



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA**

**SARA MONALIZA SOUSA NOGUEIRA**

**TRATAMENTO DE EFLUENTES DE CULTIVOS DE TILÁPIA DO NILO**  
**(*Oreochromis niloticus*) COM A MICROALGA *Spirulina platensis***

**FORTALEZA - CEARÁ**

**2012**

SARA MONALIZA SOUSA NOGUEIRA

TRATAMENTO DE EFLUENTES DE CULTIVOS DE TILÁPIA DO NILO  
(*Oreochromis niloticus*) COM A MICROALGA *Spirulina platensis*

Dissertação de mestrado submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.

FORTALEZA - CEARÁ  
2012

SARA MONALIZA SOUSA NOGUEIRA

TRATAMENTO DE EFLUENTES DE CULTIVOS DE TILÁPIA DO NILO  
(*Oreochromis niloticus*) COM A MICROALGA *Spirulina platensis*

Dissertação de mestrado submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Engenharia de Pesca.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio  
Universidade Federal Do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Glácio Souza Araújo  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

A Deus, aos meus pais, a minha irmã, ao meu namorado e aos meus queridos amigos e orientador.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me conceder saúde, responsabilidade e entusiasmo.

À minha família, amigos e namorado, por me amarem e me apoiarem em tudo que me proponho a conhecer e fazer.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wladimir, pela paciência e sapiência na minha orientação, que possibilitaram a realização deste trabalho.

Ao Júnior, por sempre ser mais que um amigo... Um irmão.

Ao Cleiton e vigilantes, pelo auxílio prestado além de suas profissões.

Aos colegas do CEBIAQUA, pela parceria, amizade, ajudas e sugestões.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

“A mente que se abre a uma nova ideia  
jamais voltará ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

## RESUMO

Neste estudo, a microalga *Spirulina platensis* foi utilizada para promover o tratamento da água proveniente de cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foram realizados 5 tratamentos (VD, CD, CS, SI e SE). Em VD os peixes foram cultivados em água verde e doce, proveniente de um tanque de piscicultura, contendo diversas espécies de microalgas. Em CD, os alevinos de tilápia foram cultivados em águas claras e doce, sem a presença de microalgas nativas. Em CS, os alevinos, previamente aclimatados, foram cultivados em água clara com salinidade 10. No tratamento realizado no sistema interno (SI), a microalga foi cultivada em uma piscina de 1.500 L contendo o efluente de tilápia com iluminação artificial. No tratamento SE a microalga *S. platensis* foi cultivada em uma caixa de 1.500 L, contendo apenas o efluente do cultivo dos peixes em águas claras com salinidade 10 (CS) com iluminação natural. Os parâmetros abióticos analisados durante os cultivos foram: absorvância, pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e as concentrações de amônia total, nitritos, nitratos e fosfatos totais. Foi realizado o acompanhamento do desenvolvimento zootécnico dos peixes e determinada a produção de biomassa da microalga. Os resultados revelaram que o crescimento dos peixes, em peso (P) e comprimento (L) finais do tratamento VD (P =  $12,25 \pm 0,50$  g e L =  $7,1 \pm 0,1$  cm) foram superiores aos dos tratamentos CD (P =  $9,19 \pm 0,59$  g e L =  $6,3 \pm 0,1$  cm) e CS (P =  $9,90 \pm 0,69$  g e L =  $6,7 \pm 0,1$  cm). A densidade celular máxima de *S. platensis* obtida no tratamento SE foi de 322 mil tricomas mL<sup>-1</sup>, enquanto que em SI foi de 550 mil tricomas mL<sup>-1</sup>, que resultou na maior produção de biomassa seca de *S. platensis* ( $0,22$  g L<sup>-1</sup>) e produtividade máxima de  $0,02$  g L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. SI também foi o tratamento com a melhor redução das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos, em mais 95%, o que deixou os níveis dos nutrientes no efluente abaixo dos estabelecidos como referência pela resolução nº 357 do CONAMA, tornando essa água apta para o reuso no cultivo dos peixes ou descarte no ambiente natural.

**Palavras-chave:** *Spirulina platensis*; tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*); tratamento de efluentes.

## ABSTRACT

In this study, the microalgae *Spirulina platensis* was used to promote the treatment of the water from a cultivation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Five treatments were carried (VD, CD, CS, SI and SE). In VD, fish were cultivated in fresh green water from a fish culture tank, containing several species of microalgae. In CD, tilapia fingerlings were cultivated in fresh clear water, without the presence of native microalgae. In CS, fingerlings, previously acclimated, were cultivated in clear water with salinity 10. In the treatment carried on the internal system (SI), the microalgae were cultured in a 1,500 L pool with tilapia effluent and artificial lighting. In the treatment SE, microalgae *S. platensis* were cultured with natural lighting in a 1,500 L box containing only the effluent of the fish cultivated in the clear water with salinity 10 (CS). The abiotic parameters analyzed during the cultures were: absorbance, pH, temperature, salinity, dissolved oxygen and total ammonia, nitrites, nitrates and total phosphates concentrations. The zootechnical development of fish was monitored and the production of microalgae biomass was determined. The results showed that fish growth in weight (W) and length (L) of treatment VD ( $W = 12.25 \pm 0.50$  g and  $L = 7.1 \pm 0.1$  cm) were higher than the treatments CD ( $W = 9.19 \pm 0.59$  g and  $L = 6.3 \pm 0.1$  cm) and CS ( $W = 9.90 \pm 0.69$  g and  $L = 6.7 \pm 0.1$  cm). The maximum cell density of *S. platensis* obtained in the treatment SE was 322,000 trichomes  $\text{mL}^{-1}$ , whereas in SI were obtained 550,000 trichomes  $\text{mL}^{-1}$ , which resulted in the greatest production of dry biomass of *S. platensis* ( $0.22$  g  $\text{L}^{-1}$ ) and maximum yield ( $0.02$  g  $\text{L}^{-1}$  day $^{-1}$ ). SI was also the treatment which better reduced ammonia, nitrites, nitrates and phosphates concentrations (95%), leaving the effluent nutrients levels below to those established by n° 357 CONAMA Resolution, making the water suitable for reuse in the fish culture or to be disposal in the natural environment.

**Keywords:** *Spirulina platensis*; Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*); wastewater treatment.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Desenho esquemático do sistema externo.....	28
Figura 2 –	Desenho esquemático do sistema interno.....	29
Figura 3 –	Crescimento em peso dos alevinos de tilápia cultivados em águas verdes (VD), clara doce (CD) e clara salobra (CS).....	34
Figura 4 –	Curva de crescimento populacional da comunidade fitoplanctônica, expressa em valores de densidade óptica (Abs. de 680 nm) durante o cultivo dos peixes na água verde doce (VD).....	38
Figura 5 –	Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante o cultivo dos peixes em águas verdes (VD).....	38
Figura 6 –	Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante os cultivos dos peixes em água clara e doce (CD), acima, e em água clara com salinidade 10 (CS), abaixo.....	41
Figura 7 –	Curva de crescimento de <i>S. platensis</i> durante o tratamento dos efluentes de tilápia no sistema interno (SI).....	44
Figura 8 –	Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante o tratamento dos efluentes de tilápia pela <i>Spirulina</i> no sistema interno (SI).....	44
Figura 9 –	Curvas das reduções das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos no efluente do tratamento CS após o descanso de 4 semanas.....	47
Figura 10–	Curva de crescimento algal de <i>S. platensis</i> durante o tratamento dos efluentes de tilápia no sistema externo (SE).....	49
Figura 11–	Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante o tratamento dos efluentes de tilápia pela <i>Spirulina</i> no sistema externo (SE).....	49

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Composição química do meio Jourdan modificado.....	24
Tabela 2 – Avaliação do desempenho zootécnico dos alevinos de tilápia do Nilo na presença (VD) e na ausência de microalgas (CD e CS).....	35
Tabela 3 – Valores médios diários de temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade durante o cultivo dos peixes no sistema externo.....	36
Tabela 4 – Valores de concentrações iniciais, finais e de redução total obtidos no tratamento dos efluentes de tilápia no sistema interno (SI); e valores máximos permissíveis determinados pela Resolução nº 357/2005 do CONAMA, a fim de estabelecer condições de qualidade de água para corpos de água salobra.....	46

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 Aquicultura</b> .....	<b>15</b>
2.1.1 <i>Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)</i> .....	16
<b>2.2 Microalgas</b> .....	<b>17</b>
2.2.1 <i>Spirulina platensis</i> .....	19
<b>2.3 Qualidade de água</b> .....	<b>21</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
<b>3.1 <i>Spirulina platensis</i></b> .....	<b>24</b>
3.1.1 <i>Aquisição da microalga</i> .....	24
3.1.2 <i>Cultivo da cepa de S. platensis</i> .....	24
3.1.3 <i>Densidade óptica e densidade celular</i> .....	25
3.1.4 <i>Determinação da produção e produtividade da cultura de S. platensis</i> .....	25
<b>3.2 <i>Oreochromis niloticus</i></b> .....	<b>26</b>
3.2.1 <i>Aquisição dos alevinos</i> .....	26
3.2.2 <i>Aclimação dos alevinos</i> .....	26
3.2.3 <i>Arraçoamento</i> .....	26
3.2.4 <i>Amostragem biométrica</i> .....	26
<b>3.3 Delineamento experimental</b> .....	<b>27</b>
<b>3.4 Tratamento dos efluentes de tilápia pela <i>Spirulina platensis</i></b> .....	<b>30</b>
<b>3.5 Parâmetros abióticos</b> .....	<b>30</b>
3.5.1 <i>Potencial hidrogeniônico (pH)</i> .....	30
3.5.2 <i>Temperatura</i> .....	31
3.5.3 <i>Oxigênio dissolvido</i> .....	31
3.5.4 <i>Salinidade</i> .....	31
3.5.5 <i>Amônia (NH<sub>3</sub>)</i> .....	31
3.5.6 <i>Nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)</i> .....	32
3.5.7 <i>Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</i> .....	32
3.5.8 <i>Fosfatos (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)</i> .....	32
<b>3.6 Análises Estatísticas</b> .....	<b>33</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1 Desempenho dos alevinos no sistema externo</b> .....	<b>34</b>

<b>4.2 Produção dos efluentes de tilápia .....</b>	<b>37</b>
4.2.1 <i>Cultivo das tilápias em água verde doce (VD) .....</i>	37
4.2.2 <i>Cultivo das tilápias em água clara doce (CD) e salobra (CS) .....</i>	40
<b>4.3 Tratamento dos efluentes de tilápia pela <i>Spirulina platensis</i> .....</b>	<b>44</b>
4.3.1 <i>Tratamento do efluente com Spirulina em ambiente interno (SI) .....</i>	44
4.3.2 <i>Tratamento do efluente com Spirulina em ambiente externo (SE).....</i>	47
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>51</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>52</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Somente cerca de 2,5% de toda água disponível no planeta é doce, sendo que menos de 1% está economicamente acessível à população humana (SIMÕES *et al.*, 2007). A água é imprescindível em várias atividades econômicas e o setor agrícola, isoladamente, é responsável pelo dispêndio de aproximadamente 70% da parte líquida disponível (SANTOS *et al.*, 2011).

Anualmente, milhões de toneladas de pescados são produzidos por todo o mundo (FAO, 2010) e, com isso, a demanda de água para o cultivo destes organismos é muito elevada (SANTOS *et al.*, 2011).

A aquicultura intensiva torna as águas ricas em compostos orgânicos que podem gerar vários impactos negativos para os ambientes aquáticos, tornando-os passíveis de eutrofização (LIMA, 2011) e, por este motivo, precisam ser tratadas antes de serem lançadas nos mananciais.

Santos *et al.* (2011) afirmam que a piscicultura tradicional tem efeito deletério na qualidade de água, além de por em risco todo o meio ambiente, e sugerem o emprego de tecnologias alternativas, como o seu reuso para o desenvolvimento de uma aquicultura ambientalmente sustentável.

A aquicultura moderna desenvolve tecnologias voltadas para a busca de uma sustentabilidade econômica e socioambiental em seus processos (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2008). Técnicas inovadoras, empregando organismos microscópicos, como bactérias, fungos e microalgas têm sido adotadas em sistemas que promovem o tratamento e a reutilização do meio aquático. Além disso, a biomassa desses microorganismos também pode ser utilizada na produção de energia e na obtenção de compostos de interesse das indústrias alimentícias, químicas e farmacêuticas (DERNER *et al.*, 2006).

As microalgas são organismos que fazem parte do fitoplâncton e desempenham papel fundamental no ecossistema, constituindo uma rica e importante fonte de alimento para diversos organismos. Comercialmente, são imprescindíveis na produção de zooplâncton, larvas e juvenis de crustáceos e peixes. Além disso, algumas espécies ainda são usadas como suplemento alimentar para os seres humanos (LOURENÇO, 2006).

Contudo, as pesquisas que utilizam as microalgas como ferramentas biotecnológicas estão ganhando mais destaque atualmente. Estudos avaliam as

microalgas como elementos de recuperação de ambientes ricos em metais pesados (CHOJNACKA; NOWORYTA, 2004), como indicadores biológicos do estado trófico de ambientes aquáticos, ou ainda no tratamento de águas residuais pela remoção de compostos nitrogenados e fosfatados, após a oxidação da matéria orgânica (LOURENÇO, 2006).

A microalga *Spirulina platensis* já vem sendo bastante utilizada na indústria alimentícia, em cosméticos (PULZ; GROSS, 2004), bem como na indústria farmacêutica (BELAY, 2002) e hoje já é instrumento de pesquisa no tratamento de águas residuais provenientes de diversos meios (MARKOU; GEORGAKAKIS, 2011; MEZZOMO, *et al.*, 2010).

O cultivo de *S. platensis* em águas residuais provenientes de cultivos de tilápias pode ser uma alternativa para evitar uma maior poluição causada pelo seu despejo em águas costeiras e oceânicas, aproveitando seus nutrientes para a produção de biomassa algal que poderá ser utilizada em alguma aplicação comercial, como por exemplo, na própria alimentação animal ou na produção de biocombustíveis (DERNER *et al.*, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo geral tratar efluentes de cultivos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando a microalga *Spirulina platensis*. Além disso, teve como objetivos específicos: acompanhar os níveis dos nutrientes amônia total, nitratos, nitritos e fosfatos na água de cultivo da tilápia do Nilo (*O. niloticus*); reduzir os níveis desses nutrientes até valores aceitáveis pela resolução nº 357/2005 do CONAMA; estabelecer o período necessário do tratamento do efluente de cultivo dos peixes pela *S. platensis* e determinar a produção e produtividade de biomassa de microalga no efluente tratado.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Aquicultura

A aquicultura é o cultivo ou a criação de organismos cujo ciclo de vida, em condições naturais, ocorre total ou parcialmente em meio aquático. Essa definição está na Lei nº 11.959, de 29 de junho de 2009, que aborda a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e Pesca (BRASIL, 2009). Assim, a aquicultura pode ser compreendida como a criação, em cativeiro, de organismos predominantemente aquáticos como peixes, moluscos, algas, camarões, dentre outros (SEBRAE, 2008).

Com o declínio da produção pesqueira e o aumento da demanda de alimento pela população humana, a aquicultura tem apresentado um expansivo crescimento e sua participação na produção de alimentos deve aumentar ainda mais a fim de atender às demandas futuras por pescados (FAO, 2010).

Em 2010, a produção mundial de pescados foi de 148,5 milhões de toneladas (t), 59,9 milhões de t (40,3%) provenientes da aquicultura. Em 2011, a produção foi maior ainda, 154 milhões de t, 63,3 milhões de t oriundos da aquicultura. A perspectiva é que em 2021 a produção atinja 172 milhões de t, das quais 79 milhões de t serão produzidas pela aquicultura, representando um incremento de 33% nesse setor no período de 2012-2021, contra apenas 3% de expansão da pesca nesse mesmo período (FAO, 2012).

Segundo o Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura de 2012, do Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2012), a produção brasileira de pescados em 2010 (1.264.765 t) apresentou incremento de 2% em relação à produção de 2009 (1.240.813 t). A pesca extrativa marinha foi responsável por 536.455 t (42,4% do total de pescado), seguida, sucessivamente, pela aquicultura continental (394.340 t; 31,2%), pesca extrativa continental (248.911 t; 19,7%) e aquicultura marinha (85.057 t; 6,7%).

Neste mesmo ano, a região nordeste obteve a maior produção de pescado do país, 410.532 t, correspondendo por 32,5 % da produção nacional. Deste valor, 145.906,4 t (35,5 %) foram provenientes da aquicultura (BRASIL, 2012).

As maiores produções oriundas da aquicultura ainda são de peixes, e o cultivo de tilápia é um dos mais praticados no mundo, cuja produção, excluindo a

África, totalizou 2,4 milhões de toneladas em 2008, representando 8% de todos os peixes ósseos produzidos em água doce (FAO, 2010).

### **2.1.1 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

A tilápia passou a ser o peixe mais cultivado no Brasil a partir do ano de 2002 (OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2008). Em 2010 a produção aquícola continental brasileira de tilápia foi de 155.540,8 t (39,4 % da produção total de pescados), representando um incremento total de quase 22,5 mil t em relação a 2009 (132.958,3 t) (BRASIL, 2012).

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é de clima tropical, se desenvolve muito bem em temperaturas entre 14 e 33 °C e habita ambientes especialmente bentopelágicos, de água doce ou salobra (KUBITZA, 2005). Esta espécie apresenta uma reprodução bastante precoce e o tamanho da primeira maturação sexual pode ocorrer entre 8 e 28 cm, com uma média de 18,6 cm de comprimento (FISHBASE, 2011).

Essa espécie de peixe é de origem africana (MASSAGO *et al.*, 2010), rústico e onívoro (ARAÚJO *et al.*, 2010), pois consome alimentos de origem vegetal e animal (MARENGONI, 2006). As tilápias, de uma maneira geral, são resistentes a altas densidades populacionais e baixos teores de oxigênio (SEBRAE, 2008). Por isso, apesar de ser uma espécie exótica, apresenta grandes vantagens competitivas em relação às espécies nativas (OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2008).

A tilápia possui ainda boas características organolépticas e nutricionais, tais como proteínas de alta qualidade, aminoácidos essenciais, ferro, fósforo, cálcio, iodo, várias vitaminas e minerais (SEBRAE, 2008). Sua carne é saborosa, com um baixo teor de gorduras (0,9 g/100 g de carne) e poucas calorias (172 kcal/100 g de carne). Além disso, a ausência de espinhas em forma de “Y” e rendimento de filé de aproximadamente 33 a 37% torna-o um peixe com grande potencial para a industrialização (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007).

Para uma espécie de peixe ser considerada boa para o cultivo comercial, ela deve se reproduzir facilmente em cativeiro, apresentar boas taxas de sobrevivência e crescimento, ser resistente ao manejo, às variações ambientais e a enfermidades (KUBITZA, 2005). A tilápia do Nilo atende a todos esses requisitos e ainda possui alta produtividade, apresenta boa taxa de conversão alimentar e tem

boa aceitação no mercado consumidor (MARENGONI, 2006). Porém, sua reprodução ocorre de forma precoce, com apenas 4 meses de idade, podendo gerar um superpovoamento nos tanques ou viveiros de cultivo o que resulta em baixo crescimento. No entanto, esse problema tem sido contornado pelo cultivo somente de machos revertidos sexualmente que crescem mais e de maneira relativamente uniforme (BOMBARDELLI; HAYASHI, 2005).

O cultivo de tilápias pode ser praticado em tanques, viveiros escavados e em tanques-rede. Geralmente, os cultivos comerciais são realizados nesse último sistema, em elevadas densidades de organismos (OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2008). Vários são os relatos de elevada mortalidade de peixes nestes sistemas, devido à falta de oxigênio dissolvido na água, resultado de elevados índices de eutrofização pelo aporte de grandes quantidades de ração e excretas dos animais cultivados (MAINARDES-PINTO *et al.*, 2007). Assim, o desenvolvimento de tecnologias para o tratamento de efluentes da aquicultura intensiva é de fundamental importância para a sustentabilidade da atividade aquícola e para a saúde dos ambientes aquáticos.

## **2.2 Microalgas**

As microalgas são organismos providos de clorofila *a* e outros pigmentos, capazes de realizar fotossíntese, constituindo o fitoplâncton. Elas são classificadas, em geral, quanto ao tipo de pigmento, a natureza química de seus produtos de reserva e pelos componentes de sua parede celular (TOMASELLI, 2004).

As algas habitam ambientes dulcícolas ou marinhos e são capazes de viver praticamente em qualquer lugar provido de luz e umidade suficientes que possibilitem a assimilação dos nutrientes essenciais à sua sobrevivência (REVIERS, 2006). Além disso, algumas espécies de microalgas são extremófilas, ou seja, toleram condições ambientais extremas, ou requerem condições especiais para prosperar (PULZ; GROSS, 2004), ocupando regiões de altas e baixas temperaturas, como é o caso das algas termófilas e psicrófilas, respectivamente, bem como ambientes de elevado e baixo pH representadas pelas algas alcalífilas e acidófilas, respectivamente (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

Essas características podem ser usadas controladamente para diversas aplicações como, por exemplo, na produção de culturas em larga escala em

ambiente externo. A principal vantagem do uso de extremófilas, nesse caso, é a minimização do risco de contaminação por outros organismos que é um sério problema em culturas ao ar livre. Culturas deste tipo já são adotadas mundialmente, como a da microalga *Dunaliella salina* cultivada em concentrações muito elevadas de sal ou a produção de *Spirulina* em águas com o pH altamente alcalino (PULZ; GROSS, 2004).

Na aquicultura, o fitoplâncton tem grande importância na alimentação de peixes herbívoros, bem como é utilizado para produzir rotíferos, copépodos, artêmias e cladóceros, organismos do zooplâncton que também servem de alimento para larvas e juvenis de crustáceos e peixes (COUTTEAU, 1996).

A maioria das espécies de algas cultivadas no mundo é utilizada para o consumo humano, na produção de ração para o cultivo de organismos aquáticos, na extração de pigmentos e biocompostos, como a astaxantina, a carragenina, o iodo e a algina (DERNER *et al.*, 2006).

As microalgas também podem ser aproveitadas na dieta humana, especialmente como corantes e suplementos alimentares (LOURENÇO, 2006). As principais espécies utilizadas comercialmente são *Arthrospira (Spirulina) sp.*, *Chlorella sp.*, *Dunaliella salina* e *Haematococcus pluvialis* (DERNER *et al.*, 2006).

A biotecnologia de microalgas é o mais novo ramo da biotecnologia de algas (PULZ; GROSS, 2004). O termo biotecnologia, de origem grega *bios* (vida), *techno* (técnica) e *logos* (estudo), significa o estudo de técnicas e processos biológicos envolvidos na produção de bens e serviços no estudo da vida (OLIVEIRA, 2004).

Atualmente, diversas espécies de microalgas são utilizadas nas mais variadas aplicações biotecnológicas (DERNER *et al.*, 2006; LOURENÇO, 2006; PULZ; GROSS, 2004). Assim, além de servirem como alimento para animais e homens, as microalgas possuem várias outras aplicações comerciais. Elas podem ser usadas para a produção de biocombustíveis (ARAÚJO *et al.*, 2011; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; HSIEH; WU, 2009; POSTEN; SCHAUB, 2009); na agricultura como biofertilizantes de solo (ARAÚJO *et al.*, 2011); no ramo farmacêutico para a extração de compostos biologicamente ativos, como ácidos graxos poliinsaturados, polissacarídeos, pigmentos, antioxidantes, toxinas e isótopos estáveis (DERNER *et al.*, 2006); no setor energético produzindo metano através de fermentação e na indústria para a fabricação de cosméticos (LOURENÇO, 2006).

Além disso, as microalgas também possuem aplicações biológicas, como sua participação na ciclagem dos elementos químicos (VIDOTTI; ROLLEMBERG; 2004), reduzindo as concentrações de metais pesados de águas residuais por processos de biossorção e bioacumulação (CHOJNACKA; NOWORYTA, 2004). Produzem oxigênio e sequestram o CO<sub>2</sub> atmosférico (ARAÚJO *et al.*, 2011; PULZ; GROSS, 2004). Podem ainda servir como indicadores biológicos para ambientes eutrofizados (LOURENÇO, 2006) e ser usadas no tratamento de águas residuais domésticas, agroindustriais e piscícolas, possibilitando sua reutilização (BORGES *et al.*, 2000).

Para reduzir os custos com a utilização de fertilizantes nos cultivos de microalgas, efluentes ricos em nitrogênio e fósforo podem ser usados como meio de cultivo, ao mesmo tempo em que as microalgas reduzem a carga inorgânica e orgânica destes efluentes, proporcionando assim um método de tratamento biológico (bioremediação) de águas residuais de baixo custo (MARKOU; GEORGAKAKIS, 2011). Os elementos que mais limitam o crescimento das microalgas são o nitrogênio, principalmente na forma de nitrato e amônia, e o fósforo na forma de fosfato (LOURENÇO, 2006). Estes compostos encontram-se sempre presentes nos efluentes de piscicultura resultantes das excretas dos peixes e decomposição dos restos de ração não consumidos (OSTRENSKY; BOEGER, 1998).

A seleção da espécie de microalga para o cultivo deve levar em consideração sua capacidade de crescer rapidamente em meio orgânico sem perder suas características nutricionais, se adaptar bem ao cultivo externo em grandes escalas, ser facilmente separada da água por filtração, além de tolerar alterações de salinidade, temperatura e possuir valor comercial (CHUNTAPA; POWTONGSOOK; MENASVETA, 2003).

A microalga *Spirulina platensis*, além dessas características, possui capacidade de tolerar até 35 partes de sal na água (PHANG *et al.*, 2000) e é capaz de desenvolver-se bem em ambientes alcalinos, facilitando seu cultivo em sistemas de produção seletivos (LOURENÇO, 2006).

### **2.2.1 *Spirulina platensis***

A microalga *Spirulina platensis*, também conhecida por *Arthrospira platensis*, é uma cianobactéria microscópica e filamentosa (LOURENÇO, 2006), de

cor verde-azulada, e formadora de tricomas em espiral, de onde deriva seu nome (BELAY, 2002).

A classificação taxonômica da *Arthrospira (Spirulina) platensis* segundo o banco de dados AlgaeBase (2012) é a seguinte:

- Domínio: Prokaryota
  - Reino: Bacteria
    - Subreino: Negibacteria
      - Filo: Cyanobacteria
        - Classe: Cyanophyceae
          - Subclasse: Oscillatoriophyceae
            - Ordem: Oscillatoriales
              - Família: Phormidiaceae
                - Subfamília: Phormidioideae
                  - Gênero: *Arthrospira*
                    - Espécie: *Arthrospira (Spirulina) platensis*

Esta espécie é rica em proteínas (SABOYA, 2010) e, dependendo das condições de cultivo, poderá ser composta de 65 a 71% dessas macromoléculas na matéria seca, contendo todos os oito aminoácidos essenciais aos seres humanos. Também é rica em ácidos graxos essenciais como o  $\gamma$ -linolênico, carotenóides e vitaminas do complexo B, possuindo clorofila *a* e diversos minerais (TIETZE, 2004).

Cada um desses compostos presentes na *Spirulina* podem exercer importantes efeitos em seres humanos e animais (AMBROSI *et al.*, 2008). Belay (2002), em uma extensa revisão, fez um levantamento de mais de noventa artigos descritos na literatura sobre os diversos efeitos e propriedades das microalgas do gênero *Spirulina*. Dentre estes podemos citar a atividade imunomodulatória, regulando o sistema de defesa imune inato em camarões branco *Litopenaeus vannamei* (LIN *et al.*, 2010; TAYAG *et al.*, 2010); ações antioxidante e antiviral, redução de colesterol em ratos e coelhos (BERTOLIN *et al.*, 2009), atividade probiótica, efeitos contra a diabetes, controle da obesidade e melhoria da circulação sanguínea, proteção contra a toxicidade de metais pesados e outros compostos, bem como a proteção contra os efeitos da radiação solar, além da prevenção de

carcinomas orais em hamsters; aumento de microrganismos presentes na flora intestinal, e no combate a desnutrição em crianças (AMBROSI *et al.*, 2008).

Apesar de todos os estudos e possíveis aplicações de produtos com alto valor econômico, a utilização da *Spirulina* se limita praticamente apenas ao uso de sua biomassa na fabricação de farinha, comprimidos, cápsulas ou pastilhas para suplemento alimentar humano (PULZ; GROSS, 2004).

De acordo com os relatórios da FAO (2010), a produção dos cultivos de microalgas em águas continentais foi de 68.400 t em 2008, sendo praticamente toda de *Spirulina*, principalmente oriunda da China (62.300 t) e o restante produzido no Chile (6.000 t).

### **2.3 Qualidade de água**

O desenvolvimento urbano, o avanço da industrialização e a decorrente elevação do consumo causam o aumento da geração de resíduos, sobretudo nas regiões metropolitanas. Com o crescimento da população, aumenta também o desenvolvimento de atividades domésticas, agropecuárias e industriais, que acabam por gerar esgotos formados por resíduos sólidos e águas residuais (SANTOS *et al.*, 2011).

Os efluentes resultantes de atividades antrópicas, muitos deles ricos em compostos tóxicos, são lançadas no meio ambiente e, na maioria das vezes, causam prejuízos irreversíveis a muitos organismos que compõem a biota (SANTOS, 2008).

A aquicultura é uma dessas atividades e, nos últimos anos, vem crescendo aceleradamente causando impactos negativos sobre o meio ambiente, principalmente pelos efluentes gerados (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2008). Em geral, as águas provenientes desses sistemas são lançadas diretamente nos rios e córregos, sem tratamento prévio (SIPAÚBA-TAVARES; FÁVERO; BRAGA, 2002). Isto acarreta alterações físicas e químicas nos corpos d'água receptores devido ao incremento da quantidade de matéria orgânica, nutrientes e sólidos em suspensão proveniente dos tanques de cultivo, ocasionando diretamente a depleção de oxigênio, eutrofização e turbidez dessas águas.

Segundo a FAO (2010), a produção aquícola mundial de tilápias em água doce totalizou 2,4 milhões de toneladas em 2008 e, de acordo com Cyrino *et al.*

(2010), para produzir 1 tonelada de tilápia são necessários 128 kg de nitrogênio total (N). Desses, somente 30 kg ficam retidos no músculo do peixe, enquanto os outros 98 kg são transformados em sobras ou excretas. Seguindo este raciocínio, pode-se dizer que 235.200 toneladas de N e, aproximadamente, 46.150 toneladas de fosfatos foram descartadas nos ambientes aquáticos dulcícolas em 2008, somente para a produção de tilápias.

Os efeitos gerados pelos poluentes sobre a biota aquática podem ser diretos e indiretos, causando modificações danosas ao ecossistema como alterações na flora, fauna, sedimento e qualidade da água (LIMA, 2011). Deste modo, é preciso considerar mecanismos viáveis para reduzir os impactos de qualquer empreendimento aquícola e utilizar a água de forma sustentável, através da elaboração de metodologias eficientes para o seu eficaz tratamento e adequada devolução nos corpos receptores (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2008).

O tratamento de águas residuais é constituído de várias etapas. O pré-tratamento visa retirar da água os sólidos grosseiros por gradeamento em peneiras ou líquidos orgânicos, como óleos e graxas, por meio de caixas de gordura. Depois segue o tratamento primário, onde é feita a remoção de poluentes inorgânicos e metais pesados através de sedimentação, floculação ou decantação. Posteriormente no tratamento secundário, a matéria orgânica é degradada por microorganismos em reatores biológicos (lagoas de estabilização, lodos ativados ou filtros biológicos). Por fim, antes do lançamento final no corpo receptor, é realizado o tratamento terciário, onde há a desinfecção dos organismos patogênicos presentes nas águas residuais pelo uso de métodos como a cloração, ozonização ou radiação ultravioleta; ou ainda, para a redução de determinados nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo, que podem provocar a eutrofização das águas receptoras (GIORDANO, 2011; MALDANER, 2008; VERAS; DI BERNARDO, 2008).

Apesar dos tratamentos físicos e químicos atingirem bons níveis de eficiência, eles possuem um custo bastante elevado. Por exemplo, a remoção de fósforo pode ser feita por precipitação química, geralmente com sais de ferro (ex. cloreto férrico) ou alumínio (ex. sulfato de alumínio), porém, o lodo químico resultante possui difícil tratamento e o uso dos reagentes químicos torna-se caro (AMARAL *et al.*, 2009).

Atualmente, uma grande variedade de biofiltros está disponível comercialmente, a fim de minimizar os impactos causados pela aquicultura. No

entanto, eles são também caros e difíceis de configurar (SIPAÚBA-TAVARES; FÁVERO; BRAGA, 2002). Tratamentos biológicos, utilizando microorganismos como bactérias, algas e plantas aquáticas, constituem alternativas mais econômicas e de fácil manuseio para remoção de nutrientes e de poluentes orgânicos da água (KUBITZA, 2006).

As microalgas do gênero *Spirulina* são candidatas adequadas para o cultivo em efluentes, pois produzem bastante biomassa e podem ser colhidas de forma relativamente fácil devido ao seu tamanho e estrutura (MARKOU; GEORGAKAKIS, 2011).

Algumas pesquisas têm sido realizadas utilizando estas microalgas para avaliar seus efeitos diretos e indiretos em organismos aquáticos de interesse econômico, como por exemplo, na promoção do desempenho do crescimento de carpas (NANDEESHA *et al.*, 2001), na suplementação dietética em trutas durante a fase de estivação (GÜROY *et al.*, 2011), para melhorar o desenvolvimento de alevinos de tilápias (COELHO, 2012; LU, TAKEUCHI; SATOH, 2006) e o crescimento e coloração da tilápia vermelha (GOMES *et al.*, 2012).

Além disso, a *Spirulina* já vem sendo bastante pesquisada no controle de qualidade de água e no tratamento de efluentes de camarões (CHUNTAPA; POWTONGSOOK; MENASVETA, 2001), peixes (COELHO, 2012), suínos (OLGUÍN *et al.*, 2001), industriais (CHINNASAMY *et al.*, 2010) e até de urina humana (YANG *et al.*, 2008).

A microalga *S. platensis*, por apresentar as características descritas anteriormente, foi utilizada como um biofiltro natural com o objetivo de tratar o efluente produzido no cultivo de peixes, desenvolvendo-se nas águas residuais ricas em compostos nitrogenados e fosfatados, assimilando-os e, por consequência, reduzindo suas concentrações, tornando essas águas de melhor qualidade aos organismos cultivados e menos impactantes ao meio ambiente.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas dependências da Estação de Piscicultura Professor Doutor Raimundo Saraiva da Costa e do Centro de Biotecnologia Aplicada à Aquicultura (CEBIAQUA), ambos do Departamento de Engenharia de Pesca (DEP), do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

#### 3.1 *Spirulina platensis*

##### 3.1.1 Aquisição da microalga

A cepa de *S. platensis* foi adquirida do cepário de planctologia do CEBIAQUA e mantida em meio Jourdan modificado com salinidade 10 (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição química do meio Jourdan modificado.

| Reagentes                                                                 | Quantidades (g L <sup>-1</sup> ) |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Ureia (CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O)                                  | 0,07                             |
| Sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O) | 0,2                              |
| Sulfato ferroso heptahidratado (FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)     | 0,005                            |
| Sulfato de potássio (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )                     | 1,0                              |
| Fosfato de amônio (NH <sub>4</sub> HPO <sub>4</sub> )                     | 0,1                              |
| Nitrato de potássio (KNO <sub>3</sub> )                                   | 2,0                              |
| Cloreto de sódio (NaCl)                                                   | 10,0                             |
| Bicarbonato de sódio (NaHCO <sub>3</sub> )                                | 8,0                              |

Fonte: Adaptado de Jourdan (2001).

##### 3.1.2 Cultivo da cepa de *S. platensis*

A cepa de *S. platensis* foi cultivada a partir de um inóculo de 3 mL em tubo de ensaio, que foi transferido para um erlenmeyer de 50 mL, contendo 27 mL do meio Jourdan modificado. Em seguida, o recipiente foi disposto em uma bancada e submetido à iluminação artificial e constante, utilizando duas lâmpadas fluorescentes de 20 Watts (W) que forneciam uma iluminância de, aproximadamente, 20  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A temperatura da sala de cultivo foi de 24 °C e a agitação das células foi realizada manualmente sempre que necessário.

O volume do recipiente de cultivo foi duplicado, a cada dois dias, pela adição do meio até atingir cerca de 100 mL. Em seguida, a cultura foi transferida para um frasco de 3 L e seu volume foi novamente duplicado, diariamente, com novo meio de cultivo. A partir desse momento, a aeração da cultura passou a ser realizada com o auxílio de uma pequena bomba de diafragma. Após o desenvolvimento da cultura, os três litros foram transferidos para um garrafão de 50 L e completado com novo meio de cultivo, constituindo a cultura-mãe que seria repicada para o tratamento dos efluentes do cultivo de tilápias. Esta cultura permaneceu, durante todo o experimento no laboratório de planctologia, sendo repicada e renovada sob iluminação e aeração constantes.

### **3.1.3 Densidade óptica e densidade celular**

O acompanhamento do desenvolvimento das culturas de *S. platensis* foi realizado diariamente, pela medida da absorvância (densidade óptica – DO) de uma amostra de 25 mL da água do cultivo em um espectrofotômetro, no comprimento de onda de 680 nm. Para a obtenção da densidade celular (DC) foi utilizada a equação de regressão linear (1) obtida por Coelho (2012) em um cultivo integrado de *Spirulina* e tilápias em condições semelhantes à realizada neste trabalho:

$$DC \text{ (tricomas mL}^{-1}\text{)} = [ ( DO + 0,127) / 0,179 ] \times 10^5 \quad (1)$$

### **3.1.4 Determinação da produção e produtividade da cultura de *S. platensis***

Para a determinação do rendimento e produtividade das culturas de *S. platensis* foi necessário separar a biomassa de microalgas do meio de cultivo. Para isso, cinco litros da cultura, obtidos em duas diferentes fases da curva de crescimento, foram filtrados em uma tela de 60 µm instalada em um dos tanques de cultivo. Em seguida, a biomassa foi seca em estufa com renovação de ar a 40°C por 24 h.

## **3.2 *Oreochromis niloticus***

### **3.2.1 *Aquisição dos alevinos***

Para a realização deste trabalho, foram utilizados 850 alevinos de tilápia nilótica, revertidos sexualmente para macho pelo uso do hormônio 17  $\alpha$ -metiltestosterona, com peso inicial médio de  $1,64 \pm 0,53$  g, produzidos na Estação de Piscicultura do DEP/CCA/UFC.

### **3.2.2 *Aclimação dos alevinos***

Neste experimento foi necessário realizar a aclimação de 250 alevinos para um dos cultivos de tilápia em água clara com salinidade 10 (CS), pois tal salinidade não afeta o crescimento dos alevinos (KUBITZA, 2005), nem da *Spirulina* (CHUNTAPA; POWTONGSOOK; MENASVETA *et al.*, 2001; PHANG *et al.*, 2000), bem como torna mais difícil a contaminação do efluente (LOURENÇO, 2006).

Para isso, os peixes foram colocados em uma caixa de 2.000 L com duas partes de salinidade inicial e, a cada 6 horas (h), a salinidade foi aumentada em duas partes até atingir a salinidade 10.

### **3.2.3 *Arraçoamento***

Neste trabalho, todos os peixes cultivados receberam o mesmo tipo de ração comercial com 40% de proteína bruta (PB) e 1 mm de diâmetro. A taxa de arraçoamento foi ajustada de acordo com o peso dos indivíduos (5%), sendo reajustada após cada biometria quinzenal. A alimentação foi fornecida em duas refeições às 7:00 e 17:00 horas, diariamente, com exceção dos dias de biometrias.

### **3.2.4 *Amostragem biométrica***

As biometrias consistiram na coleta de uma amostra de 20% do número de peixes de cada caixa de cultivo de 500 L, para a determinação do comprimento padrão, ou seja, seu tamanho da extremidade da cabeça até a extremidade da coluna vertebral, utilizando um paquímetro com precisão de 0,05 mm e, para a

pesagem dos indivíduos, foi utilizada uma balança digital de bancada com precisão de 0,01 g.

Esse procedimento foi realizado sempre nas primeiras horas da manhã, antes da primeira refeição, com cuidado e rapidez para reduzir o estresse (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007).

Os dados obtidos nas biometrias foram utilizados para estimar os seguintes parâmetros:

Taxa de sobrevivência (S):

$$S(\%) = (n^{\circ} \text{ de peixes final} / n^{\circ} \text{ de peixes inicial}) \times 100$$

Comprimento total (L):

$$L \text{ (cm)} = \text{comprimento final} - \text{comprimento inicial}$$

Peso total (P):

$$P \text{ (g)} = \text{peso final} - \text{peso inicial}$$

Biomassa (B):

$$B \text{ (g caixa}^{-1}\text{)} = \text{peso médio} \times \text{número de peixes}$$

Ganho de biomassa (GB):

$$GB \text{ (g caixa}^{-1}\text{)} = \text{biomassa final} - \text{biomassa inicial}$$

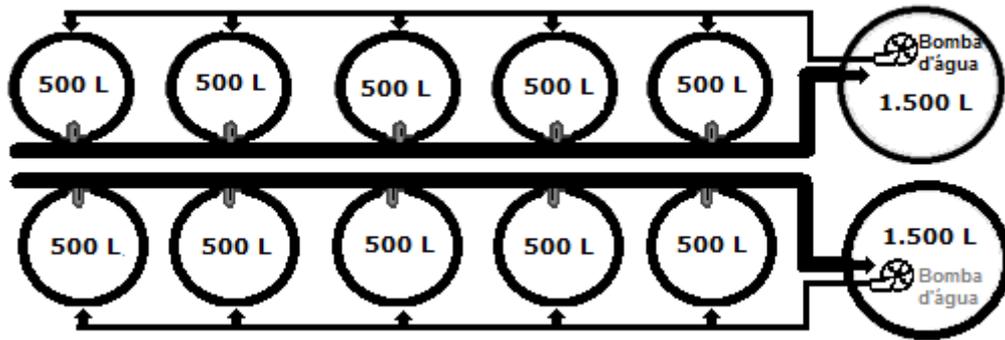
Ganho de peso médio diário (GPD):

$$GPD \text{ (g dia}^{-1}\text{)} = (\text{peso médio final} - \text{peso médio inicial}) / \text{dias de cultivo}$$

### 3.3 Delineamento experimental

Os experimentos deste trabalho foram realizados em um sistema de cultivo externo e um interno. O sistema externo foi alojado em ambiente ensolarado, com iluminância de  $1.450 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , e consistiu de dois módulos, cada um com uma caixa de 1.500 L e cinco caixas de 500 L interligadas por canos de PVC com 25 e 100 mm de diâmetro para permitir a recirculação da água entre estas por bombeamento (Figura 1).

Figura 1 – Desenho esquemático do sistema externo.



Fonte: Arquivo pessoal.

As caixas de 1.500 L foram instaladas abaixo do nível das caixas de 500 L, ou seja, em aberturas escavadas na terra, a fim de realizar a drenagem da água das caixas menores por gravidade para a caixa maior através da tubulação de PVC de 100 mm de diâmetro, enquanto o retorno foi realizado por uma bomba d'água com vazão de  $7.000 \text{ L h}^{-1}$ , pelo encanamento de PVC de 25 mm de diâmetro. Cada caixa de 500 L possuía torneiras com regulação individual.

Na primeira parte do experimento, os peixes, 50 em cada caixa de 500 L, foram cultivados por 28 dias em água verde e doce (VD), proveniente de um tanque de piscicultura, contendo diversas espécies de microalgas, em um dos módulos do sistema externo. Neste, todas as caixas permaneceram abertas e a água foi recirculada continuamente, representando o cultivo de tilápias tradicional (controle), exceto pelo fato de não haver nenhuma renovação de grandes volumes de água, sendo apenas feita a reposição do que foi perdido por evaporação e em pequenos vazamentos do sistema. Para evitar um possível escape dos peixes, as caixas pequenas foram cobertas com uma tela de polietileno com malha de 1 cm.

As microalgas que se desenvolveram neste tratamento foram identificadas em microscópio de bancada com objetiva de 40x, de acordo com as chaves de Bourrelly (1968), no laboratório de planctologia do CEBIAQUA.

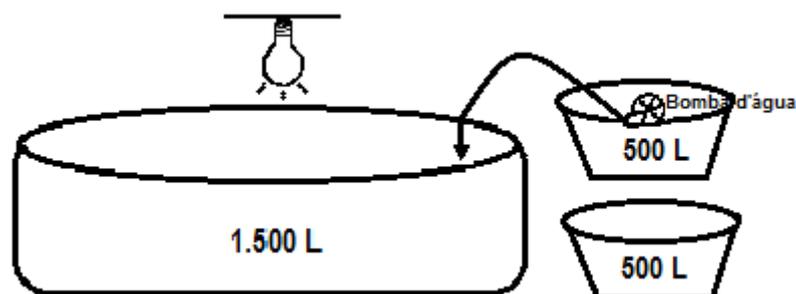
No outro módulo do sistema externo, os alevinos de tilápia foram cultivados na mesma densidade do tratamento anterior em águas claras e doce (CD), ou seja, sem a presença de microalgas nativas. Para isso, as caixas foram tampadas, impossibilitando a penetração da luz solar dentro das mesmas. A água também foi continuamente recirculada nesses 28 dias de cultivo.

Após estes dois primeiros cultivos, foi realizado um terceiro cultivo, também por 28 dias, em um dos módulos do sistema externo. Os alevinos, previamente aclimatados, foram cultivados em água clara adicionada de 10 partes de sal de salina, ou seja, com salinidade 10 (CS), na mesma densidade de estocagem. Neste caso também, todas as caixas permaneceram cobertas para evitar o crescimento indesejado de outras microalgas.

A segunda parte do experimento foi realizada, no sistema interno (SI), subsequentemente a primeira fase deste, e durou 9 dias. O sistema interno consistiu de duas caixas de 500 L e uma piscina com volume útil de 1.500 L (Figura 2). Este sistema foi instalado dentro da área coberta no galpão do CEBIAQUA. A piscina foi provida de iluminação artificial, utilizando uma lâmpada HQI (Halogen Quartz Iodide - halógena de quartzo e iodo) de 400 W com iluminância de  $880 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A luz e aeração foram constantes e a movimentação da água foi auxiliada ainda por uma bomba submersa com vazão de  $1.000 \text{ L h}^{-1}$ .

Os peixes foram cultivados dentro das caixas de 500 L, em água doce na mesma densidade de estocagem e alimentados da mesma forma dos outros cultivos. As caixas pequenas permaneceram cobertas e, a transferência da água das caixas pequenas para a piscina foi realizada utilizando o mesmo tipo de bomba do sistema externo, acoplada a uma mangueira plástica de 25 mm de diâmetro. O efluente transferido para a piscina foi misturado com água do mar com salinidade 45, a fim de obter a água com salinidade 10. Ao atingir o volume de 500 L de efluente na piscina, a cultura-mãe mantida no laboratório com 50 L de *Spirulina platensis* foi inoculada nesta. No dia seguinte, o volume foi aumentado para 1.500 L com a adição de mais efluente, iniciando o tratamento deste pela microalga (SI), semelhante um cultivo estacionário.

Figura 2 – Desenho esquemático do sistema interno.



Fonte: Arquivo pessoal.

A terceira parte do experimento iniciou-se logo após a conclusão do tratamento do efluente no sistema interno (SI). Primeiramente transferiu-se 500 L da cultura da piscina para a caixa de 1.500 L do sistema externo que já continha 1.000 L do efluente drenado de salinidade 10 gerado no terceiro cultivo de tilápia (CS) para ser também tratado pela microalga (tratamento SE). Quando a cultura entrou em fase de crescimento exponencial, o sistema de recirculação foi ligado a fim de se realizar o tratamento do restante do efluente remanescente nas caixas menores.

A caixa de 1.500 L permaneceu aberta durante o dia para receber a insolação e, no período noturno, foi coberta para evitar qualquer entrada de água doce proveniente da chuva. Este tratamento teve duração de 7 dias e a movimentação da água foi realizada inicialmente por aeração e, posteriormente, por uma bomba submersa com vazão de 7.000 L h<sup>-1</sup>.

### **3.4 Tratamento dos efluentes de tilápia pela *Spirulina platensis***

As porcentagens de remoção e/ou acumulação dos nutrientes dos efluentes gerados nos cultivos de tilápia (VD, CD e CS) e nos tratamentos do sistema interno (SI) e externo (SE), foram calculadas pela equação abaixo de acordo com os pesquisadores Henry-Silva e Camargo (2008):

$$R(\%) = 100 - \left[ \frac{(100 \times \text{concentração de nutriente no efluente tratado})}{\text{concentração de nutriente no efluente}} \right]$$

### **3.5 Parâmetros abióticos**

Os parâmetros abióticos foram realizadas de acordo com o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2000), sendo determinados os seguintes parâmetros:

#### **3.5.1 Potencial hidrogeniônico (pH)**

A medição do pH foi realizada diariamente através de um medidor de pH de bancada digital. O eletrodo foi inserido diretamente em beakers contendo

amostras de 100 mL de cada caixa dos cultivos. A leitura foi feita com precisão de duas casas decimais.

### **3.5.2 Temperatura**

A temperatura foi mensurada diariamente pela sonda de temperatura de um oxímetro portátil. O eletrodo da sonda foi introduzido diretamente em cada caixa e a leitura foi expressa em °C, com precisão de uma casa decimal.

### **3.5.3 Oxigênio dissolvido**

O oxigênio dissolvido também foi mensurado diariamente através de um oxímetro portátil. O eletrodo da sonda foi introduzido diretamente em cada caixa e a leitura foi expressa em  $\text{mg L}^{-1}$ , com precisão de duas casas decimais.

### **3.5.4 Salinidade**

A salinidade dos efluentes foi medida com refratômetro portátil, de escala de 0 a 100%, diariamente, utilizando três gotas de cada amostra na superfície de leitura do aparelho.

### **3.5.5 Amônia ( $\text{NH}_3$ )**

A determinação da amônia foi realizada a cada 5 dias durante os cultivos de tilápias (VD, CD e CS) e a cada 2 dias durante os tratamentos dos efluentes pela *Spirulina* (SI e SE). Para isso, foram coletados 25 mL da água de cada caixa e adicionadas 3 gotas de álcool polivinil em cada amostra, que foram agitadas para uma perfeita homogeneização. Posteriormente, foram acrescentadas algumas gotas de estabilizador mineral de acordo com a salinidade da água e às amostras foram novamente homogeneizadas. Em seguida, 1 mL do reagente de *Nessler* foi adicionado a cada amostra que, após nova agitação, foi deixada em repouso por 1 minuto (tempo de reação) para, finalmente, procedeu-se a leitura da concentração de amônia total solúvel, utilizando espectrofotômetro de leitura direta em comprimento de onda de 425 nm, sendo os valores expressos em  $\text{mg L}^{-1}$ . Para zerar

a leitura do aparelho, foi utilizado um “branco” feito com 25 mL de água destilada, com a adição dos mesmos reagentes utilizados nas demais amostras.

### **3.5.6 Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ )**

Para a quantificação dos nitritos, foram coletados 25 mL da água de cada caixa e acrescido, a cada amostra, o teor de um pacote do reagente *NitriVer® 3 Nitrite Reagent*. Posteriormente, a solução foi homogeneizada, deixada em repouso por 15 minutos (tempo de reação) e realizada a leitura no espectrofotômetro, utilizando um comprimento de onda de 507 nm. Para zerar a leitura do aparelho, amostras da água de cada tanque, foram utilizadas como “branco”. Essa leitura foi realizada a cada cinco dias durante os cultivos de tilápias (VD, CD e CS) e a cada dois dias durante os tratamentos dos efluentes pela *Spirulina* (SI e SE).

### **3.5.7 Nitratos ( $\text{NO}_3^-$ )**

Para a dosagem de nitratos, foram coletados 25 mL da água de cada caixa e adicionado, a cada amostra, o conteúdo de um pacote do reagente *NitraVer® 5 Nitrate Reagent*. Após a adição do reagente, as soluções foram agitadas durante 1 minuto seguido de 5 minutos de repouso (tempo de reação). Posteriormente, foram realizadas as leituras no espectrofotômetro, utilizando um comprimento de onda de 500 nm. Para zerar a leitura do aparelho, amostras de água de cada caixa foram utilizadas como “branco”. Essa leitura também foi realizada a cada 5 dias durante os cultivos de tilápias (VD, CD e CS) e a cada 2 dias durante os tratamentos dos efluentes pela *Spirulina* (SI e SE).

### **3.5.8 Fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ )**

Para a determinação de fosfatos totais, 25 mL da água de cada caixa foram coletados e, a cada amostra, foi adicionado o conteúdo de um pacote do reagente *PhosVer® 3 Phosphate*. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas por agitação e deixadas em repouso por 2 minutos (tempo de reação). A leitura no espectrofotômetro foi feita utilizando um comprimento de onda de 890 nm. Para zerar a leitura do aparelho, amostras da água de cada caixa foram utilizadas como

“branco”. Essa leitura também foi realizada a cada cinco dias durante os cultivos de tilápias (VD, CD e CS), e a cada dois dias durante os tratamentos dos efluentes pela *Spirulina* (SI e SE).

### **3.6 Análises Estatísticas**

A comparação dos parâmetros zootécnicos dos peixes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de dois critérios, e as médias destes, quando significativamente diferentes, foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), com o auxílio do programa BioEstat 4.0;

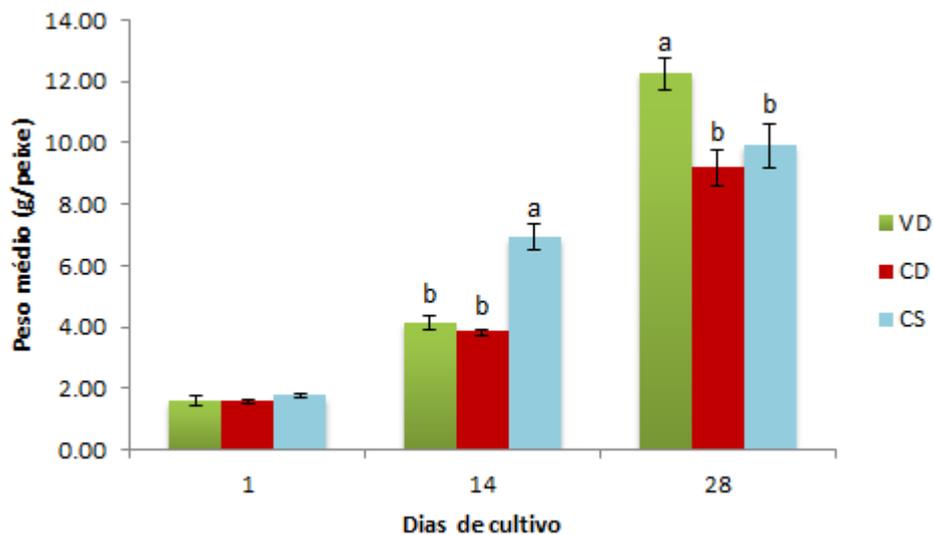
As médias, desvios padrões e gráficos, dos parâmetros zootécnicos, dos parâmetros abióticos e das absorbâncias e densidades celulares das microalgas foram obtidos com o auxílio do programa Excel 2010.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Desempenho dos alevinos no sistema externo

As tilápias são muito hábeis no aproveitamento dos alimentos naturais, principalmente do plâncton e, de acordo com Kubitza (1999), em viveiros com baixa renovação de água, 50 a 70% do crescimento destes peixes é atribuído ao consumo desse tipo de alimento, mesmo com o fornecimento de ração. Esta afirmação corrobora os resultados obtidos neste trabalho, onde o peso (Figura 3) e comprimento final (Tabela 2) dos alevinos de tilápias, dos cultivos onde não havia fitoplâncton (CD e CS) foram significativamente inferiores (CD:  $9,19 \pm 3,53$  g e L =  $6,35 \pm 0,86$  cm; CS: P =  $9,90 \pm 3,98$  g e L =  $6,67 \pm 0,80$  cm) ao crescimento dos peixes cultivados em água verde (VD: P =  $12,25 \pm 3,87$  g e L =  $7,07 \pm 0,71$  cm), que continha a alimentação natural além da ração ofertada.

Figura 3 – Crescimento em peso dos alevinos de tilápia cultivados em águas verdes (VD), clara doce (CD) e clara salobra (CS).



Legenda: VD – Água verde com salinidade zero; CD – Água doce sem microalga; CS – Água sem microalga com salinidade 10. \*Letras diferentes evidenciam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). Fonte: Arquivo pessoal.

As taxas de sobrevivência nos cultivos em VD ( $98,0 \pm 0,0\%$ ) e CD ( $94,7 \pm 2,4\%$ ) não diferenciaram estatisticamente (Tabela 2). Porém, estas foram significativamente superiores à sobrevivência dos peixes em CS ( $72,0 \pm 4,0\%$ ). Esses resultados influenciaram diretamente nos ganhos de biomassa médios

obtidos em cada caixa, onde em VD foi de  $519,2 \pm 190,4$  g caixa<sup>-1</sup>, em CD foi de  $356,2 \pm 172,6$  g caixa<sup>-1</sup>, enquanto que em CS foi de apenas  $269,0 \pm 143,0$  g caixa<sup>-1</sup>. Apesar disso, não houve diferenças significativas entre os demais parâmetros de crescimento dos peixes nos cultivos CD e CS (Tabela 2), mostrando que a salinidade 10 é bem suportada pela tilápia.

Tabela 2 – Avaliação do desempenho zootécnico dos alevinos de tilápia do Nilo na presença (VD) e na ausência de microalgas (CD e CS).

| Parâmetro zootécnico                              | Cultivo                    |                            |                            |
|---------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                                   | VD                         | CD                         | CS                         |
| Sobrevivência (%)                                 | 98,0 ± 0,0 <sup>a</sup>    | 94,7 ± 2,4 <sup>a</sup>    | 72,0 ± 4,0 <sup>b</sup>    |
| Tamanho inicial (cm)                              | 3,66 ± 0,44 <sup>a</sup>   | 3,66 ± 0,43 <sup>a</sup>   | 3,82 ± 0,32 <sup>a</sup>   |
| Tamanho final (cm)                                | 7,07 ± 0,71 <sup>a</sup>   | 6,35 ± 0,86 <sup>b</sup>   | 6,67 ± 0,80 <sup>b</sup>   |
| Crescimento total (cm)                            | 3,41 ± 0,78 <sup>a</sup>   | 2,68 ± 1,02 <sup>b</sup>   | 2,85 ± 0,84 <sup>b</sup>   |
| Peso médio inicial (g peixe <sup>-1</sup> )       | 1,62 ± 0,60 <sup>a</sup>   | 1,57 ± 0,52 <sup>a</sup>   | 1,75 ± 0,43 <sup>a</sup>   |
| Peso médio final (g peixe <sup>-1</sup> )         | 12,25 ± 3,87 <sup>a</sup>  | 9,19 ± 3,53 <sup>b</sup>   | 9,90 ± 3,98 <sup>b</sup>   |
| Ganho de peso médio (g peixe <sup>-1</sup> )      | 10,63 ± 3,88 <sup>a</sup>  | 7,62 ± 3,64 <sup>b</sup>   | 8,15 ± 3,97 <sup>b</sup>   |
| Ganho de peso médio diário (g dia <sup>-1</sup> ) | 0,38 ± 0,14 <sup>a</sup>   | 0,27 ± 0,13 <sup>b</sup>   | 0,29 ± 0,14 <sup>b</sup>   |
| Ganho de biomassa (g caixa <sup>-1</sup> )        | 519,2 ± 190,4 <sup>a</sup> | 356,2 ± 172,6 <sup>b</sup> | 269,0 ± 143,0 <sup>c</sup> |

Legenda: VD – Água verde com salinidade zero; CD – Água doce sem microalga; CS – Água sem microalga com salinidade 10. \*Letras diferentes evidenciam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). Fonte: Arquivo pessoal.

A taxa de sobrevivência no cultivo em águas verdes (VD) foi superior à encontrada por Coelho (2012) em tanques com a mesma densidade de estocagem deste trabalho ( $85,0 \pm 10,0\%$ ) e ligeiramente superior às obtidas por Silva *et al.* (2003) em tanques *raceway* (95,5 e 96,9%) com trocas d'água a cada 30 (0,09 juvenis L<sup>-1</sup>) e 60 minutos (0,12 juvenis L<sup>-1</sup>).

Esses satisfatórios resultados também se devem aos parâmetros físicos temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade, que mantiveram dentro das faixas adequadas para a espécie, e relativamente estáveis durante todo o experimento (Tabela 3). De acordo com Lourenço (2006), esses são alguns dos parâmetros mais importantes para o controle da qualidade de água e são responsáveis pelo equilíbrio do crescimento das algas e, por consequência, dos peixes também.

Tabela 3 – Valores médios diários de temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade durante o cultivo dos peixes no sistema externo.

| Parâmetro                | Cultivo     |             |             |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                          | VD          | CD          | CS          |
| Temperatura (°C)         | 32,2 ± 0,1  | 32,0 ± 0,2  | 32,1 ± 0,1  |
| pH                       | 8,48 ± 0,12 | 7,59 ± 0,09 | 8,17 ± 0,08 |
| OD (mg L <sup>-1</sup> ) | 6,1 ± 0,4   | 5,6 ± 0,1   | 6,4 ± 0,1   |
| Salinidade               | 0 ± 0       | 0 ± 0       | 10 ± 0      |

Legenda: VD – Água verde com salinidade zero; CD – Água doce sem microalga; CS – Água sem microalga com salinidade 10. Fonte: Arquivo pessoal.

As temperaturas médias nos cultivos VD, CD e CS foram 32,2 ± 0,1 °C; 32,0 ± 0,2 °C e 32,1 ± 0,1 °C, respectivamente, ficando bem próximas da faixa de conforto térmico para as tilápias que é de 27 a 32 °C, segundo Kubitzka (2000).

A faixa de pH ideal para o cultivo de peixes, segundo Proença e Bittencourt (1994), está entre 7,0 e 8,0, mas valores entre 6,0 e 9,0, podem ser considerados satisfatórios para a aquicultura. Os valores de pH de VD foi de 8,48 ± 0,12; em CD 7,59 ± 0,09, e CS foi 8,17 ± 0,08, ficando dentro dos níveis aceitáveis para manter o bom crescimento da tilápia. Para o CONAMA (BRASIL, 2005), resolução nº 357, os valores de pH para o cultivo de organismos aquáticos em corpos de água doce estão entre 6,0 e 9,0, e para água salobra estão entre 6,5 e 8,5. O pH mais elevado foi encontrado no cultivo em águas verdes, e já era esperado, devido ao consumo de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) quando as microalgas realizam a fotossíntese (ALAVA; MELLO; WAGENER, 1997).

Os valores de oxigênio dissolvido (OD) de todos os cultivos ficaram acima de 5,6 mg L<sup>-1</sup> (VD: 6,1 ± 0,4 mg L<sup>-1</sup>; CD: 5,6 ± 0,1 mg L<sup>-1</sup>; CS: 6,4 ± 0,1 mg L<sup>-1</sup>) devido à forte oxigenação promovida pelo sistema de aeração. Para a maioria dos peixes tropicais, concentrações de OD inferiores a 1,0 mg L<sup>-1</sup> são suportáveis e concentrações superiores a 3,0 mg L<sup>-1</sup> são confortáveis, porém estes crescem melhor quando o OD está acima de 5,0 mg L<sup>-1</sup> (OSTRENSKY; BOEGER, 1998). Para Kubitzka (2000), níveis de OD acima de 3,5 mg L<sup>-1</sup> são suficientes para o cultivo tilápias, pois abaixo desses valores estas ficam susceptíveis a doenças e apresentam desempenho reduzido.

Segundo KUBITZKA (1998c), numa piscicultura, o consumo de oxigênio varia com a espécie, o tamanho, o estado nutricional, o grau de atividade dos peixes, a concentração de OD e a temperatura da água, entre outros.

A salinidade do cultivo CS foi mantida em 10 e, apesar das tilápias serem organismos de água doce, crescem e se reproduzem muito bem em ambientes de águas salobras de até 14 partes de sal (KUBITZA, 2005). Já nos cultivos VD e CD a água utilizada foi doce com salinidade zero (Tabela 3). O CONAMA, em sua resolução nº 357, classifica em corpos de águas doces, águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 e corpos de água salobra, como aquelas que possuem uma salinidade entre 0,5 e 30 (BRASIL, 2005).

## **4.2 Produção dos efluentes de tilápia**

### **4.2.1 Cultivo das tilápias em água verde doce (VD)**

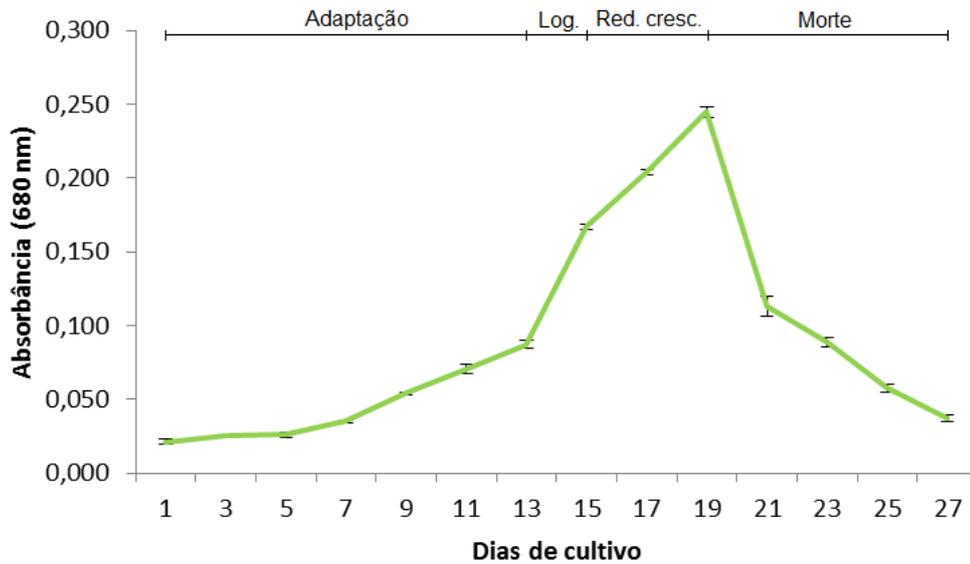
As absorvâncias da água verde obtidas durante o cultivo dos peixes (Figura 4) mostraram, claramente, as principais etapas de desenvolvimento da comunidade fitoplanctônica neste.

Lourenço (2006) descreve que a curva de crescimento algal em um cultivo estacionário, apresenta 5 fases de crescimento. A primeira é uma fase de adaptação algal ao novo meio de cultivo. A segunda é a fase de crescimento exponencial ou logarítmico. Na 3ª, denominada de fase de redução do crescimento, há um decréscimo relativo na taxa de crescimento devido à redução das concentrações dos nutrientes dissolvidos. Na sequência, a 4ª fase é chamada de estacionária e é caracterizada por atingir o rendimento máximo do cultivo. Finalmente, a 5ª fase é assinalada pelo declínio, senescência e morte da cultura.

Como podemos observar na figura 4, as microalgas presentes na água verde levaram cerca de 13 dias para se estabelecerem e se adaptar ao sistema. Em seguida, vê-se claramente a fase de crescimento exponencial, caracterizada pelo aumento abrupto na densidade celular, que durou apenas dois dias (do dia 13 ao 15). Posteriormente nota-se uma leve redução na taxa de crescimento celular (do dia 15 ao 19). Como não houve nenhuma renovação de água (cultivo estacionário), a curva de crescimento entrou logo em declínio com 19 dias de cultivo, decorrente da morte das células algais. Dessa forma, não foi observada a fase estacionária da cultura. Segundo Lourenço (2006), o intervalo de tempo de cada fase é variável, pois dependem de vários fatores como a espécie da alga cultivada, a concentração dos nutrientes disponíveis, a intensidade luminosa, dentre outros.

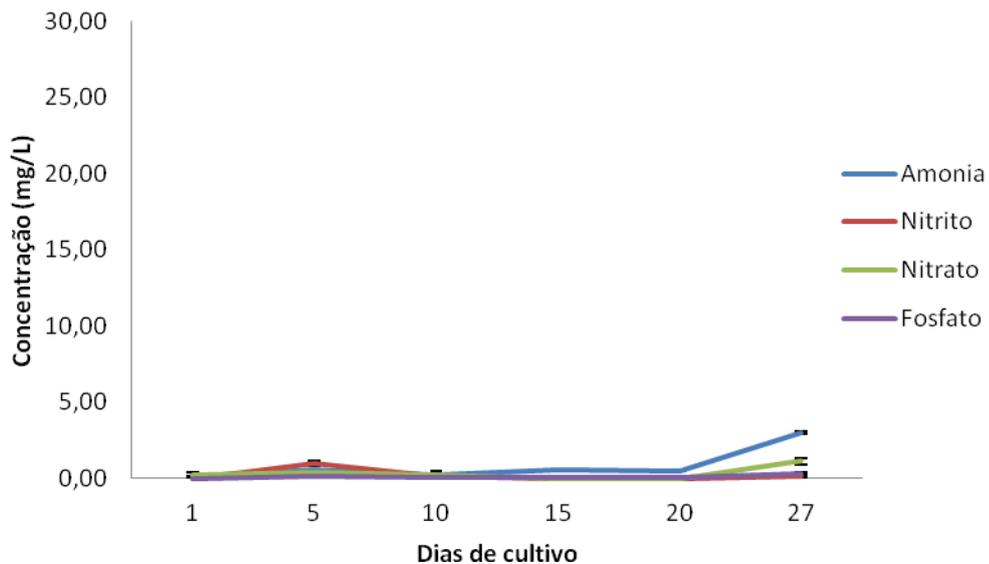
Ao observarmos as concentrações de nutrientes durante o cultivo dos peixes na água verde (Figura 5) vemos que, inicialmente, as concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos se encontravam baixas:  $0,11 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $0,00 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $0,26 \pm 0,09 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,01 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

Figura 4 – Curva de crescimento populacional da comunidade fitoplanctônica, expressa em valores de densidade óptica (Abs de 680 nm) durante o cultivo dos peixes na água verde doce (VD).



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 5 – Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante o cultivo dos peixes em águas verdes (VD).



Fonte: Arquivo pessoal.

Após 5 dias de cultivo, as concentrações de nutrientes já se encontravam maiores devido, principalmente, a decomposição dos restos de ração não consumidos e excretas dos peixes (KUBITZA, 1998a).

No entanto, pode-se também observar que, nos cinco dias que se seguiram a este aumento de nutrientes, estas concentrações foram reduzidas para valores semelhantes aos iniciais ou até inferiores. E mantiveram-se relativamente estáveis durante o décimo e vigésimo dia de cultivo (amônia:  $0,53 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$ ; nitritos:  $0,00 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$ ; nitratos:  $0,00 \pm 0,00 \text{ mg L}^{-1}$ ; fosfatos:  $0,07 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ ), provavelmente pelos nutrientes terem sido produzidos na mesma proporção em que foram consumidos pelas microalgas.

Estas reduções e estabilidade dos níveis de nutrientes ocorreram justamente durante a fase de adaptação e crescimento exponencial das microalgas presentes no sistema (Figura 4), ou seja, tal crescimento da cultura foi proporcionado por meio da assimilação dos nutrientes pelas microalgas (LOURENÇO, 2006).

Vários relatos afirmam que há uma relação direta entre a multiplicação celular e a redução dos nutrientes presentes na água de cultivo através da assimilação pelas microalgas (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004; LOURENÇO, 2006; SILVA, 2006; COELHO, 2012).

Por outro lado, a redução dos níveis de nutrientes resultou também em uma redução na densidade celular das microalgas, caracterizando a fase de morte, já que o cultivo era do tipo estacionário, ou seja, sem a adição de mais nutrientes ao meio (LOURENÇO, 2006). Lefebvre *et al.* (2004) explicam que para se cultivar microalgas ao ar livre é necessário manter um estado de equilíbrio entre o nível de biomassa e as concentrações de nutrientes na água, para que a assimilação destes seja a maior possível, sem reduzi-los a ponto de afetar fortemente a taxa de crescimento algal.

Com a morte das microalgas, os níveis de nutrientes, principalmente amônia e nitratos sofreram um aumento significativo, pois passaram de uma forma biogênica (incorporados na biomassa algal) para voltar à sua forma solúvel na água. De acordo com Kubitza (1998b), Ostrensky e Boeger (1998), a morte do fitoplâncton também é uma fonte de entrada de amônia no ambiente aquático, além dos produtos de excreção dos peixes e decomposição de fezes e restos de ração não consumidos.

Dessa forma, para manter os níveis de nutrientes dentro de valores aceitáveis para o cultivo de peixes em águas verdes é sempre necessário realizar a renovação da água (CHUNTAPA; POWTONGSOOK; MENASVETA, 2003) para a retirada do excesso de microalgas antes de sua morte. Caso contrário, ocorrerá também a mortalidade dos peixes, pois a produção de oxigênio será comprometida e com a decomposição da matéria orgânica, mais oxigênio ainda será consumido (KUBITZA, 1998b). Esse procedimento é obrigatório toda vez que ocorre um florescimento algal no reservatório, visto que é impossível a separação das microalgas da água de cultivo dos peixes. No presente trabalho, o cultivo dos peixes foi encerrado após a morte das microalgas.

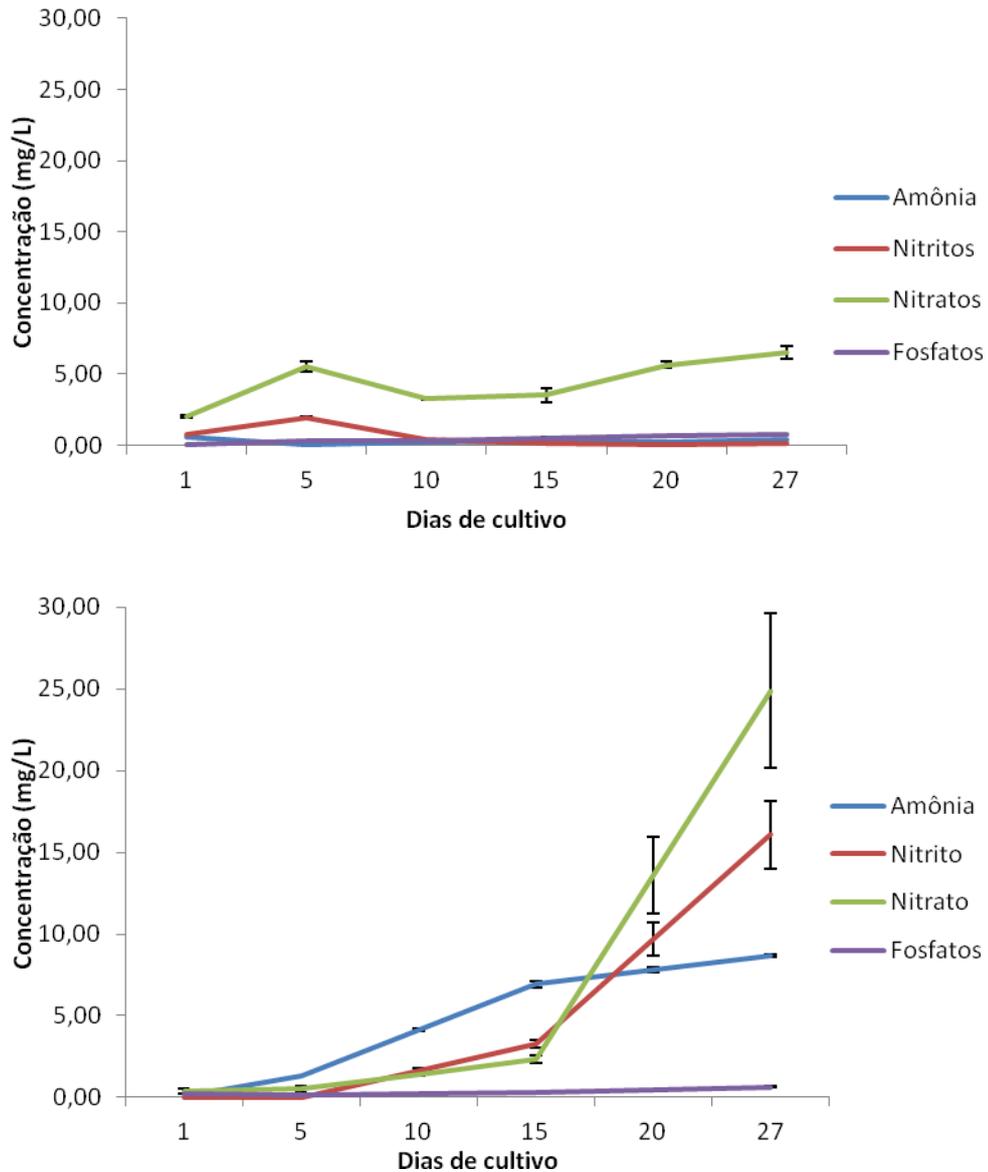
A análise das microalgas presentes na água verde, em microscópio, revelou a ocorrência de 13 espécies: uma espécie da classe Cyanophyceae (*Merismopedia* sp.); duas diatomáceas (*Gomphonema* sp. e *Navicula* sp.); e dez espécies da classe Chlorophyceae (*Desmodesmus protuberans*, *Desmodesmus* sp., *Scenedesmus* sp, *Oocystes* sp., *Chlorella* sp., *Golenkinia* sp., *Coelastrum* sp., *Tetraedron* sp., *Monoraphidium* sp. e *Kirchneriella obesa*).

#### **4.2.2 Cultivo das tilápias em água clara doce (CD) e salobra (CS)**

Como as caixas dos cultivos CD e CS permaneceram fechadas, isso impediu a entrada de luz e, por consequência, impediu a presença de microalgas durante o cultivo dos peixes. Esse fato pode ser comprovado através das absorvâncias médias de  $0,008 \pm 0,00$  e  $0,011 \pm 0,00$ , respectivamente, observadas durante os cultivos. Esses valores não foram totalmente iguais a zero devido ao material orgânico (restos de ração e dejetos) que estavam dissolvidos na água e foram detectados pelo espectrofotometro.

Ao contrário dos resultados encontrados durante o cultivo dos peixes em água verde (VD), as concentrações dos nutrientes nos cultivos onde não havia a presença de microalgas (CD e CS), tenderam a aumentar no sistema desde o início do cultivo (Figura 6).

Figura 6 – Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante os cultivos dos peixes em água clara e doce (CD), acima, e em água clara com salinidade 10 (CS), abaixo.



Fonte: Arquivo pessoal.

A amônia que em CD inicialmente possuía concentração de  $0,57 \pm 0,01$   $\text{mg L}^{-1}$ , e com os 27 dias de cultivo, houve uma leve redução (26,3%) finalizando com  $0,42 \pm 0,02$   $\text{mg L}^{-1}$ . É provável que essas reduções foram provocadas pela ação de bactérias nitrificantes, responsáveis pelo processo de nitrificação onde a amônia é oxidada a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e depois a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (KUBITZA, 1998c).

Em CS a concentração inicial de amônia era de  $0,09 \pm 0,01$   $\text{mg L}^{-1}$ , com 15 dias de cultivo alcançou  $6,94 \pm 0,20$   $\text{mg L}^{-1}$  e, com mais 12 dias, chegou a  $8,70 \pm 0,07$   $\text{mg L}^{-1}$ , um nível considerado altamente tóxico para a maioria dos peixes

tropicais, no qual é recomendável que sua concentração não exceda  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  (COELHO, 2012), pois valores em torno de  $2,4 \text{ mg L}^{-1}$  podem ser letais para os peixes durante a exposição por curto período levando a uma diminuição do crescimento e redução da tolerância dos peixes às doenças (KUBITZA, 1998b). O ideal é que sua concentração total seja igual a zero ou inferior a  $0,15 \text{ mg L}^{-1}$  (OSTRENSKY; BOEGER, 1998).

Segundo Boyd (2007), a amônia é o principal resíduo primário produzido pelos peixes a partir da digestão das proteínas. Os níveis de tolerância dependem da espécie de peixe cultivada, da temperatura e do pH da água; em geral, o nível suportável para amônia é de  $0,5$  a  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Santos (2008) alega que as tilápias do Nilo apresentam boa tolerância às altas concentrações de amônia, quando comparadas à maioria dos peixes cultivados. Araújo *et al.* (2010) afirmam que as tilápias são facilmente adaptáveis ao cultivo intensivo, pois toleram baixos níveis de oxigênio dissolvido e elevadas concentrações de amônia na água. Felizatto, Starling e Sousa (2000), por exemplo, concluíram que é viável o cultivo de *Oreochromis niloticus* em efluentes de lagoas de estabilização, com teores de amônia de até  $8 \text{ mg L}^{-1}$ . No entanto, em se tratando de pisciculturas comerciais, o bem estar animal tem que ser levado em consideração para que a conversão alimentar seja eficiente e o retorno financeiro garantido.

Em CD, onde as concentrações iniciais encontravam-se relativamente baixas ( $0,75 \pm 0,01 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ;  $2,04 \pm 0,11 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$  e  $0,034 \pm 0,009 \text{ mg PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ ), com apenas 5 dias do cultivo alcançaram  $1,92 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$  de nitritos;  $5,50 \pm 0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de nitratos e  $0,282 \pm 0,051 \text{ mg L}^{-1}$  de fosfatos. E, no último dia de cultivo, os valores chegaram a  $0,13 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $6,52 \pm 0,43 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,778 \pm 0,028 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

Nota-se que entre o primeiro e o quinto dia de cultivo, para a amônia, e entre o 5º e o 15º dia de cultivo para os nitritos e nitratos, houve uma redução em suas concentrações, possivelmente também por conta da ação das bactérias nitrificantes. Mas, logo a seguir a esses períodos, voltou a subir devido as cargas destes nutrientes terem ultrapassado a capacidade de suporte das bactérias em oxidar todas as formas nitrogenadas.

Os valores de nitritos, nitratos e fosfatos de CS, que também se encontravam baixos no início do cultivo ( $0,003 \pm 0,000 \text{ mg NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ ;  $0,40 \pm 0,16 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$  e  $0,251 \pm 0,009 \text{ mg PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ ), após 15 dias, já haviam se elevado para  $3,26$

$\pm 0,24 \text{ mg L}^{-1}$  de nitritos;  $2,33 \pm 0,21 \text{ mg L}^{-1}$  de nitratos e  $0,284 \pm 0,012 \text{ mg L}^{-1}$  de fosfatos. E, no último dia de cultivo, os valores culminaram em  $16,08 \pm 2,09 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $24,90 \pm 4,75 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,637 \pm 0,028 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

Os nitritos, são altamente tóxicos para organismos aquáticos, e a exposição contínua a níveis de 0,3 a 0,5  $\text{mg L}^{-1}$  podem causar redução no crescimento e na resistência dos peixes às doenças. Em água doce, dependendo da espécie, concentrações de nitrito acima de 0,7  $\text{mg L}^{-1}$  podem causar mortandades massivas de peixes (KUBITZA, 1998b).

No entanto, bactérias nitrificantes transformam rapidamente o nitrito presente na água em nitrato (OSTRENSKY; BOEGER, 1998), quando em águas bem oxigenadas (SIPAÚBA-TAVARES; DONADON; MILAN, 2011; CHUNTAPA; POWTONGSOOK; MENASVETA, 2003). E sua concentração tende a acumular-se, uma vez que não é convertido em condições aeróbias (MENASVETA *et al.*, 2001).

Dentre os compostos nitrogenados, o nitrato é o menos tóxico e, por isso, não costuma representar problemas para a piscicultura, passando a ser tóxico para os peixes quando sua concentração na água ultrapassa 0,5  $\text{mg L}^{-1}$  (OSTRENSKY; BOEGER, 1998). Entretanto, de acordo com Kubitza (2006), apesar do nitrato não ser aparentemente tóxico para os peixes, mesmo em elevadas concentrações, é aconselhável que sua concentração fique abaixo dos 50  $\text{mg L}^{-1}$ .

O CONAMA, na resolução nº 357, determina para o cultivo de organismos em água doce um teor máximo de 1,0  $\text{mg L}^{-1}$  de nitrito e 10,0  $\text{mg L}^{-1}$  de nitratos. No entanto, para a água salobra, os teores máximos são de 0,07 e 0,40  $\text{mg L}^{-1}$  para nitritos e nitratos, respectivamente. Para os corpos lânticos de água doce, o fosfato total deve se limitar a 0,030  $\text{mg L}^{-1}$  e a 0,124  $\text{mg L}^{-1}$  para os corpos de água salobra (BRASIL, 2005).

Todos os altos níveis de nutrientes observados ao final do cultivo dos peixes em águas claras na salinidade 10 (CS) ficaram fora dos valores recomendados e, certamente, justificam os 28% de mortalidade de seus peixes, pois quando os peixes foram cultivados em águas verdes, os níveis de nutrientes foram controlados até a morte das microalgas (Figuras 4 e 5) e ocorreu somente 2% de mortalidade (Tabela 2).

### 4.3 Tratamento dos efluentes de tilápia pela *Spirulina platensis*

#### 4.3.1 Tratamento do efluente com *Spirulina* em ambiente interno (SI)

O tratamento (SI) apresentou uma curva de crescimento de *S. platensis* com as fases de adaptação, crescimento exponencial, redução do crescimento relativo, estacionário e de declínio bem definidas (Figura 7). Além disso, apresentou rápidas taxas de reduções dos nutrientes presentes no efluente (Figura 8).

Figura 7 – Curva de crescimento de *S. platensis* durante o tratamento dos efluentes de tilápia no sistema interno (SI).

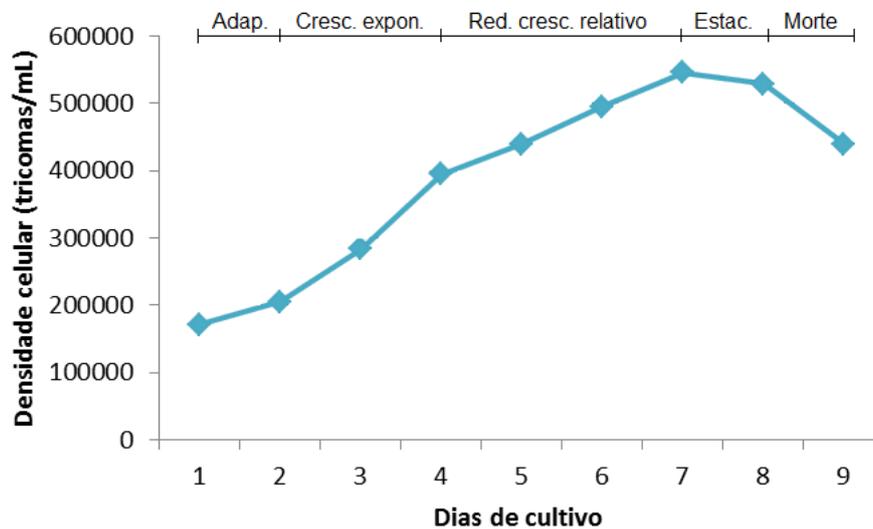
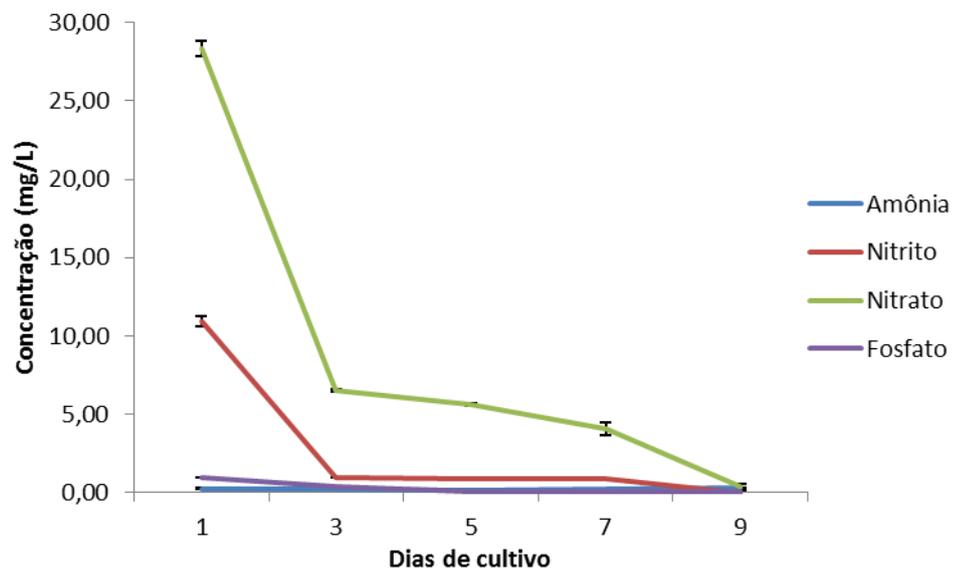


Figura 8 – Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante o tratamento dos efluentes de tilápia pela *Spirulina* no sistema interno (SI).



Fonte: Arquivo pessoal.

A cultura iniciou com aproximadamente 170 mil tricomas mL<sup>-1</sup> e ficou em adaptação por somente um dia quando atingiu a contagem de 200 mil tricomas mL<sup>-1</sup>. Em seguida, a cultura entrou em crescimento exponencial e duplicou sua densidade com mais dois dias de cultivo, alcançando a contagem de aproximadamente 400 mil tricomas mL<sup>-1</sup> ao final dessa fase.

Após este momento, a taxa de crescimento populacional reduziu e, ao final de mais 3 dias, a cultura atingiu a contagem máxima de 550 mil tricomas mL<sup>-1</sup>, durante a fase estacionária do crescimento nessa cultura, que logo em seguida, passou para a fase de declínio.

Lourenço (2006) descreve que em um cultivo estacionário, as microalgas são inoculadas em um meio de cultura e nenhum novo meio é adicionado a este, a partir daí os nutrientes presentes tendem a ir diminuindo e, se nenhuma nova quantidade de nutrientes for adicionada, ocorre a morte das células.

A densidade celular máxima obtida nesta cultura resultou na produção de 0,22 g L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. platensis* e uma produtividade máxima de 0,02 g L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Olguín *et al.* (2001), estudando o cultivo de *Spirulina* em águas residuais de suínos, conseguiram obter altas produtividades (0,62 e 0,77 g L<sup>-1</sup>) de biomassa seca variando a intensidade luminosa e o tempo de cultivo.

Andrade e Costa (2008) realizaram cultivos autotróficos com *S. platensis* usando melaço e obtiveram biomassa e produtividade máximas de 2,83 ± 0,13 g L<sup>-1</sup> e 0,098 ± 0,015 g L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, respectivamente, utilizando 0,50 g L<sup>-1</sup> de melaço líquido. Vale ressaltar que os níveis de nutrientes utilizados nesses dois cultivos foram bem acima dos utilizados no presente experimento.

A produção de biomassa de *S. platensis* aumenta com um aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultivo (RANGEL-YAGUI *et al.*, 2004) e, segundo Derner *et al.* (2006), a amônia é o composto mais facilmente incorporado pelas microalgas. No entanto, quando ela não está mais disponível, as cianobactérias utilizam outras fontes de nitrogênio como nitritos, nitratos e o próprio nitrogênio gasoso (MARKOU; GEORGAKAKIS, 2011).

Markou e Georgakakis (2011) alegam que uma grande desvantagem na utilização de águas residuárias como meio de cultivo para microalgas está na ampla variação em sua composição, ainda que esta seja obtida da mesma origem. No entanto, estes mesmos pesquisadores mostraram que o crescimento da *Spirulina* em águas residuais ainda assim é superior ao crescimento obtido em meio sintético.

Tabela 4 – Valores de concentrações iniciais, finais e de redução total obtidos no tratamento dos efluentes de tilápia no sistema interno (SI); e valores máximos permissíveis determinados pela Resolução nº 357/2005 do CONAMA, a fim de estabelecer condições de qualidade de água para corpos de água salobra.

| Parâmetro Inorgânico | Inicial (mg L <sup>-1</sup> ) | Final (mg L <sup>-1</sup> ) | Redução (%) | CONAMA Água salobra – Classe I* |
|----------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------|---------------------------------|
| Amônia               | 0,26 ± 0,00                   | 0,21 ± 0,01                 | 19,8        | 0,40                            |
| Nitritos             | 10,91 ± 0,34                  | 0,00 ± 0,00                 | 100         | 0,07                            |
| Nitratos             | 28,33 ± 0,49                  | 0,40 ± 0,13                 | 98,6        | 0,40                            |
| Fosfatos             | 0,96 ± 0,01                   | 0,05 ± 0,00                 | 94,8        | 0,124                           |

Classe I\*: Padrões para corpos de água salobras onde hajam: recreação de contato; proteção das comunidades aquáticas; aquicultura e atividade de pesca; abastecimento humano após tratamento convencional ou avançado; e pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo.

Fonte: Arquivo pessoal.

Assim, como podemos observar na figura 8 e tabela 4, as microalgas foram capazes de reduzir em 91,3% as concentrações de nitrito (de 10,91 ± 0,34 mg L<sup>-1</sup> para 0,95 ± 0,01 mg L<sup>-1</sup>) com três dias de cultivo, atingindo 100% de redução com os 9 dias de tratamento. As concentrações de nitratos foram reduzidas em 96,8% e as de fosfatos em 95% ao longo dos 9 dias de cultivo. Como a concentração de amônia já se encontrava muito baixa, praticamente não se alterou.

Dessa forma, no tratamento dos efluentes de tilápia do Nilo com *Spirulina* no sistema interno (SI), a microalga foi capaz reduzir a níveis bem próximos de zero as concentrações dos principais nutrientes e tornar a água própria para sua reutilização no cultivo dos peixes ou para o descarte em um corpo d'água receptor e sem nenhum tipo de impacto negativo, pois se encontra com valores dentro dos estabelecidos como referência pela resolução nº 357 do CONAMA (BRASIL, 2005).

Cultivos internos são mais facilmente controlados e, devido às diferenças na iluminação e fotoperíodo, podem apresentar diferentes respostas (SABOYA, 2010), especialmente quando comparados com cultivos externos. Além disso, a *S. platensis* pode variar sua taxa de crescimento de acordo com o meio de cultivo utilizado e das condições do ambiente externo (MULITERNO *et al.*, 2005), bem como, variar sua composição bioquímica (HSIEH; WU, 2009).

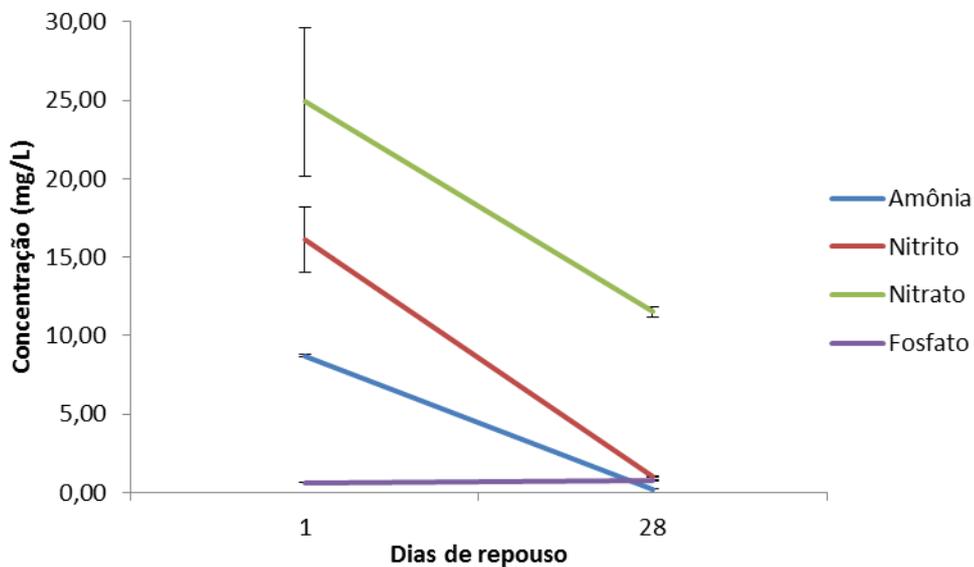
Neste tratamento, como o fornecimento de luz foi contínuo, isso possibilitou a aceleração do desenvolvimento da microalga e uma rápida remoção dos nutrientes. De acordo com Saboya (2010), o cultivo de *S. platensis* com 24 h de iluminação foi o que apresentou o maior e mais rápido desenvolvimento, atingindo a produtividade máxima com apenas 7 dias de cultivo, semelhante a este trabalho.

### 4.3.2 Tratamento do efluente com *Spirulina* em ambiente externo (SE)

Concluído o cultivo dos peixes em águas claras com salinidade 10 (CS), estes organismos foram retirados das caixas de 500 L e o efluente remanescente nestas ficou em descanso, sob forte aeração, por 4 semanas antes da inoculação da microalga *S. platensis* proveniente do tratamento SI após seu término.

Nesse período de descanso, possivelmente as bactérias nitrificantes, se desenvolveram no meio aeróbico e reduziram as concentrações de amônia em 97,5% (de  $8,70 \pm 0,07$  para  $0,22 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup>), de nitrito em 93,7% (de  $16,08 \pm 2,09$  para  $1,01 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup>) e de nitrato em 53,8% (de  $24,90 \pm 4,75$  para  $11,50 \pm 0,50$  mg L<sup>-1</sup>); exceto de fosfato, que apresentou um incremento de 20% (de  $0,64 \pm 0,03$  para  $0,77 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup>), já que este nutriente não é oxidado por bactérias nitrificantes, se acumulando no sistema (Figura 9).

Figura 9 – Curvas das reduções das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos no efluente do tratamento CS após o descanso de 4 semanas.



Fonte: Arquivo pessoal.

Logo após esse período, com os 500 L da *S. platensis* provinda do tratamento SI e inoculada na caixa de 1.500L com volume útil de 1.000 L de efluente do cultivo das tilápias em água clara e salinidade 10 (CS), deu-se início ao tratamento SE.

As absorvâncias obtidas ao longo desse tratamento foram substituídas na equação 1 de Coelho (2012), que relaciona a densidade óptica (Abs 680 nm) com a densidade celular (tricomos mL<sup>-1</sup>). Dessa forma, com os resultados de densidade celular obtidos, pôde-se construir a curva de crescimento de *S. platensis* no tratamento SE (Figura 10), durante os seis dias de cultivo desta.

A densidade celular inicial foi de 155 mil tricomas mL<sup>-1</sup> e a fase de indução teve uma duração de 4 dias, atingindo ao final dessa etapa 244 mil tricomas mL<sup>-1</sup>. A partir desse momento, a cultura entrou em crescimento exponencial e atingiu 322 mil tricomas mL<sup>-1</sup>.

Nesta fase, o sistema de recirculação de água foi ligado a fim de tratar o restante dos efluentes remanescentes nas caixas de cultivo dos peixes. No entanto, não foi possível mais o desenvolvimento de *S. platensis* devido a uma forte contaminação da cultura por rotíferos zooplancônicos da espécie *Brachionus plicatilis* que consumiram todas as microalgas em cerca de 48 horas, que por consequência, também foi impossível observar a completa remoção dos nutrientes dos efluentes de tilápia neste sistema. Vale ressaltar, que os efluentes não passaram por nenhum processo de decantação ou filtração que, facilmente, poderiam ter evitado este tipo de contaminação.

Lourenço (2006) recomenda que em qualquer tipo de cultivo sejam mantidos os cuidados com predadores e contaminantes. Markou e Georgakakis (2011) sugerem que uma contaminação em um cultivo de *Spirulina* pode ser evitada ou atenuada tornando o ambiente aquático com o pH elevado e aumentando as concentrações de amônia.

De fato, após a adição de bicarbonato de sódio e a consequente elevação do pH do meio, todos os rotíferos presentes morreram, porém, como toda a microalga havia sido consumida anteriormente por eles, a continuação da redução dos nutrientes foi impossibilitada.

No entanto, a redução dos nutrientes, iniciada pelas bactérias, foi continuada de forma rápida e eficaz durante o período de desenvolvimento da *Spirulina* no efluente, em especial para os nitratos que foram reduzidos em 44,3% com 7 dias de cultivo. As concentrações de nitritos e fosfatos foram reduzidas em 39,6 e 28,6%, respectivamente, após os 7 dias de cultivo, enquanto que a concentração de amônia ficou praticamente constante (Figura 11).

Figura 10 – Curva de crescimento algal de *S. platensis* durante o tratamento dos efluentes de tilápia no sistema externo (SE).

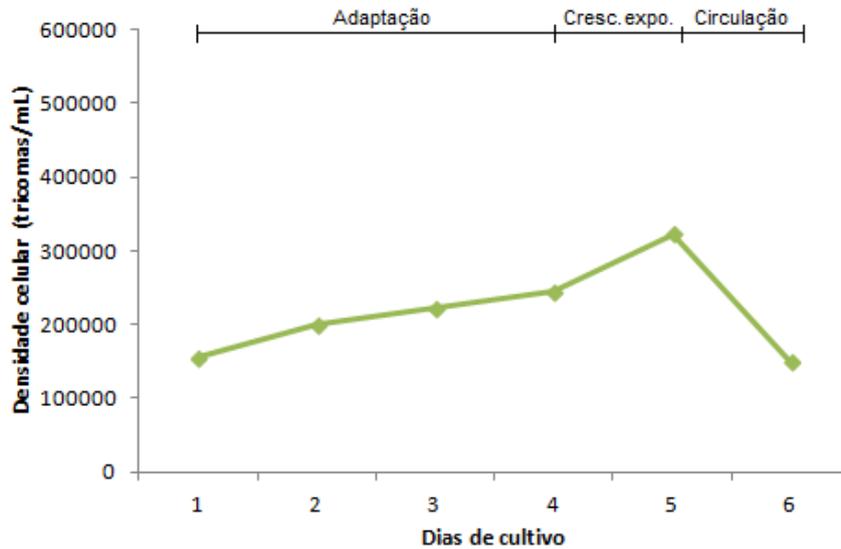
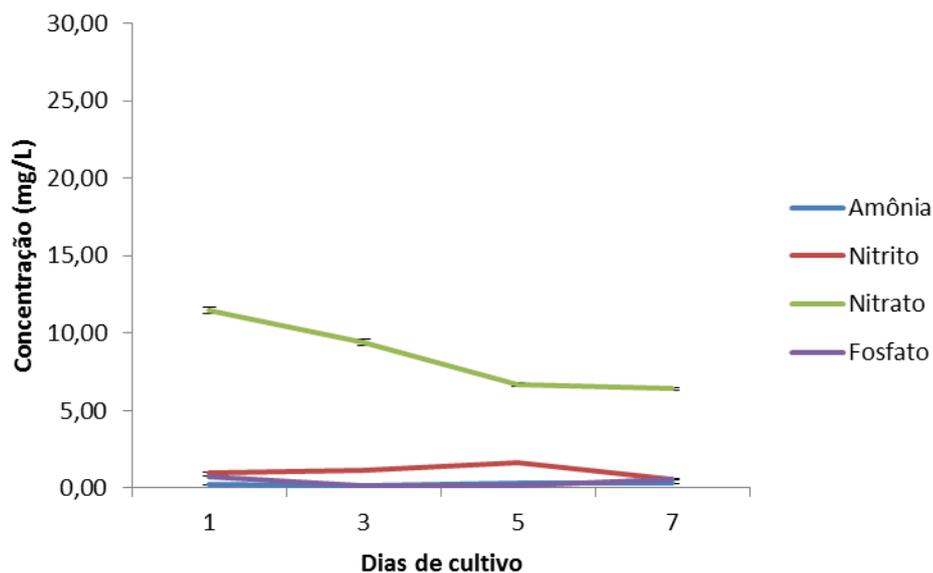


Figura 11 – Curvas das concentrações de amônia, nitritos, nitratos e fosfatos durante o tratamento dos efluentes de tilápia pela *Spirulina* no sistema externo (SE).



Fonte: Arquivo pessoal.

Além disso, no presente trabalho, ficou evidente que a taxa de crescimento da *S. platensis* estava fortemente relacionada com a concentração dos nutrientes, e que esta alcançou um bom crescimento, mesmo a partir dos baixos níveis de nutrientes após a atuação de bactérias nitrificantes.

E que estas últimas, algumas vezes, tiveram uma coparticipação positiva nos processos de redução dos nutrientes das águas de cultivo dos peixes, confirmando a declaração de Menasveta *et al.* (2001) que diz que em um cultivo os

processos de nitrificação e desnitrificação pelas bactérias são essenciais para se alcançar a biossegurança de uma aquicultura.

Na aquicultura, o nitrogênio e o fósforo são os principais resíduos gerados capazes de causar eutrofização de águas, porém podem ser remediados pelo uso de bacias de sedimentação, biofiltros e tratamento por fitoplâncton, a fim de atenuar os impactos ambientais dos efluentes dessa atividade (CYRINO *et al.*, 2010).

Conforme Markou e Georgakakis (2011), as microalgas desenvolvem-se aproveitando a energia solar e grandes quantidades de fertilizantes, e o uso de efluentes ricos em poluentes inorgânicos, como nitrogênio e fósforo, constituem uma boa alternativa para a produção em grande escala.

Além disso, o desenvolvimento das microalgas em efluentes promove a recuperação destes, e concomitantemente, acarreta na produção de biomassa, que pode ser empregada em fins diversos, como ração animal, produção de energia, produção de pigmentos, polissacarídeos, carotenos, esteróis, vitaminas, ácidos graxos poliinsaturados e outros lipídios (MEZZOMO, 2010).

Neste caso, deve-se atentar para o tipo de fitoplâncton a ser utilizado nessa produção comercial, pois nos cultivos tradicionais em águas verdes é quase impossível a coleta das microalgas, somente sendo possível com a renovação parcial da água (CHUNTAPA; POWTONGSOOK; MENASVETA, 2003), lançando os efluentes sem nenhum tratamento nos corpos d'água receptores.

No entanto, a *Spirulina* pode ser controlada através de simples remoção, onde é facilmente separada da água devido suas grandes dimensões (MARKOU; GEORGAKAKIS, 2011). Para isso, é necessária apenas a utilização de uma malha com abertura de 60 µm. Coelho (2012), Chuntapa, Powtongsook e Menasveta (2003) mostraram que a *S. platensis* foi capaz de manter as concentrações de amônia, nitritos e nitratos baixas, em cultivos de peixes e camarões, respectivamente, utilizando sistemas de coleta semi-contínua dessa microalga.

Dessa forma, os resultados do presente trabalho mostraram que a *S. platensis* pode ser uma alternativa viável para auxiliar no tratamento de águas residuais, em sistemas de cultivos com recirculação de água, como também de sistemas integrados ou policultivos de *Spirulina* com tilápias, com a coleta semi-contínua da biomassa em excesso da microalga, sem a necessidade de renovação de água e lançamento de efluentes no ambiente, e garantindo a manutenção da qualidade da água para os peixes e meio ambiente.

## 5 CONCLUSÕES

Esta pesquisa confirmou que as tilápias são eficazes no aproveitamento do fitoplâncton. E que na presença de águas verdes, os níveis de nutrientes na água de cultivo das tilápias são controlados enquanto as microalgas permanecem vivas, elevando-se rapidamente após a morte das mesmas, bem como na ausência destas.

A utilização de *S. platensis* no tratamento SI, no qual os efluentes dos cultivos dos alevinos foram tratados em ambiente com iluminação constante se mostrou bastante satisfatório, pois resultou, após sete dias de cultivo, na redução dos nutrientes a níveis aceitos pela resolução nº 357/2005 do CONAMA para o cultivo de peixes ou descarte seguro para o ambiente natural.

Durante o tratamento dos efluentes, a produção algal de *S. platensis* foi gerada a uma taxa de 0,22 g biomassa seca L<sup>-1</sup>, sendo facilmente removida do efluente tratado.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desta pesquisa poderão ser utilizados para o desenvolvimento de consórcios de microalgas com outros organismos, como camarões ou outras espécies de peixes, em sistemas de policultivos ou cultivos integrados, com ou sem recirculação de água. E ainda, a biomassa algal produzida poderá ser usada na formulação de ração animal, na produção de biocombustíveis ou fertilizantes, bem como, para uso de suplemento alimentar humano ou geração de produtos nutracêuticos, concomitantemente a biorremediação dos efluentes gerados.

Almeja-se, com a realização deste trabalho, que haja um avanço crescente em pesquisas no ramo biotecnológico de microalgas, sobretudo nos ramos biológico, ecológico e farmacêutico, através de maiores incentivos financeiros, científicos e tecnológicos nessas áreas, especialmente para estudos que busquem o desenvolvimento de “cultivos verdes” que respeitem o meio ambiente e os ecossistemas.

## 7 REFERÊNCIAS

- ALAVA, D.; MELLO, P. C.; WAGENER, K. The relevance of the CO<sub>2</sub> partial pressure of sodium bicarbonate solutions for the mass cultivation of the microalga *Spirulina*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, SP, v. 8, n. 5, p. 447-450. 1997.
- ALGAEBASE. [Homepage]. 2012. Disponível em: <www.algaebase.org>. Acesso em: 25 out. 2012.
- AMARAL, R. L. *et al.* Processo contínuo de remoção de compostos orgânicos não iônicos de efluentes líquidos gerados em refinarias de petróleo por adsorção em argilas organicamente modificadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 8., 2009, Uberlândia. [Artigos aprovados]. Uberlândia, 2009.
- AMBROSI, M. A. *et al.* Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 109-117. 2008.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1551-1556. 2008.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. Washington. 2000.
- ARAUJO, G. S. *et al.* Cultivo da tilápia do Nilo em tanques-rede circulares em diferentes densidades de estocagem. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 428-434, May/June. 2010.
- BELAY, A. The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. **The Journal of the American Nutraceutical Association**, v. 5, n. 2, p. 27-48. 2002.
- BERTOLIN, T. E. *et al.* Effect of microalga *Spirulina platensis (Arthrospira platensis)* on hippocampus lipoperoxidation and lipid profile in rats with induced hypercholesterolemia. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 5, p. 1253-1259. 2009.
- BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C. Masculinização de larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a partir de banhos de imersão com 17 $\alpha$ -Metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 365-372. 2005.
- BORGES, M. T. *et al.* Comparison study of phytoplankton production on two intensive fish-farm effluents of European Atlantic coasts. In: Responsible aquaculture the new millennium. **European Aquaculture Society Special Publication**, n. 28, p. 85. 2000.
- BOURRELLY, P. **Les Algues D'eau Douce: Initiation À La Systématique**. Éditions N. Boubée & Cie, Paris. 1968.

BOYD, C. E. Nitrification important process in aquaculture. **Global Aquaculture Advocate**, v. 10, n. 3, p. 64-66. 2007.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2010**. Brasília, 2012.

BRASIL. Lei nº 11.959, de 29 de junho de 2009. Dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca, regula as atividades pesqueiras, revoga a Lei no 7.679, de 23 de novembro de 1988, e dispositivos do Decreto-Lei nº 221, de 28 de fevereiro de 1967, e dá outras providências. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Poder Legislativo, Brasília, DF, 30 jun. Seção 1, p. 1. 2009.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**.

CHINNASAMY, S. *et al.* Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. **Bioresource Technology**, n. 101, p. 3097–3105. 2010.

CHOJNACKA K.; NOWORYTA, A. Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 34, v. 5, p. 461–465. 2004.

CHUNTAPA, B.; POWTONGSOOK, S.; MENASVETA, P. Water quality control using *Spirulina platensis* in shrimp culture tanks. **Aquaculture**, v. 220, p. 355–366. 2003.

COELHO, A. A. C. **Cultivo integrado de juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a microalga *Spirulina platensis***: uma alternativa no tratamento de efluente aquícola. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2012.

COUTTEAU, P. Micro-algae. *In*: LAVENS, P.; SORGELOOS, P. (Eds.). **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. Rome: FAO, p. 7-48. (FAO Fisheries Technical Paper, n. 361). 1996.

CYRINO, J. E. P. *et al.* A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87. 2010.

DERNER, R. B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, nov./dez. 2006.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2012**. Rome. 2012.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2010**. Rome, 2010.

FELIZATTO, M. R.; STARLING, F. L. R. M.; SOUSA, M. A. A. Reúso de água em piscicultura: análise da possibilidade de aplicação de efluente de lagoas de estabilização em série. *In: XXVII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL*, 27. **Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Porto Alegre, Meio digital. 2000.

FISHBASE. **[Homepage]**. 2011. Disponível em: <www.fishbase.com>. Acesso em: 10 de agosto de 2011.

GIORDANO, G. **Tratamento e controle de efluentes industriais**. Rio de Janeiro: UERJ. 2011.

GOMES, G. R. F. *et al.* Dietary supplementation with *Spirulina platensis* increases growth and color of red tilapia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 25. p. 462-471. 2012.

GÜROY, D. *et al.* Effect of dietary *Ulva* and *Spirulina* on weight loss and body composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during starvation period. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 95, p. 320-327. 2011.

HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Tratamento de efluentes de carcinicultura por macrófitas aquáticas flutuantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 181-188. 2008.

HSIEH, C-H.; WU, W-T. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3921–3926. 2009.

JOURDAN, J. P. **Teaching manual: grow your own Spirulina**. Geneva: Switzerland. 2001.

KUBITZA, F. Nutrição e Alimentação de tilápias: parte 1. **Panorama da aquicultura**. mar./abr. 1999.

KUBITZA, F. Qualidade da água na produção de peixes: parte I. **Panorama da aquicultura**, jan./fev. 1998a.

KUBITZA, F. Qualidade da água na produção de peixes: parte II. **Panorama da aquicultura**, mar./abr. 1998b.

KUBITZA, F. Qualidade da água na produção de peixes: parte III. **Panorama da aquicultura**, maio/jun. 1998c.

KUBITZA, F. Sistemas de Recirculação: Sistemas fechados com tratamento e reuso da água. **Panorama da aquicultura**, maio/jun. 2006.

KUBITZA, F. Tilápia em água salobra e salgada: uma boa alternativa de cultivo para estuários e viveiros litorâneos. **Panorama da aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 88, p. 14-18, mar./abr. 2005.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: Acqua & Imagem, 2000.

LEFEBVRE, S. *et al.* Outdoor phytoplankton continuous culture in a marine fish–phytoplankton–bivalve integrated system: combined effects of dilution rate and ambient conditions on growth rate, biomass and nutrient cycling. **Aquaculture**, v. 240, p. 211-231. 2004.

LIMA, F. T. **Capacidade de retenção e dinâmica de um “wetland” construído no tratamento de águas residuais**. 2011. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2011.

LIN Y. C. *et al.* White shrimp *Litopenaeus vannamei* that had received the hot-water extract of *Spirulina platensis* showed earlier recovery in immunity and up-regulation of gene expressions after pH stress. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 29, p. 1092-1098. 2010.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas princípios e aplicações**. São Carlos: Rima. 2006.

LU, J.; TAKEUCHI, T.; SATOH, H. Ingestion, assimilation and utilization of raw *Spirulina* by larval tilapia *Oreochromis niloticus* during larval development. **Aquaculture**, v. 254, p. 686–692. 2006.

MAINARDES-PINTO, C. S. R. *et al.* Desempenho produtivo da tilápia tailandesa, *Oreochromis niloticus*, estocada em diferentes quantidades de tanques-rede instalados em viveiros povoados com a mesma espécie. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 33, n. 1, 53-62. 2007.

MALDANER, T. L. **Levantamento das alternativas de minimização dos impactos gerados pelos efluentes de abatedouros e frigoríficos**. 2008. 69 f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Brasília. 2008.

MARENGONI, N. G. Produção de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, n. 210, p. 127-138. 2006.

MARKOU, G.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. **Applied Energy**, v. 88, p. 3389–3401. 2011.

MASSAGO, H. *et al.* Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 397-403, out./dez. 2010.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 217–232. 2010.

- MENASVETA, P. *et al.* Design and function of a closed, recirculating seawater system with denitrification for the culture of black tiger shrimp broodstock. **Aquacultural Engineering**, v. 25, p. 35–49. 2001.
- MEZZOMO, N. *et al.* Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) from biological treatment of swine wastewater. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 173-178. 2010.
- MULITERNO, A. *et al.* Cultivo mixotrófico da microalga *Spirulina platensis* em batelada alimentada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1132-1138, nov./dez. 2005.
- NANDEESHA, M. C. *et al.* Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 80, p. 117-120. 2001.
- NOGUEIRA, A. C.; RODRIGUES; T. **Criação de tilápias em tanques-rede**. Salvador: SEBRAE, Bahia. 2007.
- OLGUÍN, E. J. *et al.* The effect of low light lux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina sp.* (*Arthrospira*) grown on digested pig waste. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 1, p. 19-24. 2001.
- OLIVEIRA, F. **Engenharia genética: o sétimo dia da criação**. 2. ed. reform. São Paulo: Moderna. 2004.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. (Eds.). **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: [s.n.]. 2008.
- OSTRENSKY; A.; BOEGER, W. **Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo**. Guaíba: Agropecuária. 1998.
- PHANG, S. M. *et al.* *Spirulina* cultivation in digested sago starch factory wastewater. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3-5, p. 395-400. 2000.
- POSTEN, C.; SCHAUB, G. Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels – A process view. **Journal of Biotechnology**, v. 142, p. 64–69. 2009.
- PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de Piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA. 1994.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 6, p. 635-648. 2004.
- RANGEL-YAGUI, C. O. *et al.* Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 133–141. 2004.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001.

REVIERS, B. **Biologia e filogenia das algas**. Porto Alegre: Artmed. 2006.

SABOYA, J. P. S. **Teores de  $\beta$ -Caroteno e  $\alpha$ -tocoferol presentes na microalga *Spirulina (Arthrospira) Platensis* cultivada com diferentes fotoperíodos**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2010.

SANTOS, E. S. **Cultivo de tilápia do Nilo em esgoto doméstico tratado com diferentes taxas de alimentação**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal Do Ceará, Fortaleza. 2008.

SANTOS, E. S. *et al.* Avaliação da sustentabilidade ambiental do uso de esgoto doméstico tratado na piscicultura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 45-54. 2011.

SEBRAE. **Aquicultura e pesca: tilápias**. Relatório completo. [S. l.]. 2008.

SILVA, F. **Biorremocão de Nitrogênio, Fósforo e Metais Pesados (Fe, Mn, Cu, Zn) do efluente hidropônico, através do uso de *Chlorella vulgaris***. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006.

SILVA, P. C. *et al.* Avaliação econômica da produção de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em sistema “raceway”. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, v. 25, n. 1, p. 9-13. 2003.

SIMÕES, F. S. *et al.* Avaliação do efeito da piscicultura em sistemas aquáticos em Assis e Cândido Mota, São Paulo, por indicador de qualidade da água e análise estatística multivariada. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1835-1841. 2007.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H., DONADON, A. R. V.; MILAN, R. N. Water quality and plankton populations in an earthen polyculture pond. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 71, no. 4, p. 845-855. 2011.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; FÁVERO, E. G. P.; BRAGA, F. M. S. Utilization of macrophyte biofilter in effluent from aquaculture: I. Floating plant. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 62, n. 4a, p. 713-723. 2002.

TAYAG, C. M. *et al.* Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 28, p. 764-773. 2010.

TIETZE, H. W. ***Spirulina: micro food, macro blessing***. Fourth Edition. Australia. 2004.

TOMASELLI, L. The microalgal cell. *In*: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, p. 3-19. 2004.

VERAS, L. R. V.; DI BERNARDO, L. Tratamento de água de abastecimento por meio da tecnologia de filtração em múltiplas etapas – FIME. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 109-116, jan./mar. 2008.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, p. 139-145. 2004.

YANG, C. *et al.* Treating urine by *Spirulina platensis*. **Acta Astronautica**, n. 63, p. 1049-1054. 2008.