANI, G. Comparison between moving bed-membrane bioreactor (MB-MBR) and membrane bioreactor (MBR) systems: Influence of wastewater salinity variation. **Bioresource technology**, v. 162, p. 60–69, 2014.

DI TRAPANI, D., CHRISTENSSON, M., TORREGROSSA, M., VIVIANI, G., ØDEGAARD, H. Performance of a hybrid activated sludge/biofilm process for wastewater treatment in a cold climate region: influence of operating conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v.77, p.214–219, 2013.

DONG, B.; JIANG, S. Characteristics and behaviors of soluble microbial products in sequencing batch membrane bioreactors at various sludge retention times. **Desalination**, v. 243, p. 240–250, 2009.

DREWS, A. Membrane fouling in membrane bioreactors-Characterisation, contradictions, cause and cures. **Journal of Membrane Science**, v. 363, p. 1-28, 2010.

DUAN, L.; TIAN, Y.; LIU, X.; SONG, Y.; ZHANG, J. Comparison between moving bed-membrane bioreactor and conventional membrane bioreactor systems. Part II: bacterial community. **Environmental Earth Sciences**, v. 73, p. 4891–4902, 2015.

DUBOIS, M.; et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUPLA, M.; COMEAU Y.; PARENT, S.; VILLEMUR, R.; JOLICOEUR, M. Design optimization of a self-cleaning moving -bed bioreactor for seawater denitrification. **Water Research**, v. 40, p.249–258, 2006.

EPA. **Nutrient Control Design Manual**. United States Environmental Protection Agency (2010), 369 pages.

ERDAL, U.G.; ERDAL, Z. K.; RANDALL, C.W. The competition between PAO (phosphorus accumulating organisms) and GAO (glycogen accumulating organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance. **Water Science and Technology**, v. 47, n.11, p. 1-8, 2003.

ERSU, C. B.; ONG, S. K.; ARSLANKAYA, E.; LEE, Y. W. Impact of Solids Residence Time on Biological Nutrient Removal Performance of Membrane Bioreactor. **Water Research**, 44, 3192–3202, 2010.

FABREGAS, T. V. (2005). **Treatment : suitable operational conditions for a nutrient removal sbr technology for wastewater treatment** : PhD Thesis . Universidade de Girona, Girona, 2005.

FALÅS, P.; LONGRÉE, P.; LA COUR JANSEN, J.; SIEGRIST, H.; HOLLENDER, J.; e JOSS, A. Micropollutant removal by attached and suspended growth in a hybrid biofilm-activated sludge process. **Water Research**, v. 47, p. 4498–506, 2013.

FALLAH, N.; BONAKDARPOUR, B.; NASERNEJAD, B.; MOGHADAM, M. A. Long-term operation of submerged membrane bioreactor (MBR) for the treatment of synthetic wastewater containing styrene as volatile organic compound (VOC): Effect of hydraulic retention time (HRT). **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p.718–724, 2010.

FAUST, L.; TEMMINK, H.; ZWIJNENBURG, A.; KEMPERMAN, A.J.B.; RIJNAARTS, H.H.M. Effect of dissolved oxygen concentration on the bioflocculation process in high loaded MBRs. **Water Research**, v.66, p.199–207, 2014.

FAN, H.; QI, L.; LIU, G.; ZHANG, Y.; FAN, Q.; WANG, H. Aeration optimization through operation at low dissolved oxygen concentrations: Evaluation of oxygen mass transfer dynamics in different activated sludge systems. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v.55, p.224–235, 2017.

FANE, A. G.; CHANG, S.; CHARDON, E. Submerged hollow fibre membrane module-design options and operational considerations. **Desalination**, v. 146, p.231–236, 2002.

FERNANDES, H. **Estrutura da comunidade microbiana e sua influência no desempenho de reatores em bateladas sequenciais em escala real**. Tese (doutorado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

FERNÁNDEZ-GÓMEZ, B.; RICHTER, M.; SCHÜLER, M. ; PINHASSI, J.; ACINAS, S. G.; GONZÁLEZ, J. M.; PEDRÓS-ALIÓ, C. Ecology of marine Bacteroidetes: a comparative genomics approach. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, v. 7(5), p.1026–1037, 2013.

FINKMANN, W.; ALTENDORF, K.; STACKEBRANDT, E.; LIPSKI A. Characterization of N₂O-producing Xanthomonaslike isolates from biofilters as *Stenotrophomonas nitritireducens* sp. nov., *Luteimonas mephitis* gen. nov., sp. nov. and *Pseudoxanthomonas broegbernensis* gen. nov., sp. Nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 273–282, 2000.

FLEISCHER, E.J.; BRODERICK, T.A.; DAIGGER, G.T.; FONSECA, A.D.; HOLBROOK, R.D.; MURTHY, S.N. Evaluation of membrane bioreactor process capabilities to meet stringent effluent nutrient discharge requirements. **Water Environment Research**, v. 77 (2), p. 162e178, 2005.

FLEMMING, H.C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Review Microbiology**, v. 8, p. 623–633, 2010.

FREITAS, F.; TEMUDO, F. M.; CARVALHO, G.; OEHMEN, A.; REIS, M. A. M. Robustness of sludge enriched with short SBR cycles

for biological nutrient removal. **Bioresource Technology**, v.100, p.1969–1976, 2009,

FU, C.; YUE, X.; SHI, X.; NG, K. K.; NG, H.Y. Membrane Fouling between a Membrane Bioreactor and a Moving Bed Membrane Bioreactor: Effects of Solids Retention Time. **Chemical Engineering Journal**, v. 309, p. 397–408, 2017.

GALIL, N.I; MALACHI, K.B; SHEINDORF, C. Biological nutrient removal in membrane biological reactors. **Environmental Engineering Science**, v. 26, p. 817-824, 2009.

GALIL, N. I.; JACOB, L. Comparative Characterization of Biosolids from a Membrane Bioreactor and from a Sequencing Batch Reactor. **Environmental Engineering Science**, v. 26, 2009.

GERARDI, M. H. (2010). **Troubleshooting the Sequencing Batch Reactor**, 1st ed. Wiley publication, New York.

GIESEKE, A.; ARNZ, P.; AMANN, R.; SCHRAMM, A. Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: insights from reactor and microscale investigations. **Water Research**, v. 36, p.501–509, 2002.

GLIESCHE, C. G.; FESEFELDT, A.; HIRSCH, P. Genus *Hyphomicrobium* Stutzer and Hartleb 1898, 76AL. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Edited by J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig & J. G. Holt. Baltimore: Williams & Wilkins. 2005: 476–494.

GOLLA, P.S.; REDDY, M.P.; SIMMS, M.K.; LAKEN, T.J. Three years of full-scale captor process operation at Moundsville WWTP. **Water Science and Technology**, v.29, p. 175-181, 1994.

GRADY, C. P. L. JR.; DAIGGER, G. T.; LOVE, N. G.; FILIPE, C. D. M. (2011) **Biological Wastewater Treatment**, 3rd ed.; CRC Press: Boca Raton, Florida.

GUERRERO, J.; GUIASOLA, A.; BAEZA, J.A. The nature of the carbon source rules the competition between PAO and denitrifiers in

systems for simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal. **Water Research**, v. 45, p.4793–802, 2011.

GUO, W.; NGO, H. H.; DHARMAWAN, F.; PALMER, C.G. Roles of polyurethane foam in aerobic moving and fixed bed bioreactors. **Bioresource Technology**, v.101, p.1435–1439, 2010.

HABERT, A.C.; BORGES, C.P. E NÓBREGA, R. 2006. **Processos de separação com membranas. Escola piloto em engenharia química**, COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro - RJ.

HAIT, S and MAZUMDER, D. High-rate Wastewater Treatment by a Shaft-type Activated Sludge Reactor. **International Journal of Computational Economics and Econometrics**, v. 2(3), p.1–6, 2011.

HALL-STOODLEY, L.; STOODLEY, P. Developmental regulation of microbial biofilms. **Curr Opin Biotechnol.**, v. 13, p. 228-33, 2002.

HANAKI, K.; HONG, Z.; MATSUO, T. Production of nitrous oxide gas during denitrification of wastewater. **Water Science and Technology**., v. 26, p. 1027–1036, 1992.

HAO, R.; LI, S.; LI, J.; MENG, C. Denitrification of simulated municipal wastewater treatment plant effluent using a three-dimensional biofilm-electrode reactor: Operating performance and bacterial community. **Bioresource Technology** , v.143. p.178–186, 2013.

HASCOET, M. C.; FLORENTZ, M. Influence of nitrates on biological phosphorus removal from wastewater. *Water SA* 1985;11 (1): 1–8.

HE, Q.; SONG, Q.; ZHANG, S.; ZHANG, W.; WANG, H. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance, extracellular polymeric substances and microbial successions, **Chemical Engineering Journal**., v. 331, P. 841-849, 2018.

HE, Q.; GAO, S.; ZHANG, S.; ZHANG, W.; WANG, H. Chronic responses of aerobic granules to zinc oxide nanoparticles in a sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification,

denitrification and phosphorus removal. **Bioresource technology**, v. 238, p. 95–101, 2017.

HELNESS, H.; ØDEGAARD, H. Biological phosphorus and nitrogen removal in a sequencing batch moving bed biofilm reactor. **Water Science and Technology**, v, 43, p. 233-240, 2001.

HELNESS, H.; ØDEGAARD, H. Biological phosphorus removal in a sequencing batch moving bed biofilm reactor. **Water Science and Technology**, v.40, p.161–168, 1999.

HENZE, M.; GRADY, C.P.L.; GUJER, W.; MARAIS, G.V.R.; MATSUO, T. **Activated sludge Model No 1**. IAWPRC Scientific and Technical Reports No 1. London UK. 1987.

HOANG, V.; DELATOLLA, R.; ABUJAMEL, T.; MOTTAWEA, W.; GADBOIS, A.; LAFLAMME, E.; E STINTZI, A. Nitrifying moving bed biofilm reactor (MBBR) biofilm and biomass response to long term exposure to 1 °C. **Water Research**, v. 49, p. 215–24, 2014.

HOOSHYARI, B.; AZIMI, A.; MEHRDADI, N. Kinetic analysis of enhanced biological phosphorus removal in a hybrid integrated fixed film activated sludge process. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 6(1), p.149–158, 2009.

HU, M.; WANG, X.; WEN, X.; XIA, Y. Microbial community structures in different wastewater treatment plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis. **Bioresource Technology**, v.117, p.72–79, 2012.

IVANOVIC, I.; LEIKNES, T. O. The biofilm membrane bioreactor (BF-MBR) - a review. **Desalination and Water Treatment**, v.37, p. 288-295, 2012.

IVANOVIC, I.; LEIKNES, T. Membrane reactor design as a tool for better membrane performance in a biofilm MBR (BF-MBR). **Desalination and water treatment**, v. 25, p. 259–267, 2011.

- IVANOVIC, I.; LEIKNES, T. Impact of aeration rates on particle colloidal fraction in the biofilm membrane bioreactor (BF-MBR). **Desalination**, v. 231, p. 182-190, 2008a.
- IVANOVIC, I.; LEIKNES, T.; ØDEGAARD, H. Fouling control by reduction of submicron particles in a BF-MBR with an integrated flocculation zone in the membrane reactor. **Separation Science and Technology**, v. 43 (7), p.1871–1883, 2008b.
- IVERSEN, V.; KOSEOGLU, H.; YIGIT, N, O.; DREWS, A.; KITIS, M.; LESJEAN, B.; KRAUME, M. Impacts of membrane flux enhancers on activated sludge respiration and nutrient removal in MBRs. **Water Research**, v. 43, p.822–830, 2009.
- JABORNIG, S.; FAVERO, E. Single household greywater treatment with a moving bed biofilm membrane reactor (MBBMR). **Journal of Membrane Science**, v. 446, p.277–285, 2013.
- JENKINS, D.; RICHARD, M.G.; DAIGGER, G.T. **Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems**. (2003), 190 pages, 3rd edition, IWA Publishers.
- JIANG, X.; MA, M.; LI, J.; LU, A.; ZHONG, Z. Bacterial Diversity of Active Sludge in Wastewater Treatment Plant. **Frontiers of Earth Science**, v. 15 (6), 2008.
- JORDÃO, E. P.; PÊSSOA, C.A. Tratamento de esgotos domésticos. 4 ed. Rio de Janeiro: SEGRAC, 2005.
- JUAN, M. A.; YONGZHEN, P.; SHUYING, W.; LI, W.; YANG, L.; NINGPING, M. A. Denitrifying phosphorus removal in a step-feed CAST with alternating anoxic-oxic operational strategy. . **Journal of Membrane Science**, v. 21, p.1169–1174, 2009.
- JUDD, S. J., 2006. **The MBR Book: Principles and Applications of Membrane Bioreactors in Water and Wastewater Treatment**, First edit. ed. Elsevier Ltd.

KAEWSUK, J.; THORASAMPAN, W.; THANUTTAMAVONG, M.; SEO, G.T. Kinetic development and evaluation of membrane sequencing batch reactor (MSBR) with mixed cultures photosynthetic bacteria for dairy wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v.91, p.1161-1168, 2010.

KANG, I. J.; LEE, C.H.; KIM, K.J. et al. Characteristics of microfiltration membranes in a membrane coupled sequencing batch reactor system. **Water Research**, v. 37, p. 1192-1197, 2003.

KARAGULER, T.; KAHRAMAN, H.; TUTER, M. Analyzing effects of ELF Q1 electromagnetic fields on removing bacterial biofilm. **Biocybern Biomed Eng.**, v. 37, p. 336-340, 2017.

KARGI, F.; UYGUR, A. Effect of carbon source on biological nutrient removal in a sequencing batch reactor. **Bioresource technology**, v. 89, p. 89-93, 2003.

KEATING, C.; CHIN, J. P.; HUGHES, D.; MANESIOTIS, P.; CYSNEIROS, D.; MAHONY, T.; O'FLAHERTY, V. Biological Phosphorus Removal During High-Rate, Low-Temperature, Anaerobic Digestion of Wastewater. **Frontiers in Microbiology**, v.7, p.226, 2016.

KELLNER, R. L. **Biorreator à membrana de leito móvel em bateladas sequenciais para a remoção de nutrientes e matéria orgânica de efluentes sanitários**. 2014. Dissertação (mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

KELLOGG, M. L.; SMYTH, A. R.; LUCKENBACH, M. W.; CARMICHAEL, R.H.; BROWN, B.L.; CORNWELL, J.C.; PIEHLER, M.F.; OWENS, M.S.; DALRYMPLE, D.J.; HIGGINS, C.B. Use of oysters to mitigate eutrophication in coastal waters. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.151, p.156–168, 2014.

KERMANI, M.; BINA, B.; MOVAHEDIAN, H.; AMIN, M. M.; NIKAEIN, M. Application of Moving Bed Biofilm Process for Biological Organics and Nutrients Removal from Municipal Wastewater. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 4, p.682-689, 2008.

KHAN, S. J.; VISVANATHAN, C.; JEGATHEESAN, V. Effect of powdered activated carbon (PAC) and cationic polymer on biofouling mitigation in hybrid MBRs. **Bioresource Technology**, v.113, p. 165-168, 2012.

KIM, H.-S.; GELLNER, J. W.; BOLTZ, J. P.; FREUDENBERG, R. G.; GUNSCH, C. K. AND SCHULER, A. J. Effects of integrated fixed film activated sludge media on activated sludge settling in biological nutrient removal systems. **Water Research**, v. 44, p. 1553–61, 2010.

KIM, B. C.; KIM, S.; SHIN, T.; KIM, H.; SANG, B. I. Comparison of the Bacterial Communities in Anaerobic, Anoxic, and Oxidic Chambers of a Pilot A₂O Process Using Pyrosequencing Analysis. **Current Microbiology**, v. 66, p. 555–565, 2013.

KIM, D. J.; KIM, S. H. Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitrification reactor systems and their kinetic characteristics, **Water Research**, v. 40, p. 887–894, 2006.

KRAMPE, J.; KRAUTH, K.. Oxygen transfer into activated sludge with high MLSS concentrations. **Water Science and Technology**, v.47, p.297–303, 2003.

KRAMPE, J.; KRAUTH, K. Sequencing batch reactor with submerged hollow fibre membranes for the biomass separation. **Water Science and Technology**, v.4, p. 195–199, 2001.

KRAUME, M.; BRACKLOW, U.; VOCKS, M.; Drews A. Nutrients removal in MBRs for municipal wastewater treatment. **Water Science and Technology**, v. 51, p, 391, 2005.

KOO, C. H.; MOHAMMADA, A. W.; SUJA, F. Correlation between modified fouling index (MFI) and crossflow sampler-modified fouling index (CFS-MFI) under constant flux filtration. **Journal of Water Process Engineering**, v. 3, p.151–154, 2014.

KUBA, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by

integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system. **Water Research**, v.30, p.1702–1710, 1996.

KUBA, T.; WACHTMEISTER, A.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJNEN, J.J. Effect of nitrate on phosphorus release in biological phosphorus removal systems. **Water Science and Technology**, v. 30, p.263-269, 1994.

LARIYAH, M.S.; MOHIYADEN, H.A.; HAYDER, G.; HUSSEIN, A.; BASRI, H.; SABRI, A.F.; NOH, M. N. Application of Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) and Integrated Fixed Activated Sludge (IFAS) for Biological River Water Purification System: A Short Review. **Earth and Environmental Science**, v. 32, 2016.

LEE W. N, KANG I. J, LEE C. H. Factors affecting filtration characteristics in membrane coupled moving bed biofilm reactor. **Water Research**, v. 40, p. 1827–1835, 2006.

LEE, W.; KANG, S.; SHIN, H. Sludge characteristics and their contribution to microfiltration in submerged membrane bioreactors. **Journal of Membrane Science**, v. 216, p. 217– 227, 2003.

LEIKNES, T. O.; ØDEGAARD, H. The development of a biofilm membrane bioreactor. **Desalination**, v. 202, p. 135–143, 2007.

LEIKNES, T.; BOLT, H.; ENGMANN, M.; ØDEGAARD, H. Assessment of membrane reactor design in the performance of a hybrid biofilm membrane bioreactor (BF-MBR). **Desalination**, v.199, p.328–330, 2006.

LEIKNES, T.; ØDEGAARD, H. **The development of a biofilm membrane bioreactor**. Trondheim, Noriega: Norwegian University of Science and Technology, 2005.

LEIKNES, T. O.; ØDEGAARD, H. The development of a biofilm membrane bioreactor. **Desalination**, v. 202, p. 135-143, 2001.

LESJEAN, B. et al. Enhanced biological phosphorus removal process implemented in membrane bioreactors to improve phosphorous recovery and recycling. **Water Science and Technology**, v.48, p.87–94, 2003.

LEVSTEK, M.; PLAZL, I. Influence of carrier type on nitrification in the moving-bed biofilm process. **Water Science and Technology**, v. 59, p. 875–882, 2009.

LEYVA-DÍAZ, J. C.; MUNÍO, M.M.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J.; POYATOS, J. M. Anaerobic/anoxic/oxic configuration in hybrid moving bed biofilm reactor-membrane bioreactor for nutrient removal from municipal wastewater. **Ecological Engineering**, v.91, p. 449–458, 2016,

LEYVA-DÍAZ, L.C.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, A.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J.; MUÑO, M.M.; POYATOS, J.M. Kinetic modeling and microbiological study of two-step nitrification in a membrane bioreactor and hybrid moving bed biofilm reactor–membrane bioreactor for wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 259, p. 692–702, 2015.

LEYVA-DÍAZ, J. C.; MARTÍN-PASCUAL, J.; MUÑO, M.M.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J.; HONTORIA, E.; E POYATOS, J.M. Comparative kinetics of hybrid and pure moving bed reactor-membrane bioreactors. **Ecological Engineering**, v. 70, p. 227–234, 2014.

LEYVA-DIAZ, J.C.; CALDERON, K.; RODRIGUEZ, F.A.; GONZALEZ-LOPEZ, J.; HONTORIA, E.; POYATOS, J. M. Comparative kinetic study between moving bed biofilm reactor–membrane bioreactor and membrane bioreactor systems and their influence on organic matter and nutrients removal, **Biochemical Engineering Journal**, v. 77, p. 28–40, 2013.

LE-CLECH, P.; CHEN, V.; FANE, T.A.G., 2006. **Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment**. *J. Memb. Sci.* 284, 17–53.

LI, Y.; ZHANG, J.; CHEN, Q.; YANG, G.; CAI, S.; HE, J.; ZHOU, S.; LI, S. P. *Dokdonella kunshanensis* sp. nov., isolated from activated sludge, and emended description of the genus *Dokdonella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, p.1519–1523, 2013.

LI, W. W.; WANG, Y. K.; SHENG, G. P.; GUI, Y. X.; YU, L.; XIE, T. Q.; YU, H. Q. Integration of aerobic granular sludge and mesh filter membrane bioreactor for cost-effective wastewater treatment. **Bioresource technology**, n. 122, p. 22-26, 2012.

LI, X. Y.; YANG S. F. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. **Water Research**, v.41, p. 1022-1030, 2007.

LI, J.; XING, X.H.; WANG, B.Z. Characteristics of phosphorus removal from wastewater by biofilm sequencing batch reactor (SBR). **Biochemical-Engineering-Journal**, v. 16, p. 279-285, 2003.

LIANG, Z.; DAS, A.; BEERMAN, D.; HU, Z. Biomass characteristics of two types of submerged membrane bioreactors for nitrogen removal from wastewater. **Water Research**, v.44, p. 3313–3320, 2010.

LIAO, B.Q.; KRAEMER, J.T; BAGLEY, D.M. Anaerobic membrane bioreactors: applications and research directions. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 36, p.489-530, 2006.

LIM, A. L.; BAI, R. Membrane fouling and cleaning in microfiltration of activated sludge wastewater. **Journal of Membrane Science**, v.216, p.279–290, 2003.

LIU, Q.; WANG, X C.; YUAN, H.; DU, Y. Performance of a hybrid membrane bioreactor in municipal wastewater treatment. **Desalination Water Treatment**, v. 258, p. 143–147, 2010.

LIU, W.; QIU, R. L. Water eutrophication in China and the combating strategies. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 82, p. 781–786, 2007.

LIU, Q.; WANG, XC.; YUAN, H.; DU, Y. Performance of a hybrid membrane bioreactor in municipal wastewater treatment. **Desalination and Water Treatment**, v. 258, p.143–147, 2010.

LOPEZ, C.; PONS, M.N.; MORGENROTH, E. Evaluation of microscopic techniques (epifluorescence microscopy, CLSM, TPE-

LSM) as a basis for the quantitative image analysis of activated sludge. **Water Research**, v. 39, p.456-468, 2006.

LOPEZ-VAZQUEZ (2009). **The competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms: temperature effects and modeling**. PhD, Delft University of Technology. Delft, the Netherlands.

LOPEZ-VAZQUEZ, C. M.; SONG, Y. I.; HOOIJMANS, C. M.; BRDJANOVIC, D.; MOUSSA, M. S; GIJZEN, H. J; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Short-term temperature effects on the anaerobic metabolism of Glycogen Accumulating Organisms. **Biotechnology Bioengineering**, v. 97, p. 483-495, 2007.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.

LUO Y.; JIANG Q.; NGO HH.; NGHIEM LD.; HAI F.; PRICE WE.; WANG J.; GUO W. Evaluation of micropollutant removal and fouling reduction in a hybrid moving bed biofilm reactor–membrane bioreactor system. **Bioresource technology**, v. 191, p. 355–359, 2015.

LUO, Y.; GUO. W.; NGO, H.H.; NGHIEM, L. D.; HAI, F. I.; KANG, J.; XIA, S.; ZHANG, Z.; PRICE, W.E. Removal and fate of micropollutants in a sponge-based moving bed Bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 159, p.311–319, 2014.

LY, Q.V.; NGHIEM, L.D.; SIBAG, M.; MAQBOOL, T.; HUR, J. Effects of COD/N ratio on soluble microbial products in effluent from sequencing batch reactors and subsequent membrane fouling. **Water Research**, v. 134, p.13–21, 2018.

MA, W.; HAN, Y.; MA, W.; HAN, H.; ZHU, H.; XU, C.; LI, K.; WANG, D. Enhanced nitrogen removal from coal gasification wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) in an oxygen-limited aeration sequencing batch biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v.244, p.84–91, 2017.

MAESTRI, R. S. **Biorreator à membrana como alternativa para o tratamento de esgotos sanitários e reuso da água**. 2007. 101 p.

Dissertação. (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis , 2007.

MANNINA, G.; CAPODICCI, M.; COSENZA, A.; DI TRAPANI, D.; A. EKAMA, G. A . The effect of the solids and hydraulic retention time on moving bed membrane bioreactor performance. **Journal of Cleaner Production** , v.170, p.1305-1315, 2018.

MANNINA, G.; VIVIANI, G. Hybrid moving bed biofilm reactors: an effective solution for upgrading a large wastewater treatment plant. **Water Science & Technology**, v. p. 1103-1116, 2009.

MARNER, S.T.; SCHRÖTER, D.; JARDIN, N. Towards energy neutrality by optimising the activated sludge process of the WWTP Bochum-Ölbachtal. **Water Science & Technology**, v.73 (12), p. 3057–3063, 2016.

MARTÍN-PASCUAL, J.; REBOLEIRO-RIVAS, P.; LÓPEZ-LÓPEZ, C.; LEYVA-DÍAZ, J.C.; JOVER, M.; MUÑO, M.M.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J.; POYATOS, J. M. Effect of the Filling Ratio , MLSS , Hydraulic Retention Time , and Temperature on the Behavior of the Hybrid Biomass in a Hybrid Moving Bed Membrane Bioreactor Plant to Treat Urban Wastewater. *Journal of Environmental Engineering*, v. 141(7), 2015.

MARTÍN-PASCUAL, J.; REBOLEIRO-RIVAS, P.; LOPEZ-LOPEZ, C. GONZALEZ-LOPEZ, J.; HONTORIA, E.; POYATOS, J. M. Influence of hydraulic retention time on heterotrophic biomass in a wastewater moving bed membrane bioreactor treatment plant. *Int. J. Environmental Science & Technology*, v. 11:1449–1458, 2014.

MARTÍN-PASCUAL, J.; LÓPEZ-LÓPEZ, C.; CERDÁ, A.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J.; HONTORIA, E.; POYATOS, J. M. Comparative Kinetic Study of Carrier Type in a Moving Bed System Applied to Org Matter Removal in Urban Wastewater Treatment. **Water Air Soil Pollut.**, v. 223, p. 1699–1712, 2012.

McADAM, E.; JUDD, S.; GILDEMEISTER, R. Critical analysis of submerged membrane sequencing batch reactor operating conditions, **Water Research**, v. 39, n. 16, p. 4001-4019, 2005.

- MCQUARRIE, J.P.; BOLTZ, J.P. Moving Bed Biofilm Reactor Technology: Process Applications, Design, and Performance. **Water Environment Research**, v. 83, p. 560– 575, 2011.
- MELIN, T.; JEFFERSON, B.; BIXIO, D.; THOEYE, C.; WILDE, D.; KONING, J.; VAN DER GRAAF, J.; WINTGENS, T. Membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse. **Desalination**, v. 187, p. 271-282, 2006.
- MENG, F.; ZHANG, S.; OH, Y.; ZHOU, Z.; SHIN, H.S.; CHAE, S.R. 2017. Fouling in membrane bioreactors: An updated review. **Water Research**, v. 114, p.151–180, 2017.
- MENG, F.; ZHOU, Z.; NI, B.J.; ZHENG, X.; HUANG, G.; JIA, X.; LI, S.; XIONG, Y.; KRAUME, M. Characterization of the size-fractionated biomacromolecules: Tracking their role and fate in a membrane bioreactor. **Water Research**, v. 45, p.4661–4671, 2011.
- MENG, F. G.; CHAE, S. R.; DREW, A.; KRAUME, M; SHIN, H. S.; YANG, F. L. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): membrane fouling and membrane material. **Water Research**, v. 43, p. 1489–512, 2009.
- Meng, F., Yang, F., Shi, B., Zhang, H., 2008. A comprehensive study on membrane fouling in submerged membrane bioreactors operated under different aeration intensities. *Sep. Purif. Technol.* 59, 91–100.
- METCALF & EDDY. Inc. **Wastewater Engineering treatment Disposal Reuse**. 4. ed. New York, McGraw - Hill Book, 1815p. 2003.
- MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJNEN, J.J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. **Water Research**, v.32, p.3193–3207, 1998.
- MITTELMAN, M. W. Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2760–276, 1998.

MONCLÚS, H.; SIPMA, J.; FERRERO, G.; RODRIGUEZ-RODA, I.; COMAS, J. Biological nutrient removal in an MBR treating municipal wastewater with special focus on biological phosphorus removal, **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3984–3991, 2010.

MONTI, A.; HALL, E. R.; DAWSON, R. N.; HUSAIN, H.; KELLY, H. G. Comparative study of biological nutrient removal (BNR) processes with sedimentation and membrane-based separation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.94, p.740–752, 2006.

MULKERRINS, D.; DOBSON, A.D.W.; COLLERAN, E. Parameters affecting biological phosphate removal from wastewaters. **Environment International**, v.30, p.249–259, 2004.

MÜNCH, E. V.; LANT, P.; KELLER, J. 1996. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Research**, v.30, p.277–284, 1996.

NEIWPCC - New England interstate water pollution control commission. Sequencing batch reactor design and operational considerations. September 2005.

NICOLELLA, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, S. J. Particle based biofilm reactor technology. **Trends Biotechnol**, v. 18, p. 312–320, 2000.

NGUYEN, T.T.; NGO, H.H.; GUO, W.S.; JOHNSTON, A.; LISTOWSKI, A. Effects of sponge size and type on the performance of an up-flow sponge bioreactor in primary treated sewage effluent treatment. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 1416-1420, 2010.

NGO, H.-H.; GUO, W.; XING, W. Evaluation of novel sponge submerged membrane bioreactor (SSMBR) for sustainable water reclamation **Bioresource technology**, v. 99, p. 2429-2435, 2008.

NOGUEIRA, R.; MELO, L. F.; PURKHOLD, U.; WUERTZ, S.; WAGNER M. Nitrifying and heterotrophic population dynamics in biofilm reactors: effects of hydraulic retention time and the presence of organic carbon. **Water Research**, v.36, p.469-481, 2002.

NYWENING, J.P.; ZHOU, H. Influence of filtration conditions on membrane fouling and scouring aeration effectiveness in submerged membrane bioreactors to treat municipal wastewater. **Water Research**, v.43, p.3548–3558, 2009.

OCHOA, J.C.; et al. Active heterotrophic and autotrophic biomass distribution between fixed and suspended systems in a hybrid biological reactor. **Water Science & Technology**, v. 46, p. 397-404, 2002.

ØDEGAARD, H. Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process, **Water Science and Technology**, v. 53, p. 17–33, 2006.

ØDEGAARD, H.; GISVOLD, B.; STRICKLAND, J. The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. **Water Science and Technology**, v. 41, p. 383–391, 2000.

ØDEGAARD H, The moving bed biofilm reactor. In: Igarashi, T., Watanabe, Y., Asano, T., Tambo, N. (Eds.), *Water Environmental Engineering and Reuse of Water*. Hokkaido Press, Japan, 1999; 250–305.

ØDEGAARD, H.; RUSTEN, B.; SILJUDALE, J. The development of the moving bed biofilm process — from idea to commercial product. **European Water Management**, v. 2(3), p. 36–43, 1999.

OEHMEN, A.; et al. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. **Water Research**, v. 41, p. 2271–2300, 2007.

OEHMEN, A.; ZENG, R. J.; YUAN, Z. G.; KELLER, J. Anaerobic metabolism of propionate by polyphosphate-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v.91, p.43–53, 2005.

OKABE, S.; HIRATA, K.; OZAWA, Y.; WATANABE, Y. Spatial microbial distributions of nitrifiers and heterotrophs in mixed population biofilms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 50, p. 24-35, 1996.

OKUNUKI, S.; KAWAHARASAKI, M, TANAKA, H, KANAGAWA, T. Changes in phosphorus removing performance and bacterial community structure in an enhanced biological phosphorus removal reactor. **Water Research**, v. 38, p. 2.433-2.439, 2004.

OLIVEIRA, D.V.M.; RABELO, M.D.; NARIYOSHI, Y. N. Evaluation of a MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) Pilot Plant for Treatment of Pulp and Paper Mill Wastewater. **International Journal of Environmental Monitoring and Analysis**, v. 2, p. 220-225, 2014.

PAL, L.; KRAIGHER, B.; BRAJER-HUMAR, B.; LEVSTEK, M.; MANDIC-MULEC, I. Total bacterial and ammonia-oxidizer community structure in moving bed biofilm reactors treating municipal wastewater and inorganic synthetic wastewater. **Bioresource Technology** , v.110, p. 135–143, 2012.

PAN, J. R.; et al. Effect of sludge characteristics on membrane fouling in membrane bioreactors. **Journal of Membrane Science**, v. 349, p. 287–294, 2010.

PAN, W.; ZHIWEI, W.; ZHICHAO, W.U.; SUIHAI, M. A. I. Fouling behaviours of two membranes in a submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. . **Journal of Membrane Science**,. v. 382, p.60–69, 2011.

PARK, H.-D.; CHANG, I.-S.; LEE, K.-J. 2015. Principles of Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment. Taylor & Francis Group, New York.

PATEL, J.; NAKHLA, G.; MARGARITIS, A. Optimization of biological nutrient removal in a membrane bioreactor system. **Journal of Environmental Engineering**, v.131, p.131, 1021, 2005.

PEARCE, G. Introduction to membranes: An introduction to membrane bioreactors. **Filtration and Separation**, v.45, p. 32-35, 2008.

PELEGRIN, D. C. **Microfiltração tangencial de efluente sanitário após tratamento biológico** 131 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

PHATTARANAWIK, J.; LEIKNES, T.O. Double-deck aerated biofilm membrane bioreactor with sludge control for municipal wastewater treatment, **Journal American Institute of Chemical Engineers**, v. 55, p. 1291–1297, 2009.

POCHANA, K.; KELLER, J. Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND). **Water Science Technology**, v. 39, p. 61–68, 1999.

PROSSER, J. I. Autotrophic nitrification in bacteria. **Advances in Microbial Physiology**, v. 30, p.125–181, 1989.

PROVENZI, G. T. **Biorreator à membrana submersa para tratamento biológico de efluentes: estudos hidrodinâmicos e físico-químicos no controle da colmatção.** 170 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

PUZNAVA, N.; PAYRAUDEAU, M.; THORNBERG, D. Simultaneous nitrification and denitrification in biofilters with real-time aeration control. **Water Science Technology**, v. 43, p.269–276, 200.

QUAN, F.; YUXIAO, W.; TIANMIN, W.; HAO, Z.; LIBING, C.; CHONG, Z.; HONGZHANG, C.; XIUQIN, K; HUI, X. X. Effects of packing rates of cubic-shaped polyurethane foam carriers on the microbial community and the removal of organics and nitrogen in moving bed biofilm reactors. **Bioresource Technology**, v. 117, p.201-207, 2012.

RADJENOVIC, J.; MATOSIC, M.; MIJATOVIC, I.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Membrane Bioreactor (MBR) as an Advanced Wastewater Treatment Technology. **Environmental Chemistry**, v. 5, p. 37–101, 2008.

RAHIMI, Y.; TORABIAN, A.; MEHRDADI, N.; HABIBI-REZAEI, M.; PEZESHK, H.; NABI-BIDHENDI, G. R. Optimizing aeration rates for minimizing membrane fouling and its effect on sludge characteristics in a moving bed membrane bioreactor **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, p. 1097- 1102, 2011.

RAMALHO, R. S. **Introduction to Wastewater Treatment Process**, 2nd ed., Academic Press, London, 1991.

REBOLEIRO-RIVAS, P.; MARTÍN-PASCUAL, J.; JUÁREZ-JIMÉNEZ, B.; POYATOS, J. M.; VÍLCHEZ-VARGAS, R.; VLAEMINCK, S. E.; RODELAS, B.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. Nitrogen removal in a moving bed membrane bioreactor for municipal sewage treatment: Community differentiation in attached biofilm and suspended biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 277, p.209–218, 2015.

REBOLEIRO-RIVAS, R.; MARTÍN-PASCUAL, J.; JUÁREZ-JIMÉNEZ, B.; POYATOS, J. M.; HONTORIA, E.; RODELAS, B.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. Enzymatic activities in a moving bed membrane bioreactor for real urban wastewater treatment: Effect of operational conditions. **Ecological Engineering**, v. 61, p. 23-33, 2013.

REDDY, M. **Biological and chemical systems for nutrient removal: a special publication**. Alexandria: WEF, 1998, 399 p. ISBN 1-57278-123-8.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, L.; ESTEBAN-GARCÍA, A. L.; TEJERO, I. Comparison between a fixed bed hybrid membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor for municipal wastewater treatment: A pilot-scale study. **Bioresource Technology** v.152, p. 212–219, 2014.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, L.; GONZÁLEZ-VIAR, M.; DE FLORIO, L.; TEJERO, I. Hybrid membrane bioreactor application for decentralized treatment and reuse. **Desalination and Water Treatment** , v.51, p. 2467–2473, 2013.

ROSENBERGER, S.; KUBIN, K.; KRAUME, M. Rheology of Activated Sludge in Membrane Bioreactors. **Engineering in Life Sciences**, v. 2, p. 269–275, 2002.

RUSTEN, B.; EIKEBROKK, B.; ULGENES, Y.; LYGREN, E. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. **Aquacultural Engineering**, v. 34, p.322–331, 2006.

RUSTEN, B.; HELLSTROM, B.G. ; HELLSTROM, F.; SEHESTED, O.;SKJELFOSS, E.; SVENDSEN, B. Pilot testing and preliminary design of moving bed biofilm reactors for nitrogen removal at the FREVAR wastewater treatment plant. **Water Science and Technology**, v.41, p. 13–20, 2000.

RUSTEN, B.; KOLKINN, O.; ØDEGAARD, H. Moving bed biofilm reactors and chemical precipitation for high efficiency treatment of wastewater from small communities. **Water Science and Technology**, v.35, p. 1-79, 1997.

RYU, V. H.; PARK, M.; LEE, J. R.; YUN, P. Y.; JEON, C. O. *Brevundimonas aveniformis* sp. nov., a stalked species isolated from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.1561–1565, 2007.

SAHARIAH, B. P.; CHAKRABORTY, S. Effects of cycle time and fill time on the performance of an anaerobic-anoxic-aerobic-fed batch moving-bed reactor. **Journal Environmental Technology**. v, 34, p. 245-256, 2013.

SALVETTI, R.; AZZELLINO, A.; CANZIANI, R.; BONOMO, L.; Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors. **Water Research**, v. 40, p. 2981-2993, 2006.

SANDU, S. I.; BOARDMAN, G. D.; WATTEN, B. J.; BRAZIL, B. L. Factors influencing the nitrification efficiency of fluidized bed filter with a plastic bead medium. **Aquacultural Engineering**, v. 26, p. 41-59, 2002.

SCHEUMANN, R. Greywater. **Treatment with a Submerged Membrane Sequencing Batch Reactor**. 2010. Tese (Doutorado). Universidade Técnica de Berlin. 2010.

SCHRAMM, A.; DE BEER, D.; GIESEKE, A.; AMANN, R. Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm. **Environmental Microbiology**, v. 2: p. 680-686, 2000.

SCHIPPERS, J. C.; VERDOUW, J. The Modified Fouling Index, a method of determining the fouling characteristics of water, **Desalination**, v.32, p. 137–148, 1980.

SCHMIDELL, W. **Agitação e aeração em Biorreatores**. In: *Biotecnologia Industrial*, vol 2, 1 ed. São Paulo: EdgardBlücher, p. 277–331. 2001.

SEIFI, M.; FAZAEIPOOR, M.H. Modeling simultaneous nitrification and denitrification (SND) in a fluidized bed biofilm reactor. **Applied Mathematical Modelling**, v. 36, p.5603–5613, 2012.

SFENSE, H. D. **Phosphorus and Nitrogen Removal From Municipal Wastewater- Principles und Practice**, Second Edition, 254 p. 1991.

SHAHOT, K.; IDRIS, A.; OMAR, R.; YUSOFF, H. M. Review on Biofilm Processes for Wastewater Treatment. **Life Science Journal**, v. 11, p. 1-13, 2014.

SHIN, H. S.; KANG, S. T. Characteristics and fates of soluble microbial products in ceramic membrane bioreactor at various sludge retention times. **Water Research**, v.37, p. 121–127, 2003.

SINGH, N. K.; SINGH, J.; BHATIA, A.; KAZMI, A. A pilot-scale study on PVA gel beads based integrated fixed film activated sludge (IFAS) plant for municipal wastewater treatment. **Water Science & Technology**, v. 73.1, p. 113-123, 2016.

SHRESTHA, A. **Specific Moving Bed Biofilm Reactor in Nutrient Removal from Municipal Wastewater**. M.Sc. Thesis, University of Technology, Sydney, 2013.

SINIS- Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (2013). Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos 2013. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/PaginaCarrega.php?EWRErterterTERTer=105>.

SINGH, M.; SRIVASTAVA, R. K. Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review. **Asia Pacific Journal of chemical Engineering**, v. 6, p. 3-13, 2010.

SOMBATSOMPOP, K.; VISVANATHAN, C.; BEN AIM, R. Evaluation of biofouling phenomenon in suspended and attached growth membrane bioreactor systems. **Desalination**, v. 201, p.138–149, 2006.

SORIANO, M.; ERB, C.; GAREL, J. M.; AUDIC. A comparative pilot scale study of the performance of conventional activated sludge and membrane bioreactors under limiting operating conditions. **Water Environment**, v. 75, p. 225-23. 2003.

STEPHENSON, T., JUDD, S., JEFFERSON, B., AND BRINDLE, K. (2000). **Membrane bioreactors for wastewater treatment**. London: IWA Publishing.

SUN, F, Y.; LI, P.; LI, J.; DONG, Z, J. Hybrid biofilm-membrane bioreactor (Bf-MBR) for minimization of bulk liquid-phase organic substances and its positive effect on membrane permeability. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 772-780, 2015.

SUN, F. Y.; WANG, X. M.; LI, X. Y. An innovative membrane bioreactor (MBR) system for simultaneous nitrogen and phosphorus removal. **Process Biochemistry**, v. 48, p.1749–1756, 2013.

SUN, L.; OUYANG, X.; TANG, Y.; YANG, Y.; LUO, Y. Effects of different methods of DNA extraction for activated sludge on the subsequent analysis of bacterial community profiles, **Water Environment Research**, v. 84, p. 108–114, 2012.

SUN, C.; LEIKNES, T.; FREDRIKSEN, H. R.; RIVIERE, E. Comparison of membrane filtration performance between biofilm-MBR and activated sludge-MBR. **Desalination and Water Treatment**, v.48, p. 285–293, 2012.

SUN, F. Y.; WANG, X, M.; LI, X, Y. Visualisation and characterisation of biopolymer clusters in a submerged membrane bioreactor. **Journal of Membrane Science**, v. 325, p. 691–697, 2008.

SUSAN, H. Membrane Bioreactors: Global Markets (Report MST047C). BCC Research (2011).

TAO, G.; KEKRE, K.; WEI, Z.; LEE, T.C.; VISWANATH, B.; SEACH, H. Membrane bioreactors for water reclamation. **Water Science and Technology**, v.51, p. 431-440, 2005.

THANH, B. X.; VISVANATHAN, C.; BEN AIM, R. Fouling characterization and nitrogen removal in a batch granulation membrane bioreactor. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 85, p. 491-498, 2013.

THOMAS, F.; HEHEMANN, J. H.; REBUFFET, E.; CZJZEK, M.; MICHEL, G. Environmental and gut bacteroidetes: the food connection. **Frontiers in Microbiology**, v.2, p.93, 2011.

TU, Y.; SCHULER, A. J. Low Acetate Concentrations Favor Polyphosphate-Accumulating Organisms over Glycogen-Accumulating Organisms in Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewater, **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 3816-3824, 2013.

UJANG, Z.; SALIM, M. R.; KHOR, S. L. The effect of aeration and non-aeration time simultaneous organic, nitrogen and phosphorus removal using an intermittent aeration membrane bioreactor. **Water Science and Tecnologic**. v.46, p. 193-200, 2002.

VAN LOOSDRECHT, M. C. M., J. J. HEIJNEN, H. J. EBERL, J. U. KREFT AND C. PICIOREANU. Mathematical modelling of biofilm structures. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 81, p. 245-256, 2002.
VAN DEN BROECK, R.; VAN DIERDONCK, J.; CAERTS, B.; BISSON, I.; KREGERSMAN, B.; NIJSKENS, P.; DOTREMONT, C.; VAN IMPE, J.F.; SMETS, I.Y. The impact of deflocculation-reflocculation on fouling in membrane bioreactors. **Separation and Purification Technology**, v.71, p.279-284, 2010.

VIGNESWARAN, S., SUNDARAVADIVEL, M. AND CHAUDHARY, D.S. (2009) **Water and Wastewater Treatment Technologies**, pp. 24-43, EOLSS Publications, Oxford, UK.

VILLACORTE, L. O.; KENNEDY, M.D.; AMY, G. L.; SCHIPPERS, J. C. The fate of Transparent Exopolymer Particles (TEP) in integrated membrane systems: Removal through pre-treatment processes and

deposition on reverse osmosis membranes. **Water Research**, v. 43, p. 5039–5052, 2009.

VISVANATHAN, C.; AIM, R. B.; PARAMESHWARAN, K. Membrane separation bioreactors for wastewater treatment. *Crit. Rev. Environmental Science & Technology*, v. 30, p. 1-48, 2000.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos – Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**, v.1. 3.ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade de Minas Gerais, 2005. 452 p.

VON SPERLING, M. **Lodos ativados**. 2a ed. ampliada. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), vol. 4, 2002.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2 ed. V. 1. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996a, 243 p.

WACHTMEISTER, A.; KUBA, T.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJNEN, J.J. A sludge characterization assay for aerobic and de nitrifying phosphorus removing sludge, **Water research**, v. 31, p. 471-478, 1997.

WAGNER, M.; LOY, A. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p. 218–227, 2002.

WAN, C.Y.; DE WEVER, H.; DIELS, L.; THOEYE, C.; LIANG, J. B.; HUANG, L.W. Biodiversity and population dynamics of microorganisms in a full-scale membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. **Water Research**, v.45, p.1129-1138, 2011.

WANG, Z.; YU, H.; MA, J.; ZHENG, X.; WU, Z. Recent advances in membrane bio-technologies for sludge reduction and treatment. **Biotechnology Advance**, v. 31, p. 1187–1199, 2013.

WANG, Y. K.; SHENG, G.P.; LI, W.W.; YU, H.Q. A pilot

investigation into membrane bioreactor using mesh filter for treating low-strength municipal wastewater. **Bioresource technology**, v. 122, p. 17–21, 2012a.

WANG, X. C.; HU, Y. S.; LIU, Q. Influence of activated sludge characteristics on membrane fouling in a hybrid membrane bioreactor. **Desalination and Water Treatment**, v. 42, p.3 0–36, 2012b.

WANG, Y.; QIAN, P. Y. Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. **PLoS ONE**, v.4(10), p.7401, 2009.

WANG, X. M.; LI, X. Y.; HUANG, X. Membrane fouling in a submerged membrane bioreactor (SMBR): Characterisation of the sludge cake and its high filtration resistance. **Separation and Purification Technology**, v. 52, p.439-445, 2007.

WANG, X. J.; XIA, S. Q. ; CHEN, L.; ZHAO, J. F.; RENAULT, N.J.; CHOVELON, J.M. Nutrients removal from municipal wastewater by chemical precipitation in a moving bed biofilm reactor. **Process biochemistry**, v. 41, p. 824–828, 2006.

WILÉN, B.M.; LUND N. J.; KEIDING, K.; NIELSEN, P.H. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.18, p.145–156, 2000.

WHANG, L. M.; PARK, J.K. Competition between polyphosphate- and glycogen- accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems: effect of temperature and sludge age. **Water Environment Research**, v. 74, p. 4-11, 2006.

WILDERER, P. A.; IRVINE, E. R. L.; GORONSZY, M. C. (2001) Sequencing batch reactor technology, IWA Scientific and Technical Report N. 10, London.

WOLFE, R. L.; LIEU, N. I. 2002. Nitrifying bacteria in drinking water, In: Encyclopedia of Environmental Microbiology, Gabriel Bitton, editor-in-chief, pp. 2167–2176. Wiley- Interscience, N.Y.

WU, P.; JI, X.; SONG, X.; SHEN, Y. Nutrient removal performance and microbial community analysis of a combined ABR–MBR (CAMBR) process. **Chemical Engineering Journal**, v.232, p.273–279, 2013.

WU, B.; FANE A, G . Microbial Relevant Fouling in Membrane Bioreactors: Influencing Factors, Characterization, and Fouling Control. **Journal of Membrane Science**, v. 2, p.565–584, 2012.

WU, Q.; BISHOP, P. L.; KEENER, T.C. Biological phosphate uptake and release: effect of pH and magnesium ions. **Water Environment Research**, v. 78 (2), p.196–201, 2006.

XAVIER, J. B.; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J.S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. **Boletim de Biotecnologia**. n. 76, p. 2-13, 2003.

XING, W.; LI, D.; LI, J.; HU, Q.; DENG, S. Nitrate removal and microbial analysis by combined micro-electrolysis and autotrophic denitrification. **Bioresource Technology**, v.211, p. 240-247, 2016.

XU, S.; WU, D.; HU, Z. Impact of hydraulic retention time on organic and nutrient removal in a membrane coupled sequencing batch reactor. **Water research**, v. 55, p. 12-20, 2014.

YANG, W.; SYED, W.; ZHOU H. Comparative study on membrane fouling between membrane-coupled moving bed biofilm reactor and conventional membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. **Water Science and Technology**, v. 69, p. 1021-7, 2014.

YANG, Q.; HE, Q.; IBRAHIM, H. T. Review on Moving Bed Biofilm Processes. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 11, p.706-713, 2012a.

YANG, F.; WANG, Y.; BICK, A.; GILRON, J.; BRENNER, A.,; GILLERMAN, L.; HERZBERG, M.; ORON, G. Performance of different configurations of hybrid growth membrane bioreactor (HG-MBR) for treatment of mixed wastewater. **Desalination**, v. 284, p. 261–268, 2012b.

YANG, S.; YANG, F.; FU, Z.; WANG, T.; LEI, R. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal by a novel sequencing batch moving bed membrane bioreactor for wastewater treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, p. 551–7, 2010.

YANG, S.; YANG, F.; FU, Z.; LEI, R., Comparison between a moving bed membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor on organic carbon and nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v.100, p. 2369-2374, 2009.

YANG, Q.; CHEN, J.; ZHANG, F. Membrane fouling control in a submerged membrane bioreactor with porous, flexible suspended carriers. **Desalination**, v. 189, p. 292-302, 2006.

YIN, J.; ZHANG, P.; LI, F.; LI, G.; HAI, B. Simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal with a sequencing batch reactor–biofilm system. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, v. 103, p. 221–226, 2015.

YOON, J.H.; KANG, S.J.; OH, T. K. *Dokdonella koreensis* gen. nov., sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, p.145–150, 2006.

YOO, H.; AHN, K.-H.; LEE, H.-J.; LEE, K.-H.; KWAK, Y.-J.; SONG, K.-G. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. **Water Research**, v. 33, p.145–154, 1999.

YU, S.; SUN, P.; ZHENG, W.; CHEN, L.; ZHENG, X.; HAN, J.; YAN, T. The effect of COD loading on the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the recoverability. **Bioresource Technology**, v.171, p. 80–87, 2014.

ZHANG, S.; WANG, Y.; HE, W.; WU, M.; XING, M.; YANG, J.; GAO, N.; PAN, M. Impacts of temperature and nitrifying community on nitrification kinetics in a moving bed biofilm reactor treating polluted raw water, **Chemical Engineering Journal**, v.236, p.242– 250, 2014.

ZHANG, S.; WANG, Y.; HE, W.; WU, M.; XING, M.; YANG, J.; GAO, N.; YIN, D. Responses of biofilm characteristics to variations in temperature and NH₄⁽⁺⁾-N loading in a moving-bed biofilm reactor treating micro-polluted raw water. **Bioresource technology**, v. 131, p. 365–73, 2013.

ZHANG, L.; SUN, K.; HU, N. Degradation of organic matter from domestic wastewater with loofah sponge biofilm reactor. **Water Science & Technology**, v.65, p.190–195, 2012.

ZHANG, H. F.; SUN, B.; ZHAO, X.; GAO, Z. Effect of ferric chloride on fouling in membrane bioreactor. **Separation and Purification Technology**, v. 63,p.341–347, 2008.

ZHANG, Y., GRANT ALLEN, D. The effect of short-term dissolved oxygen transients on activated sludge. **Water Quality Research Journal of Canada**, v.43, p.201–210, 2008.

ZHANG, Z.; ZHU, J.; KING, J.; LI, W. A two-step fed SBR for treating swine manure. **Process Biochemistry, London**, v.41, p.892-900, 2006a.

ZHANG, H.M.; XIAO, J. N.; CHENG, Y. J.; LIU, F. L.; ZHANG, X. W.; YANG, F. L. Comparison between a sequencing batch membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41, p.87–95, 2006b.

ZHENG, X.; SUN, P.; HAN, J.; SONG, Y.; HU, Z.; FAN, H.; LV, S. Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) – A mini-review. **Process Biochemistry**, v. 49, p.2207–2213, 2014.

ZHU, S. M.; DENG, Y.; RUAN, Y.; GUO, X.; SHI, M.; SHEN, J. Biological denitrification using poly(butylene succinate) as carbon source and biofilm carrier for recirculating aquaculture system effluent treatment. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 603-610, 2015.

ZINATIZADEH, A.A.L.; GHAYTOOLI, E. 2015. Simultaneous nitrogen and carbon removal from wastewater at different operating conditions in a moving bed biofilm reactor (MBBR): Process modeling and optimization. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v, 53, p. 98–111, 2015.

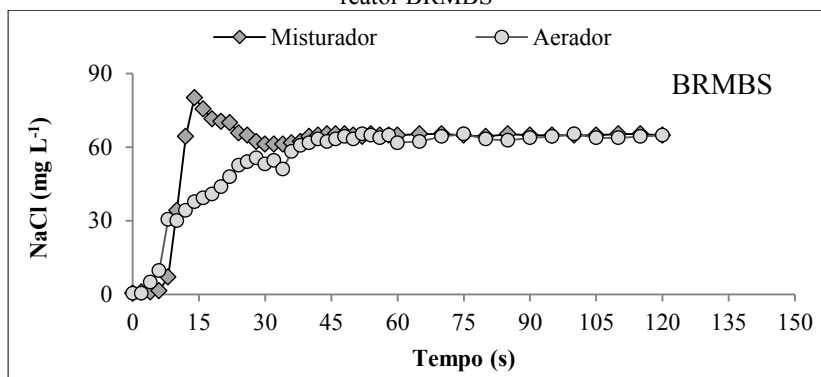
APÊNDICE A

Estudos Preliminares para determinação de parâmetros operacionais:

- Tempo de mistura dos reatores

As Figuras 50 e 51 apresentam os resultados obtidos durante os ensaios para a determinação do tempo de mistura dos reatores BRMBS e BRMBS-LM. São apresentados nas Figuras em questão o perfil da concentração do traçador em função do tempo, a partir de um pulso de solução salina no interior dos reatores. Tais ensaios foram realizados avaliando a mistura do reator durante a fase anóxica/anaeróbica, onde atua a bomba de recirculação e também a mistura do reator durante a fase aeróbica, na qual atua o sistema de aeração.

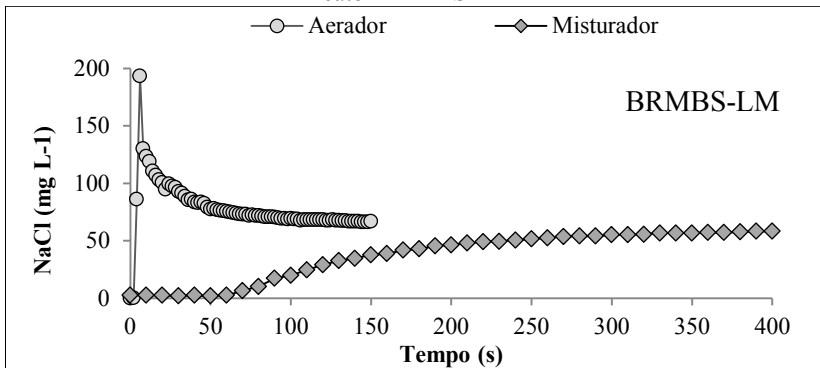
Figura 51 - Tempo de mistura durante etapa anóxica/anaeróbica e aeróbica para o reator BRMBS



Observa-se que o BRMBS apresentava boa capacidade de homogeneização do líquido reacional, seja durante a etapa anóxica/anaeróbica, seja na etapa aeróbica, uma vez que em ambos os casos a concentração do traçador salino tornava-se constante após 40 segundos. Por outro lado, observa-se que para o BRMBS-LM, a concentração do traçador salino tende a se estabilizar de maneira mais lenta, apresentando valores mais constantes após 130 segundos durante a fase aeróbica e após 270 segundos durante a fase anóxica/anaeróbica. Considerando que ambos os reatores operavam sob mesma taxa de aeração e mesma vazão nas bombas de recirculação, entende-se que tais

diferenças nos tempos de mistura se devam a presença do material suporte no BRMBS-LM, que tornam a hidrodinâmica desse reator menos favorável em comparação ao reator BRMBS.

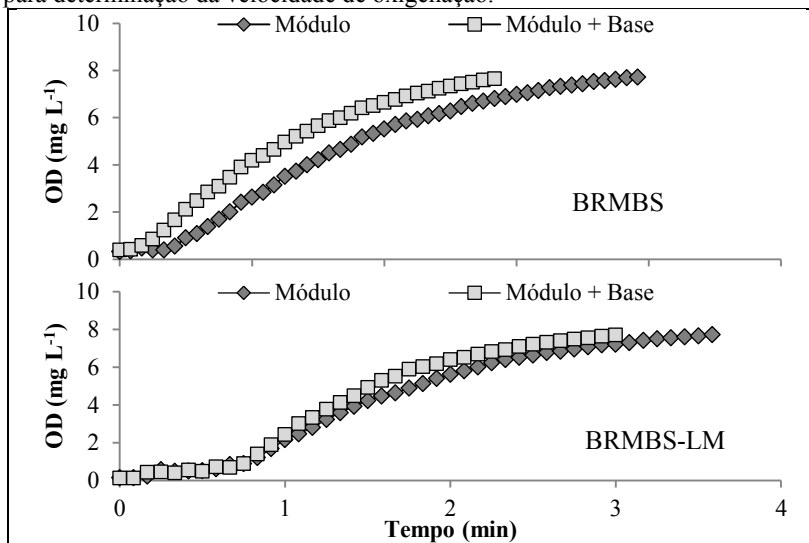
Figura 52- Tempo de mistura durante etapa anóxica/anaeróbia e aeróbia para o reator BRMBS-LM



- Velocidades de oxigenação nos reatores

A Figura 52 apresenta os resultados dos ensaios para determinação das velocidades de oxigenação nos reatores BRMBS e BRMBS-LM. Em ambos os casos, foram avaliadas as velocidades de oxigenação considerando a aeração apenas pelos difusores do próprio módulo de membranas (Módulo) e também as velocidade de oxigenação considerando aeração pelo módulo e aeração da base dos reatores (Módulo + Base) de maneira simultânea.

Figura 53 – perfil das concentrações de oxigênio dissolvido durante os ensaios para determinação da velocidade de oxigenação.



Nota-se que para os dois reatores a condição “Módulo + Base” resultou em um processo de oxigenação mais acelerado, conforme era esperado. Levando em consideração a inclinação das retas de oxigenação obtidas em cada ocasião, foram obtidas as velocidades de oxigenação de 14, 1 e 19,1 $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}\text{h}^{-1}$ para o BRMBS nas condições “Módulo” e “Módulo + Base”, respectivamente, e 16,9 e 20,4 $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}\text{h}^{-1}$ para o BRMBS-LM nas condições “Módulo” e “Módulo + Base”, respectivamente. Tais resultados indicam que a velocidade de oxigenação no BRMBS-LM foi ligeiramente maior quando comparado com o BRMBS. Acredita-se que tal resultado esteja associado aos choques mecânicos das bolhas de ar contra a estrutura do material suporte, resultando na quebra e produção de bolhas menores no licor misto, facilitando assim a sua transferência no BRMBS-LM.

- Permeabilidade hidráulica dos módulos de membranas

Os resultados dos ensaios para determinação da permeabilidade hidráulica (L_p) dos módulos de membranas utilizados são apresentados na Figura 53. A partir do coeficiente angular das retas obtidas entre o fluxo aplicado e a pressão transmembrana observada, foram obtidos os valores de L_p 225,97 $\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$ para o módulo instalado no

BRMBS e de $221,31 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$ para o módulo instalado no BRMBS-LM. Tais valores indicam que os módulos utilizados apresentam pouca diferença em suas permeabilidades, o que permite uma avaliação comparativa entre eles em relação ao possível processo de colmatação na posterior permeação com o licor misto.

Figura 54 - Permeabilidade hidráulica dos módulos utilizados.

