

II-477 - INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS NA EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE BIOFILME DE MEIOS SUPORTE EM UM SISTEMA MBBR-PHOREDOX

Alexandre Silveira Amaro da Silva⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade Tiradentes. Mestre em Engenharia Ambiental Sanitária pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (PEAMB/UERJ). Engenheiro de Segurança no Trabalho pela Universidade Cândido Mendes. Doutorado em Engenharia Ambiental pelo DEAMB/UERJ.

Beatriz de Almeida Rocha⁽¹⁾

Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Marcia Marques Gomes⁽¹⁾

Bióloga e Mestre pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). PhD em Engenharia Química pelo Royal Institute of Technology, Estocolmo Suécia. Professora Titular em Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Endereço⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier 524, Sala 5024 Bloco E – Bairro Maracanã – Rio de Janeiro – RJ – CEP 20550-900 – Brasil – Tel: +55 (21) 2334-0959 – e-mail: aleamaro@gmail.com

RESUMO

Um dos indicadores para o monitoramento de reatores biológicos de leito móvel (*moving bed biofilm reactors*-MBBRs) utilizados no tratamento de efluentes é a avaliação do biofilme aderido aos meios-suporte, especialmente nos tanques aerados. Para tanto, faz-se necessária a escolha de método apropriado para extração da biomassa aderida às mídias. Diferentes métodos vêm sendo utilizados sem padronização. Com objetivo de estabelecer um método prático, baixo custo e ambientalmente adequado (sem uso de produtos químicos ou geração de resíduos perigosos) para extração da biomassa aderida aos meios-suporte de MBBRs, foram conduzidos experimentos com agitação mecânica e ultrassom utilizando Desenho Experimental com Planejamento Fatorial (DoE) para otimização de processos em quatro fases. Na primeira comparou-se as eficiências de extração entre Agitação Mecânica e Ultrassom. Na segunda, apenas com Ultrassom, comparou-se a eficiência na extração de biomassa utilizando membranas com porosidade de 0,7µm e 1,5µm. Na terceira, verificou-se a influência de agitação manual durante a extração por Ultrassom. Na quarta e última, foi identificado o menor tempo de exposição ao Ultrassom com a menor dispersão nos dados (maior reprodutibilidade). Os resultados indicam que o método mais adequado inclui Ultrassom, sem diferença significativa entre membranas de 0,7 e 1,5µm, 6 agitações manuais e tempo mínimo de sonicação de 30 min.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de Efluentes, Processos Biológicos, Quantificação de Biofilme, Reator Biológico de Leito Móvel

INTRODUÇÃO

A tecnologia de Reatores Biológicos de Leito Móvel – MBBR foi desenvolvida originalmente na Noruega, com objetivo de aumentar a eficiência de Estações de Tratamento de Esgotos já existentes, realizado através do preenchimento de reatores convencionais por meios suporte móveis sobre os quais cresce um biofilme, resultando no aumento da quantidade de biomassa ativa por m³ (RUSTEN et al., 2006; ANDREOTTOLA et al., 2000; ØDEGAARD et al., 2006) seja em condições aeróbias, anóxicas ou anaeróbias (BARWAL & CHAUDHARY, 2014). Assim como em outros sistemas biológicos de tratamento a quantificação de biomassa ativa é fundamental para o controle adequado do processo, em especial para a relação alimento/microrganismo (A/M). Portanto, além da quantificação convencional dos Sólidos Voláteis em Suspensão (SVS) no líquido é necessário quantificar os Sólidos Voláteis Aderidos (SVA) aos meios suporte. Para isso são utilizadas diferentes técnicas que transferem a biomassa dos meios suporte para água destilada, que em seguida é analisada seguindo metodologia convencional para Sólidos Suspensos (APHA, 2004).

Diferentes autores utilizam métodos distintos para extração de biofilme dos meios suporte, tais como agitação (FERRAI et al., 2010), ultrassom (NOGUEIRA et al., 2002; WANG et al., 2005; OLIVEIRA, 2008), raspagem manual (MAHENDRAN et al., 2012; ZHANG et al., 2013a; ZHANG et al., 2013b), lavagem com água (OLIVEIRA, 2008) e lavagem química (OLIVEIRA, 2008; LEVSTEK & PLAZL, 2009; SHORE et al., 2012; FALÅS et al., 2013; CAO, 2014; BASSIN et al., 2016). Entretanto, há grande variação até mesmo em

métodos que usam uma mesma técnica, *e.g.* tempos de ultrassom que vão de 2 min (NOGUEIRA et al., 2002) a 60 min (OLIVEIRA, 2008), o que pode resultar em grande variação nos resultados de extração e consequentemente de quantificação da biomassa aderida, inviabilizando qualquer comparação. Não foram encontradas publicações que comparassem as eficiências de diferentes métodos.

O objetivo deste trabalho foi comparar duas técnicas diferentes e ambientalmente sustentáveis de extração que permitam a quantificação de orgânicos voláteis (agitação mecânica e ultrassom), identificando combinações de variáveis dentro da técnica selecionada que resulte em extração satisfatória de biomassa de forma rápida e reprodutível.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os meios suporte foram coletados no tanque aerado de um sistema piloto experimental que combina o princípio do MBBR com um sistema do tipo PHOREDOX - processo desenvolvido pelo professor James Barnard da África do Sul cujo objetivo é remover biologicamente Nitrogênio e principalmente Fósforo (JORDÃO E PESSÔA, 2014) – que está instalado em uma elevatória da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE) no centro da cidade do Rio de Janeiro. O sistema é alimentado (60 L/h) a partir de um tanque de equalização (400 L) e é dividido em cinco tanques: Anaeróbio (40 L), Anóxico 1 (40 L), Aeróbio (240 L), Anóxico 2 (40 L) e Sedimentador (40 L), sendo 50% deste volume preenchido por meios suporte. Os meios suporte são da marca ENVIROMEX, fabricados em PEAD, têm formato cilíndrico com diâmetro externo de 26 mm, densidade de 0,96 g/cm³ e área protegida de 500 m²/m³. Cada rodada de extração envolveu seis unidades de meio suporte, que após coletados eram imediatamente acondicionados em frascos de PEAD contendo diferentes volumes de água destilada, e acondicionadas (0 a 4°C) por no máximo 5 h, até o momento dos ensaios de extração, que foi realizada por agitação mecânica (mesa agitadora com movimento orbital, 200 rpm) ou Ultrassom (40 kHz, com agitações manuais durante o processo de sonicação).

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi dividido em 04 etapas, de modo que nas 03 primeiras Etapas (Tabelas 1,2 e 3) se utilizou planejamento experimental (DoE) fatorial para otimização de processos (RODRIGUES & IEMMA, 2009) com objetivo de identificar as combinações de variáveis e respectivos níveis que resultassem nas melhores taxas de remoção de biomassa dos meios suporte. As variáveis e respectivos intervalos avaliados foram selecionados a partir de dados obtidos na literatura, bem como cada etapa foi planejada em função dos resultados da etapa anterior. Os softwares comerciais Statistica® e Minitab18® foram utilizados para a confecção dos gráficos e das análises estatísticas respectivamente.

ETAPA I – ULTRASSOM VERSUS AGITAÇÃO MECÂNICA

As variáveis independentes testadas foram as mesmas para as duas técnicas, *i.e.*, tempo e volume de água nos frascos (Tabela 1). Para ensaios com Ultrassom os frascos foram submetidos a 40 kHz (Figura 1a) e agitados manualmente a cada 5 minutos ao longo do processo de sonicação; e para agitação mecânica os frascos foram submetidos agitação contínua com movimento orbital a 200 RPM (Figura 1b)



Figura 1: (a) Ultrassom Unique Modelo UltraCleaner 1400A, 40kHz; (b) Mesa agitadora - Ethik Technology Mod. 109-1, 200 rpm movimento orbital.

Tabela 1: Etapa I – Planejamentos Fatoriais completos para dois fatores com triplicatas nos pontos centrais. Ultrassom e Agitação Mecânica.

Rodada		Variáveis Independentes		
Ultrassom	Agitação Mecânica	Combinações de Níveis	Tempo (min)	Volume de H ₂ O (mL)
A	H	(-1, -1)	15	100
B	I	(+1, -1)	60	100
C	J	(-1, +1)	15	400
D	K	(+1, +1)	60	400
E	L	(0, 0)	37,5	250
F	M	(0, 0)	37,5	250
G	N	(0, 0)	37,5	250

ETAPA II – INFLUÊNCIA DA POROSIDADE DAS MEMBRANAS

Esta etapa foi planejada em função dos resultados obtidos na Etapa I. Foi utilizado apenas Ultrassom para extração do biofilme, e utilizou-se planejamento fatorial para comparar a quantificação de sólidos suspensos usando membranas de fibra de vidro com diferentes tamanhos de poro (Tabela 2). As variáveis independentes utilizadas foram as mesmas da Etapa I, com intervalo amplificado para variável 'Tempo', e foram adicionadas 02 rodadas aos pontos centrais. Durante cada rodada foram realizadas 03 agitações manuais de 03 segundos cada, distribuídas em intervalos iguais.

Tabela 2: Etapa II - Planejamentos fatoriais completos para dois fatores com quintuplicatas nos pontos centrais – Extração de biofilme por Ultrassom e quantificação por membranas com poros de tamanhos diferentes.

Rodada		Variáveis Independentes		
Membrana 0,7 µm	Membrana 1,5 µm	Combinações de Níveis	Tempo (min)	Volume de H ₂ O (mL)
A	J	(-1, -1)	5	100
B	K	(+1, -1)	90	100
C	L	(-1, +1)	5	400
D	M	(+1, +1)	90	400
E	N	(0, 0)	47,5	250
F	O	(0, 0)	47,5	250
G	O	(0, 0)	47,5	250
H	Q	(0, 0)	47,5	250
I	R	(0, 0)	47,5	250

ETAPA III - INFLUÊNCIA DA FOMA DE AGITAÇÃO MANUAL DURANTE ULTRASSOM

Assim como na Etapa II, as variáveis da Etapa III foram selecionadas em função dos resultados obtidos na etapa anterior. Nesta etapa foi utilizado membrana com porosidade de 0,7 µm e o volume de água foi fixado em 250 mL. As variáveis testadas foram Tempo de exposição ao Ultrassom e o número de agitações manuais (3 segundos cada) ao longo do processo de sonicação, distribuídas em intervalos iguais.

Tabela 3: Etapa III: Planejamento fatorial completo para dois fatores com triplicata no ponto central - extração por Ultrassom e diferentes números de agitações manuais (3 segundos cada)

Rodadas		Variáveis Independentes	
Membrana 0,7 µm	Combinações de Níveis	Tempo (min)	Número de Agitações Manuais
A	(-1, -1)	5	2
B	(+1, -1)	90	2
C	(-1, +1)	5	10
D	(+1, +1)	90	10
E	(0, 0)	47,5	6
F	(0, 0)	47,5	6
G	(0, 0)	47,5	6

ETAPA IV – IDENTIFICAR TEMPO DE ULTRASSOM QUE FORNECE BAIXA DISPERSÃO DE RESULTADOS

Nesta etapa a única variável testada foi o Tempo de exposição a Ultrassom, de modo que as outras variáveis foram fixadas: membrana com poros de 0,7 µm, volume de água igual a 250 mL e 06 agitações manuais. Para cada tempo de exposição foram realizadas quintuplicatas (Tabela 4).

Tabela 4: Etapa IV - Extração de biofilme por diferentes tempos de Ultrassom em quintuplicata.

Tempo de Ultrassom		
10 min	30 min	50 min
A	F	K
B	G	L
C	H	M
D	I	N
E	J	O

QUANTIFICAÇÃO DA BIOMASSA EXTRAÍDA DOS MEIOS SUPORTE

Após ultrassom/agitação uma alíquota da mistura “H₂O + Biofilme Extraído” de cada frasco era analisada para Sólidos Suspensos (SS) conforme APHA (2017), enquanto que as 6 peças foram removidas para quantificação de Biofilme Remanescente (BR), que corresponde à diferença de peso seco (60°C, 24h) do grupo de 6 peças antes e depois de lavagem química com NaOH (1M, 100 mL, 100°C, 30 min). A eficiência de extração foi calculada considerando-se que a biomassa total de cada grupo de 6 peças era igual ao somatório entre Biofilme Remanescente e Biofilme Extraído (Representado por SS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ETAPA I – ULTRASSOM VERSUS AGITAÇÃO MECÂNICA

Os percentuais de extração variaram entre 56 e 70% para Ultrassom (Tabela 5, Figura 2a) e entre 33 e 43% para Agitação Mecânica (Tabela 5, Figura 2b). Apesar de ter promovido maior extração do que Agitação Mecânica, o modelo gerado para extração por Ultrassom apresentou coeficiente de determinação muito baixo ($R^2 = 0,33$), indicando que sob tais condições a reprodutibilidade da extração é maior para Agitação Mecânica ($R^2 = 0,76$).

Tabela 5: Etapa I – Eficiência de extração por Ultrassom e Agitação Mecânica – Planejamentos Fatoriais Completos para duas variáveis e três níveis, com triplicata nos pontos centrais

Rodada		Volume de H ₂ O (mL)	Tempo (min)	%Ext Ultrassom	%Ext Agitação Mecânica
Ultrassom	Agitação Mec.				
A	H	100	15	56	38
B	I	400	15	59	43
C	J	100	60	66	33
D	K	400	60	65	41
E	L	250	37,5	73	41
F	M	250	37,5	64*	41
G	N	250	37,5	70	43

*Outlier.

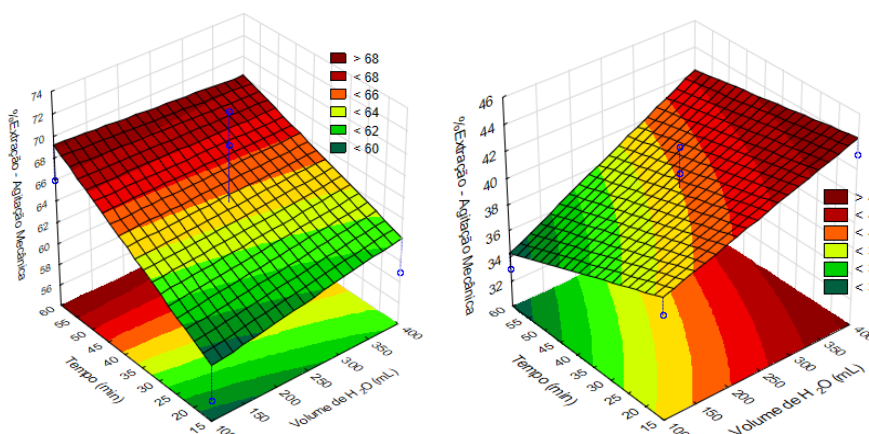


Figura 2. Superfícies de resposta - %SST extraído por (a) Ultrassom e (b) Agitação Mecânica.

A comparação das medianas das extrações (%SST) através do teste Mann-Whitney (Minitab18®) revelou que a extração por Ultrassom foi significativamente maior ($p < 0,05$), e por este motivo decidiu-se utilizar apenas Ultrassom nas etapas seguintes, e explorar uma faixa maior do tempo de sonicação para melhor compreensão dos efeitos desta variável.

ETAPA II – MEMBRANA 0,7 μm VERSUS 1,5 μm

Nesta etapa foi realizada uma comparação entre membranas com porosidades diferentes dentre as aceitas pelo Standard Methods, considerando a hipótese de que menor porosidade poderia resultar em maior retenção de SS e consequentemente em maior percentual de extração. O percentual de extração variou de 55-75% para filtração com membranas de 0,7 μm (Tabela 6, Figura 3a) e 55-75% para membrana de 1,5 μm (Tabela 6). A comparação das medianas das extrações (%SST) através do teste Mann-Whitney (Minitab18®) mostrou que não houve diferença significativa ($\alpha = 0,05$) entre os resultados, e por este motivo serão discutidos resultados apenas para membranas de 0,7 μm , que por questão de disponibilidade será adotada nas etapas seguintes.

A ANOVA mostrou que o modelo gerado apresentou ajuste satisfatório e boa reprodutibilidade ($R^2 = 0,84$) apesar da grande variação nos resultados das réplicas do ponto central, para os quais a extração foi de 66 a 77%. Assim como indicado na etapa anterior, nesta etapa o diagrama de Pareto (Figura 3b) ilustra a maior influência do tempo de Ultrassom sobre a extração, com $p = 0,02$ contra $p = 0,09$ para a variável volume de H₂O.

**Tabela 6: Etapa II – Extração com Ultrassom - membranas com poros de 0,7 μm e 1,5 μm .
Planejamentos Fatoriais completos para duas variáveis e três níveis, com quintuplicatas nos pontos centrais.**

Rodada		Volume de H ₂ O (mL)	Tempo (min)	% Ext (0,7 μm)	% Ext (1,5 μm)
A	J	100	5	62	62
B	K	100	90	75	76
C	L	400	5	55	55
D	M	400	90	70	69
E	N	250	47,5	69	67
F	O	250	47,5	66	67
G	P	250	47,5	72*	72*
H	Q	250	47,5	77*	78*
I	R	250	47,5	69	71

*Outliers.

Apesar de esta variável não ter influência significativa, observou-se que a extração foi levemente superior (~7%) quando se usa menores volumes de água (100 mL) tanto para maiores quanto para menores tempos de US, para as duas membranas testadas (Tabela 6). Uma explicação seria o maior movimento e energia nas colisões das peças plásticas dentro de frascos com menor volume de água, já que todos os frascos tinham volume total de 500 mL e quando preenchidos com 400 mL de H₂O restava menos espaço para agitação em comparação aos frascos preenchidos com 100 mL, favorecendo a absorção de impacto das peças pela água, dificultando a soltura do biofilme das peças plásticas.

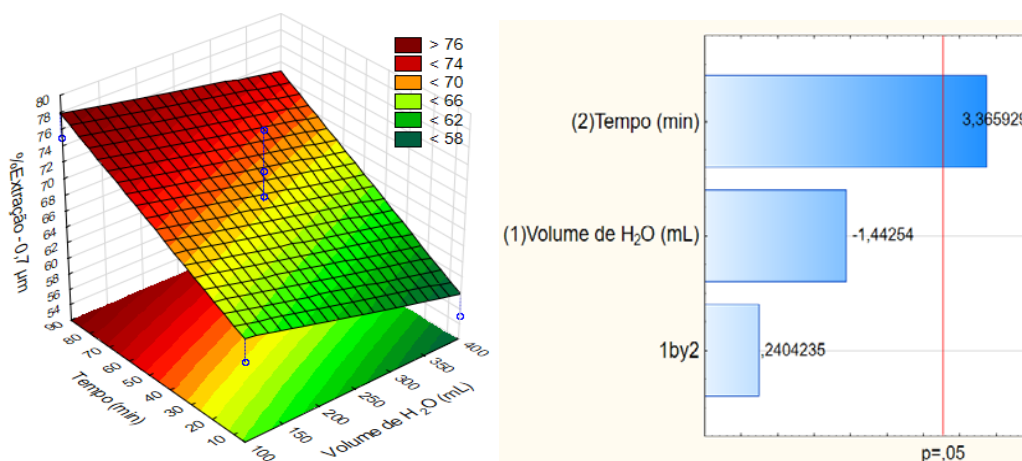


Figura 3: (a) Superfícies de resposta - %SST extraído e (b) Diagrama de Pareto – Estimativa dos efeitos padronizados das variáveis volume (mL), tempo (min), e da interação volume x tempo.

ETAPA III – INFLUÊNCIA DA AGITAÇÃO MANUAL DURANTE ULTRASSOM

Nesta etapa foram usadas apenas membrana 0,7 μm , o volume de H₂O foi fixado em 250 mL e foi adicionada como variável independente o número de agitações dos frascos durante o processo de sonicação. As extrações variaram de 30,8 a 91,3% (Tabela 7, Figura 4a).

A ANOVA mostrou que a falta de ajuste do modelo gerado foi bastante significativa ($p = 0,003$) e apresentou R^2 relativamente baixo (0,69), mas apesar de o modelo não representar bem os dados observados, o diagrama de Pareto (Figura 4b) sugere que o tempo de ultrassom tem influência muito maior sobre o resultado do que o número de agitações.

Tabela 7: Etapa III – Extração com diferentes tempos de exposição a Ultrassom e diferentes números de agitações manuais. Planejamento Fatorial completo para duas variáveis e três níveis, com triplicata no ponto central.

Rodada Ultrassom	Tempo (min)	Nº de agitações	% Extraído
A	5	2	30,8
B	90	2	56,8
C	5	10	35,7
D	90	10	91,3
E	47,5	6	77,3
F	47,5	6	79,7
G	47,5	6	76,3

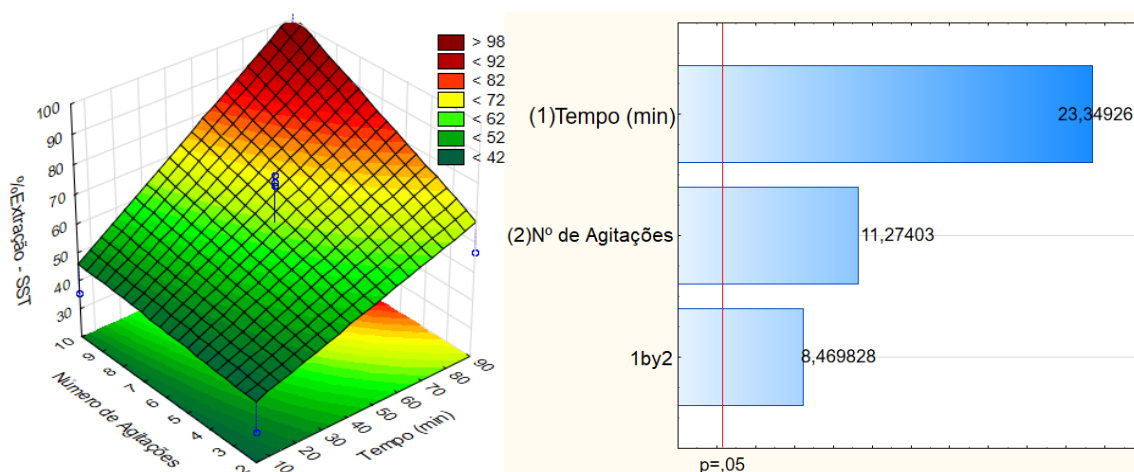


Figura 4: (a) Superfícies de resposta - %SST extraído e (b) Diagrama de Pareto – Estimativa dos efeitos padronizados das variáveis volume (mL), tempo (min), e da interação volume x tempo.

ETAPA IV – TEMPO MÍNIMO DE ULTRASSOM E REPRODUTIBILIDADE

Foi observada grande dispersão de dados observada na maioria dos resultados dos planejamentos fatoriais, que fica evidente ao comparar os resultados das réplicas dos pontos centrais em cada etapa. Tal dispersão pode ser atribuída a algum fator que não é possível controlar e que faz com que a remoção de biomassa ocorra de formas diferentes mesmo para meios suporte submetidos às mesmas condições de ultrassom, agitação e quantidade de água usada. A Figura 5 exemplifica tal diferença, sendo possível observar a olho nu a diferença no teor de biofilme remanescente entre peças de um grupo percentente um mesmo frasco após sonicação.



Figura 5: Meios suporte de um mesmo grupo apresentando diferença na quantidade de biofilme remanescente após extração por Ultrassom

Por este motivo, nesta etapa optou-se por isolar a variável tempo de Ultrassom com objetivo de verificar se há relação desta variável com a dispersão observada nas respostas anteriores. Foram fixados o volume de H₂O (250 mL), o número de agitações durante o ultrassom (6 vezes), e cada um dos 3 níveis (10, 30 e 50 min) foi testado em quintuplicata. Observou-se maior variação nos resultados de extração, tanto de SST quanto de SSV quando usado tempo de ultrassom menor que 30 min, com diferença de até 15% para ambos parâmetros (Figura 6).

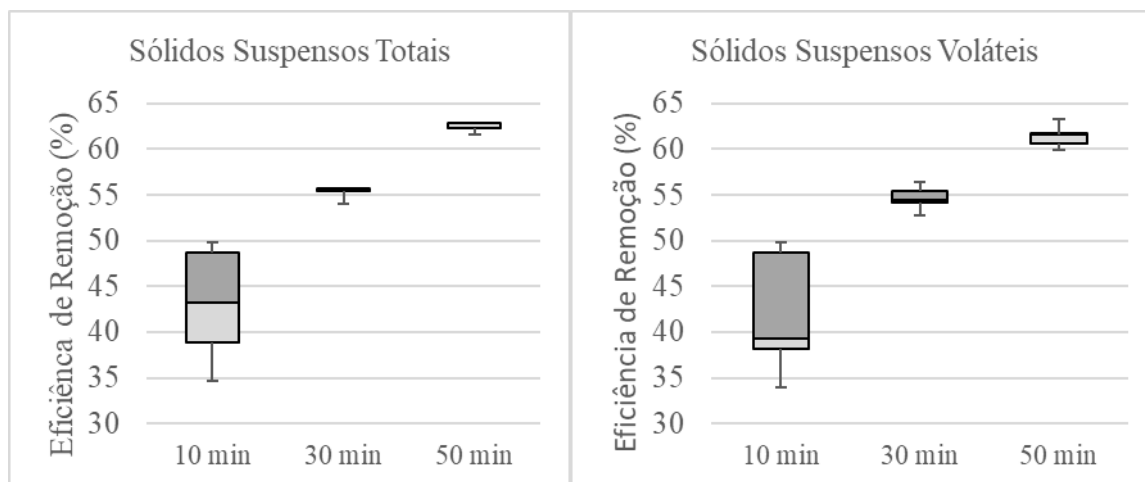


Figura 6: Boxplot da eficiência de extração: SST e SSV. Quintuplicatas em cada nível, Valores fixados: volume de H₂O (250 mL) e N° de agitações (6). Membrana = 0,7 µm

Maiores tempos de ultrassom resultaram em maior extração de biomassa. Há indícios de que a extração ocorra como função linear do tempo de Ultrassom. Por outro lado, os resultados indicam que a partir de 30 min a dispersão nos resultados é baixa e, portanto, apesar de 50 min de ultrassom resultar em maior remoção, a baixa dispersão nos resultados com 30 min, *i.e.* boa reprodutibilidade, justifica o uso deste tempo para o método de quantificação, tanto do ponto de vista técnico quanto econômico.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com os desenhos experimentais e intervalos selecionados das variáveis independentes analisadas apontam Ultrassom como técnica superior à Agitação Mecânica na extração de biofilme dos meios suporte. Quanto à quantificação de SS não houve diferença estatisticamente significativa entre o uso de membranas de fibra de vidro com porosidade de 0,7 ou 1,5 µm, mesmo para tempos mais longos de Ultrassom, quando pode ocorrer maior fragmentação da matéria. O tempo de exposição ao Ultrassom foi a variável mais importante quando comparado com o volume de água usado para extração ou com o número de agitações ao longo do processo de sonicação. A avaliação individual desta variável mostrou que tempos abaixo de 30 min podem resultar em valores dispersos do percentual de biomassa extraída e portanto, com pouca reprodutibilidade, sendo assim inadequados para planejamentos fatoriais como os utilizados neste estudo por resultarem em modelos pouco representativos dos resultados reais.

PRÓXIMOS PASSOS

Recomenda-se uma complementação da etapa IV a ser realizada nos mesmos moldes, porém utilizando para a variável dependente tempo, os níveis 10, 20 e 30 min com os objetivos de confirmar os padrões de dispersão de resultados observados na etapa IV e de verificar como esta ocorre quando 20 min de Ultrassom é aplicado, tendo sempre em vista a celeridade do processo de extração. Após esta etapa, o tempo de Ultrassom selecionado poderá ser utilizado, por exemplo, quinzenalmente, em quintuplicatas, com o objetivo confirmar a reprodutibilidade do método proposto para diferentes composições de biofilme.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPERJ (Proc. E-26/201.298/2016) e do CNPq (Proc. 308335/2017-1) para a última autora; e Bolsa de doutoramento CAPES (Proc. 1533268) para o primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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 Biotechnology*, v. 13, n. 3, p. 285–299, 2014.
2. BASSIN, J. P. et al. “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*, v. 100, p. 131–141, 2016.
3. CAO, S. M. DE S. Remoção biológica de matéria orgânica e nitrogênio de um efluente industrial em sistema de Leito Móvel com Biofilme de dois estágios. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.
4. FALÃS, P. et al. “Micropollutant removal by attached and suspended growth in a hybrid biofilm-activated sludge process”. *Water Research*, v. 47, n. 13, p. 4498–4506, 2013.
5. FERRAI, M.; GUGLIELMI, G.; ANDREOTTOLA, G. “Modelling respirometric tests for the assessment of kinetic and stoichiometric parameters on MBBR biofilm for municipal wastewater treatment”. *Environmental Modelling and Software*, v. 25, n. 5, p. 626–632, 2010.
6. FONSECA, D. Desempenho de Sistemas MBBR em diferentes condições de recheio e vazão: estudo em escala piloto e laboratorial. 2016. 2016.
7. JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. Tratamento de Esgotos Domésticos. 7a ed. Rio de Janeiro: ABES, 2014.
8. LEVSTEK, M.; PLAZL, I. “Influence of carrier type on nitrification in the moving-bed biofilm process”. *Water Science and Technology*, v. 59, n. 5, p. 875–882, 2009.
9. MAHENDRAN, B.; LISHMAN, L.; LISS, S. N. “Structural, physicochemical and microbial properties of flocs and biofilms in integrated fixed-film activated sludge (IFFAS) systems”. *Water Research*, v. 46, n. 16, p. 5085–5101, 2012.
10. METCALF, E. Tratamento de Efluentes e Recuperação de Recursos. 5a. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.
11. NOGUEIRA, B. L. Modelagem matemática de reatores de leito móvel com biofilme para tratamento de efluentes. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.
12. OLIVEIRA, D. V. M. DE. Caracterização dos Parâmetros de Controle e Avaliação de Desempenho de um Reator Biológico com Leito Móvel (MBBR). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.
13. RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos & otimização de processos. 2ª ed. Campinas: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé & Amor, 358p. 2009.
14. RUSTEN, B. et al. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*, 2006.
15. SHORE, J. L. et al. “Application of ammonia treatment in high temperature Technology, v. 112, p. 51–60, 2012.
16. WANG, R.-C.; WEN, X.-H.; QIAN, Y. “Influence of carrier concentration on the performance and microbial characteristics of a suspended carrier biofilm reactor”. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 9, p. 2992–3001, 2005.
17. ZHANG, S. et al. “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. 365–373, 2013a.
18. ZHANG, S. et al. “Linking nitrifying biofilm characteristics and nitrification performance in moving-bed biofilm reactors for polluted raw water pretreatment”. *Bioresource Technology*, v. 146, p. 416–425, 2013b.