



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS
TROPICAIS**

ELISA FONTENELE MOURA

**GERAÇÃO DE BIOFLOCO EM SISTEMA DE LODO ATIVADO TRATANDO
EFLUENTE DE CARCINICULTURA**

FORTALEZA

2017

ELISA FONTENELE MOURA

GERAÇÃO DE BIOFLOCO EM SISTEMA DE LODO ATIVADO TRATANDO
EFLUENTE DE CARCINICULTURA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos. Linha de pesquisa: Análise de impactos ambientais da região oceânica e costeira.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella

Coorientadora: Dra. Camila Magalhães Silva

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M885g Moura, Elisa Fontenele.
Geração de biofilme em sistema de lodo ativado tratando efluente de carcinicultura / Elisa Fontenele Moura. – 2017.
71 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella.
Coorientação: Profa. Dra. Camila Magalhães Silva.
1. Reator biológico. 2. lodo heterotrófico. 3. camarão. 4. *Litopenneus vannamei*. 5. *Bacillus*. I. Título.
CDD 551.46
-

ELISA FONTENELE MOURA

GERAÇÃO DE BIOFLOCO EM SISTEMA DE LODO ATIVADO TRATANDO
EFLUENTE DE CARCINICULTURA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos. Linha de pesquisa: Análise de impactos ambientais da região oceânica e costeira.

Aprovada em: 25/05/2017.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Sandra Tédde Santaella
Universidade Federal do Ceará (Presidente- Orientadora)

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes
Universidade Federal do Ceará (Examinador Interno)

Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho
Universidade Federal do Ceará (Examinadora Externa ao Programa)

À minha mãe, Márcia Fontenele Moura, por ter sido meu maior exemplo na vida e cuja falta se faz presente todos os dias.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella pela orientação e paciência durante o curso e apoio para concluir esse trabalho.

Ao Prof. Renato Carrhá Leitão por possibilitar a utilização do Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB) da EMBRAPA.

À Dra. Camila Magalhães Silva pela paciência e dedicação em coorientar esse trabalho e ensinar todas as técnicas e manejos necessários.

À EMBRAPA por ceder o uso do laboratório e equipamentos para realização da pesquisa.

Ao LABOMAR/CEAC representados pelo Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos por fornecer a água e dados do cultivo para a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Alberto Nunes por participar da banca e contribuir para melhoria do trabalho.

À Dra. Fátima Cristiane Telles de Carvalho por participar da banca de defesa e por suas contribuições na correção do trabalho.

À Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa por participar da banca de qualificação e contribuir com correção e sugestões para o trabalho.

Ao Dr. Tito Augusto Gehring pela participação na banca de qualificação e contribuir para melhorar o trabalho.

Aos colegas do LTB Aldo Colares, Patrícia Viana, Alexandre Araújo, Willame Cavalcante Araújo pelo companheirismo e ajuda no dia a dia.

À toda a equipe do LTB, representada pela Lilian Chayn e Natália Moura de Vasconcelos pela ajuda e companheirismo.

À Fundação Cearense de Apoio à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP pelo auxílio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao meu companheiro de todas as horas Eduardo Franklin, por sempre me apoiar e acreditar em mim, mesmo à distância esteve sempre presente me incentivando e ajudando em tudo que preciso.

RESUMO

Processos biológicos têm sido muito utilizados para tratamento de efluentes, devido à alta taxa de degradação da matéria orgânica e custo relativamente baixo. O sistema de lodos ativados é um dos mais adequados para tratar efluentes da carcinicultura. Paralelamente, este sistema pode gerar bioflocos adequados para suplementar as necessidades nutricionais dos camarões. O objetivo deste trabalho foi produzir biofoco em um reator de sistema de lodos ativados, em escala de laboratório, que tratava efluentes da carcinicultura, analisar sua composição bromatológica e investigar a presença de *Bacillus* spp. no lodo gerado. A água residuária do cultivo experimental de camarões foi enriquecida com melaço de cana-de-açúcar, nitrogênio e fósforo (100C:5N:1P) cujos parâmetros físico-químicos, pH, oxigênio dissolvido, sólidos suspensos voláteis, sólidos sedimentáveis e remoção de DQO foram analisados. *Bacillus* spp. foram quantificados por Contagem Padrão de Placas. Estes foram encontrados em todas as etapas do reator (afluente ao sistema, tanque de aeração, decantador e efluente ao sistema), mesmo que em pequenas quantidades. A eficiência de remoção de DQO foi, em média, de $68 \pm 0,19$ %; pH médio de 7,6, oxigênio dissolvido variou entre 0,6 e 4,5 mg/L, média dos sólidos suspensos voláteis de $2,88 \pm 1,40$ g /L . O biofoco apresentou 45,82 % proteína bruta, 20,57 % umidade e voláteis, 1,54 % extrato etéreo, 0,22 %, fibra bruta e 8,71 % matéria mineral. A quantidade de proteína bruta foi compatível com a exigência nutricional dos camarões marinhos, sendo uma alternativa de obtenção de biofoco que requer estudos mais aprofundados. Além disso, a remoção de matéria orgânica foi suficiente para atender a legislação ambiental. Quanto aos *Bacillus* spp., os mesmos podem ser incorporados ao biofoco gerado em sistemas de tratamento aeróbio, constituindo uma possível fonte alternativa para probióticos acrescentados a cultivos de *L. vannamei*.

Palavras-chave: reator biológico, *Bacillus* sp, lodo heterotrófico

ABSTRACT

Biological processes have been widely used to treat effluents due to the high rate of organic matter degradation and relatively low cost. The activated sludge system is one of the most suitable for treating shrimp effluents. In parallel, this system can generate suitable biofloc to supplement the nutritional needs of shrimp. The objective of this work was to produce biofloc in an activated sludge system reactor in laboratory scale, while treating effluents of the shrimp farming, to analyze its bromatological composition and to investigate the presence of *Bacillus* spp. The wastewater from the experimental shrimp culture was enriched with sugarcane molasses, nitrogen and phosphorus in the proportion 100C: 5N: 1P. The physical and chemical parameters such as pH, dissolved oxygen, volatile suspended solids, sedimentable solids, and Removal of COD were analyzed. *Bacillus* spp. were quantified by Standard Plate Count. These were found in all stages of the reactor (effluent to the system, aeration tank, decanter and effluent to the system), even in small amounts. COD removal efficiency was, on average, $68 \pm 0.19\%$; Mean pH 7.6, dissolved oxygen ranged from 0.6 to 4.5 mg / L, mean volatile suspended solids of 2.88 ± 1.40 g / L. The biofloc presented 45.82% crude protein, 20.57% moisture and volatile, 1.54% ethereal extract, 0.22%, crude fiber and 8.71% mineral matter. The amount of crude protein was compatible with the nutritional requirement of the marine shrimp, suggesting it as an alternative to obtain biofloc that requires more studies. In addition, the removal of organic matter was sufficient to comply with Brazilian environmental legislation. As for *Bacillus* spp. they can be incorporated into the biofloc generated in aerobic treatment systems, constituting a possible alternative source for probiotics added to *L. vannamei* cultures.

Key words: biologic reactor, *Bacillus* spp., activated sludge

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1- Cultivo de camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> no Centro de Estudos de Aquicultura Costeira- CEAC/LABOMAR.....	40
Figura 2- Mini sistema de lodos ativados em escala de bancada, montado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical e usado nesta pesquisa.	41
Figura 3-Filtragem com bomba a vácuo de lodo obtido no sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura.	46
Figura 4- Teste de sólidos sedimentáveis utilizando cone de Imhoff de lodo obtido no sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura.	52
Figura 5- Esquema de realização do ensaio microbiológico	64
Figura 6- Placa de ágar nutriente inoculada com afluente do reator, evidenciando crescimento bacteriano.....	65
Tabela 1- Composição da solução de nutrientes adicionada ao reator.	42
Tabela 2- Composição do afluente utilizado na alimentação do reator.	43
Tabela 3- Parâmetros operacionais do sistema de lodos ativados	45
Tabela 4-Resultados operacionais do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura	47
Tabela 5- Resultados obtidos durante a operação do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura. Valores médios para cada etapa.	48
Tabela 6- Perfil bromatológico do biofoco obtido no sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura, montado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical e usado nesta pesquisa.	53
Tabela 7- Resultado da contagem padrão de placas (UFC/mL) de amostras coletadas no sistema de lodos ativados em escala de bancada, tratando efluente de carcinicultura, montado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical.	66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO 1.....	17
1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1.1.1 DESAFIOS DA CARCINICULTURA	17
1.1.2 IMPACTOS CAUSADOS PELA CARCINICULTURA	20
1.1.3 USO DE PROBIÓTICOS NA CARCINICULTURA.....	20
1.1.3.1 <i>Gênero Bacillus utilizado como probiótico</i>	22
1.1.4 HÁBITOS ALIMENTARES E EXIGÊNCIA NUTRICIONAL DE PENEÍDEOS	24
1.1.5 SISTEMA DE BIOFLOCOS	25
1.1.6 LODOS ATIVADOS	26
REFERÊNCIAS	29
CAPÍTULO 2.....	36
AVALIAÇÃO DO PERFIL BROMATOLÓGICO DO BIOFLOCO GERADO EM SISTEMA DE LODO ATIVADO PARA TRATAMENTO DE EFLUENTE DE CARCINICULTURA	36
RESUMO	36
ABSTRACT	37
2.1 INTRODUÇÃO	38
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.2.1 ÁGUA RESIDUÁRIA	40
2.2.2 SISTEMA DE LODOS ATIVADOS	41
2.2.3 INÓCULO.....	42
2.2.4 ALIMENTAÇÃO.....	43
2.2.5 PARÂMETROS OPERACIONAIS E VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS	44
2.2.6 <i>Análise Demanda Química de Oxigênio (DQO)</i>	45
2.2.7 <i>Determinação de Sólidos Suspensos Voláteis</i>	45
2.2.9 <i>Análise bromatológica do lodo</i>	46
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47

2.4 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57
CAPÍTULO 3.....	59
<i>BACILLUS</i> SPP. EM SISTEMA DE LODOS ATIVADOS TRATANDO EFLUENTE DE CARCINICULTURA.....	59
RESUMO	59
ABSTRACT	60
3.1 INTRODUÇÃO	61
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.2.1 ENSAIO MICROBIOLÓGICO	63
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
3.4 CONCLUSÃO	69
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

A partir da década de 1950, o aumento no consumo de animais marinhos foi estimulado pelo aumento na demanda de alimentos para suprir a crescente população humana e pelas comprovações dos benefícios do consumo dos mesmos à saúde, tornando-os escolhas mais frequentes por parte da população (OLSEN, 2015). Somando-se a isso, o desenvolvimento de equipamentos e técnicas que permitiram aos barcos localizar cardumes com mais precisão e captura-los em maior quantidade, houve aumento da pesca predatória, provocando reduções drásticas no estoque pesqueiro mundial dos oceanos, tornando essa atividade insustentável (WILSON, 2015).

A aquicultura como alternativa para sustentar o mercado pesqueiro mundial, tem aumentado rapidamente. No entanto, à medida que essa demanda aumenta, os sistemas aquícolas devem ser cada vez mais produtivos e sustentáveis, estimulando o desenvolvimento de tecnologias que aumentem a eficiência e diminuam os riscos de perdas econômicas, que podem ser acarretadas por mortalidade por patógenos, alterações climáticas ou crises no mercado (NATORI *et al.*, 2011). Em relatório divulgado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) em 2015, foi relatado que América Latina e Caribe devem apresentar expansão importante na produção aquícola até 2025, podendo chegar a 3.700.000 t, um crescimento de 39.9% em relação ao período de 2013 a 2015, em que foram produzidas em média 2.700.000 de t/ano.

Segundo a FAO, a pesca extrativista não deve aumentar muito nos próximos oito anos e a produção total de peixes da região (aquicultura + capturas) deve registrar 16.200.000 t em 2025, 12,6% a mais que o nível alcançado entre 2013 e 2015. Em âmbito global, a produção deve aumentar até alcançar 195.900.000 t em 2025, um aumento de 17% em comparação à produção de 2013 a 2015, de 166.800.000 t, após 2014 registrar, pela primeira vez, aumento na produção aquícola para o consumo direto em relação às capturas por pesca. Isso significa que no ano 2025 serão produzidos, mundialmente, 29.000.000 t a mais de pescadoem comparação ao período entre 2013 e 2015 e quase todo esse aumento vai ocorrer em países em desenvolvimentoatravés da aquicultura.

Apesar disso, muitas questões foram levantadas a respeito do impacto dessas atividades ao meio ambiente, como a liberação de efluentes ricos em matéria orgânica em ecossistemas costeiros importantes, como os estuários. Dessa forma, um dos desafios é reduzir ao máximo a descarga de nutrientes e de matéria orgânica no ambiente de forma a manter o sistema viável e rentável (BURFORD *et al.*, 2003).

Como alternativa menos agressiva ao meio ambiente, surgiu o uso de sistemas heterotróficos fechados, praticamente sem renovação de água, para substituir o sistema intensivo convencional de engorda de camarões (WASIELESKY *et al.*, 2010). No entanto, em cultivos intensivos fechados há a preocupação com o acúmulo de excretas nitrogenadas que reduzem a qualidade da água e, conseqüentemente, aumentam o estresse facilitando o desenvolvimento de enfermidades por patógenos e prejudicando o desempenho do cultivo (LARA *et al.*, 2014). Os principais responsáveis pelas taxas elevadas de mortalidade no meio são os patógenos e, a presença destes, requer custos mais elevados para manter a qualidade e tratamento adequado causando muitos problemas econômicos (LIGHTNER, 2011).

A tecnologia de cultivo em sistema de bioflocos surgiu como alternativa para aumentar a produtividade, reduzindo custos com captação e renovação de água, sem perda da qualidade da água e sem proliferação de patógenos (BURFORD *et al.*, 2003; LARA *et al.*, 2014). Nos sistemas com bioflocos há adição de carboidratos para aumentar a relação C/N e estimular o crescimento de microrganismos, principalmente bactérias (CRAB *et al.*, 2007), que se agregam formando flocos microbianos que podem apresentar efeitos probióticos, dependendo de sua composição microbiológica (CRAB *et al.*, 2010; HASLUN *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2012). Esses flocos microbianos podem ainda servir como complemento proteico na alimentação dos camarões, podendo promover redução de gastos com ração (CRAB *et al.*, 2009; KUHN *et al.*, 2009).

Algumas bactérias probióticas podem ser adicionadas ao meio de cultivo e incorporadas ao biofilme como alternativa ao uso de antibióticos para combater organismos patogênicos por inibição competitiva (HONG *et al.*, 2005; DA SILVA *et al.*, 2012), melhorando o sistema imunológico e digestivo dos camarões ou a qualidade da água do cultivo, atuando na decomposição de matéria orgânica na água e nos sedimentos (BOOPATHY *et al.*, 2015).

Diversos estudos com bactérias do gênero *Bacillus* ssp. demonstram seus efeitos probióticos, por exemplo alternativamente ao tratamento com antibióticos contra *Vibrio* (HONG *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2010; BOOPATHY *et al.*, 2015).

O biofilme pode ser obtido também, a partir do tratamento do efluente das próprias fazendas de cultivo (EMERENCIANO *et al.*, 2013). Por exemplo, o tratamento utilizando o sistema de lodos ativados, em que os lodos podem ser manipulados para serem reaproveitados na alimentação dos camarões.

O sistema de lodos ativados para tratamento de águas residuárias é uma alternativa bastante utilizada para diminuir o impacto dos efluentes no meio ambiente. Nesse

tipo de sistema são formados flocos microbianos compostos por bactérias, fungos, protozoários e algas unicelulares, capazes de remover grande parte da matéria orgânica presente na água residuária (CORDI *et al.*, 2007). No sistema de lodos ativados, parte dos bioflocos formados é recirculada para o reator para aumentar a biomassa no sistema e, assim melhorar a eficiência do tratamento (SOARES *et al.*, 2014). Dessa forma, o floco produzido no sistema de lodos ativados pode ser aplicado no cultivo de camarões em sistema fechado, podendo servir como suplemento alimentar e fonte proteica.

Neste trabalho procurou-se otimizar a geração da biomassa microbiana e avaliar o perfil bromatológico do biofloco produzido em sistema de lodo ativado tratando água residuária de tanques de cultivo de camarão em sistema fechado. Ao mesmo tempo foi analisado o potencial probiótico, identificando a presença de *Bacillus* spp. no lodo formado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Gerar bioflocos com potencial para serem utilizados como suplemento nas rações de camarões através do tratamento de efluentes de carcinicultura por meio de um sistema de lodos ativados em escala de bancada

2.2 Objetivos específicos

Maximizar a geração de bioflocos produzidos em sistema de lodos ativados em escala de laboratório tratando efluentes de carcinicultura provenientes de cultivos do Centro de Estudos em Aquicultura Costeira;

Analisar o perfil bromatológico do biofloco produzido em sistema de lodos ativados;

Quantificação de *Bacillus* spp. na biomassa microbiana do lodo ativado.

REFERÊNCIAS

- BOOPATHY, R.; KERN, C.; CORBIN, A. Use of *Bacillus* consortium in waste digestion and pathogen control in shrimp aquaculture. **International Biodeterioration and Biodegradation**. 102, 159–164, 2015.
- BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**. 219, 393–411, 2003.
- CORDI, L.; et al. intumescimento filamentoso no processo de lodos ativados aplicado ao tratamento de soro de queijo: caracterização e uso de flocculantes para melhorar a sedimentabilidade. **Revista Engenharia Ambiental**. 4(2), 026-037, 2007.
- CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**. 270(1-4), 1-14, 2007.
- CRAB, R.; CHIELENS, B.; WILLE, M.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**. 41, 559-567, 2010.
- DA SILVA, E.F.B.; FRÓES, C. N.; DE SOUZA, D. M.; SOARES, R.; PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.; BALLESTER, E. L. C. Uso de probióticos na produção de pós-larvas de camarão-rosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 47(6), 869–874, 2012.
- EMERENCIANO, M.; CUZON, G.; PAREDES, A.; GAXIOLA, G. Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. **Aquaculture International**. 21, 1381-1394, 2013.
- FAO Food and Agriculture Organization. Fisheries and Aquaculture Software. FishStatJ e Software for Fishery Statistical Time Series, 2015.
- HASLUN, J.; CORREIA, E.; STRYCHAR, K.; MORRIS, T.; SAMOCHA, T. Characterization of bioflocs in a no water exchange super-intensive system for the production of food size Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **International Journal of Aquaculture**. 2, 29–38, 2012.
- HONG, H.A.; DUC, L.H.; CUTTING, S.M. The use of bacterial spore formers as probiotics. **FEMS Microbiology Review**. 29, 813-835, 2005.
- KUHN, D.D., BOARDMAN, G.D., LAWRENCE, A.L., MARSH, L., FLICK, G.J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture** 296, 51-57, 2009.

LARA, G; KRUMMENAUER, D; POERSCH, H; WASIELESKY, W.J. Sistema de Bioflocos : processos de assimilação e remoção do nitrogênio. **Revista Panorama da Aquicultura**. 1–8, 2014.

LIGHTNER, D.V. Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): a review. **Journal of Invertebrate Pathology**. 106, 110-130, 2011.

LIU, K.-F.; CHIU, C.-H.; SHIU, Y.-L.; CHENG, W.; LIU, C.H. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. **Fish & Shellfish Immunology**. 28(5), 837–844, 2010.

NATORI, M.M.; SUSSEL, F.R.; SANTOS, E.C.B. ; PREVIERO, T. C.; VIEGAS, E.M.M.; GAMEIRO, A.H- Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: avanços tecnológicos e desafios. **Informações Econômicas** 41(2),61-73, 2011.

OLSEN, Y. How can mariculture better help feed humanity? **Frontiers in Marine Science**. 2, June. 2015.

SOARES, J.F.; ILHA, R.; DE VASCONCELLOS, N.J.S.; SANTIAGO, M.R. Caracterização do floco biológico e da microfauna em sistema de lodos ativados. **Ciência e Natura**. 36(1), 1-10, 2014.

WASIELESKY, W.J.; KRUMMENAUER, D. ; FÓES, G.K. ; POERSCH, L. H. . Produção de camarões em sistema de bioflocos: Os números não param de crescer. **Revista da ABCC**. Natal, RN, 90 – 93, 2010.

WILSON, C. Magnetic Island marine park zones : Effects of fishing restrictions on predatory reef fish populations. **Independent Study Project (ISP) Collection**. Paper 2066. 2015.

ZHAO, P.; HUANG, J.; WANG, X.H.; SONG, X.L.; YANG, C.H.; ZHANG, X.G.; WANG, G.C. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicas*. **Aquaculture**. 354-355, 97–106, 2012.

CAPÍTULO 1

1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 Desafios da Carcinicultura

O crescimento populacional trouxe consigo um dos grandes problemas mundiais: falta de alimentos para suprir essa demanda crescente. A previsão é de que até 2050 a população mundial ultrapasse os 9.000.000.000 de habitantes (FAO, 2016). O mercado de pescado tem como objetivo buscar a segurança alimentar para toda a população e, o consumo de peixes e outros organismos marinhos têm aumentado bastante, de 9,9 kg/hab em 1960 para 19,7 kg/hab em 2013, superando 20 kg/hab em 2015 (FAO, 2016).

A captura de peixes pela pesca não é suficiente para acompanhar esse crescimento na demanda. Práticas predatórias têm levado à redução dos estoques pesqueiros em todos os oceanos, tornando essa atividade insustentável. A quantidade de peixes capturados teve pouco crescimento desde 1980, o que impulsionou o desenvolvimento da aquicultura para suprir essa necessidade. Em 1974, 7% do pescado consumido provinha da aquicultura, aumentando para 26% em 1994 e 39% em 2004. Em 2014 pela primeira vez, a produção de pescado para consumo humano pela aquicultura superou a da pesca (FAO, 2016).

A aquicultura tem sido a melhor alternativa para suprir o mercado de pescado. A produção anual de peixes e frutos do mar pela aquicultura aumentou de 55.700.000 t em 2009 para 73.800.000 t em 2014. Até 2013, essa atividade já era responsável por 42,1% da produção de peixes consumidos mundialmente (FAO, 2016).

A carcinicultura é uma das principais atividades em termos de valor de produção dentre os diversos tipos de cultivos aquícolas (FAO, 2010), pois os camarões são iguarias de valor comercial elevado (ANAND *et al.*, 2014). No entanto, o rápido crescimento e a expansão da carcinicultura, e da aquicultura, vêm acompanhados de uma preocupação, também crescente, com a sustentabilidade ecológica, principalmente com os danos causados pelos efluentes liberados sem tratamento nos corpos d'água. Diversos estudos analisaram o impacto de excesso de nutrientes e patógenos liberados no meio (BAZARRA-GUARDADO *et al.* 2013, SUÁREZ-ABELENDÁ *et al.* 2014), contaminação por metais pesados (LACERDA *et al.* 2011), alterações na salinidade, dentre outros.

Para contornar os problemas ambientais causados pela carcinicultura e aumentar a produção, foram implantados sistemas superintensivos de produção de camarões com pouca

ou nenhuma renovação de água. Porém, essas condições podem contribuir para a degradação da qualidade da água e aparecimento de organismos patogênicos capazes de causar mortalidade e perdas econômicas graves (SCOPEL *et al.*, 2011).

No Brasil, a espécie de camarão mais cultivada é o *Litopenaeus vannamei*, espécie exótica introduzida na década de 1980, a partir da qual a carcinicultura brasileira começou a obter resultados satisfatórios para se desenvolver como atividade comercial (SANTOS, 2009). Essa espécie apresenta características que lhe permitem se adaptar melhor aos diferentes tipos de cultivo, é capaz de suportar ampla faixa de salinidade (5 a 55) facilitando seu cultivo tanto em áreas costeiras quanto no interior. Possui ainda crescimento rápido, alta taxa de produtividade e rentabilidade, rusticidade, facilidade no manejo e nutrição, sendo capaz de aproveitar dietas com níveis protéicos de 20 a 40% (NUNES, 2005).

A maior produção dessa espécie no Brasil ocorreu em 2003, com noventa mil toneladas (SANCHES, 2008). No entanto, a partir de 2004, muitas fazendas de camarão enfrentaram perdas econômicas devido a problemas com enchentes, propagação de patógenos como o vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), e o vírus da mancha branca (WSSV) descobertos em 2002 e 2005, respectivamente exigindo que fossem realizadas mudanças no modelo de produção (NATORI *et al.* 2011)

O IMNV afetou principalmente o nordeste do país em fazendas no Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, o que parece ser explicado pelas condições de cultivo, incluindo alta densidade de estocagem (>35 camarões/m²), redução da temperatura média (27°C para 24°C) e da salinidade durante o período chuvoso. Estes atuaram como fatores estressores, reduzindo a imunidade e favorecendo a manifestação da doença aliado à época chuvosa no nordeste que confere condições para maior ação do vírus (NUNES, 2005).

Concomitante com o surgimento das enfermidades, o Brasil foi incluído em uma ação *antidumping*¹ desencadeada por produtores dos Estados Unidos, devido às exportações durante o período de 2000 a 2003 e pelo seu potencial de expansão de áreas (ABREU *et al.*, 2011). Como consequência, as exportações brasileiras foram reduzidas e a produção de camarão passou a se voltar para o mercado interno (NATORI *et al.*, 2011; ROCHA, 2013).

¹ *Dumping* é a prática de exportar um produto a preço inferior ao praticado no mercado interno do país exportador com o objetivo de conquistar mercados ou dar vazão a excessos de produção. Essa prática é condenada pelo artigo VI do Acordo Geral sobre Aduanas e Comércio, incorporado à Organização Mundial de Comércio (MATTHE, 2010).

Um dos maiores problemas relacionados à qualidade de água em sistemas intensivos é o acúmulo de compostos nitrogenados tóxicos, amônia total e nitrito, resultantes da excreção dos animais cultivados e mineralização dos detritos orgânicos como fezes e restos de ração (AVNIMELECH, 1999).

O acúmulo de amônia no meio causa redução na taxa de crescimento, aumento no consumo de oxigênio e excreção de amônia, alteração na composição proteica e de aminoácidos no meio e pode provocar altas taxas de mortalidade (BARBIERI, 2010; KUHN *et al.*, 2010).

Existem ainda patógenos oportunistas que infectam os camarões com imunidade comprometida pelo IMNV. As bactérias do gênero *Vibrio* são oportunistas e podem causar enfermidades em condições subótimas de cultivo, sendo responsáveis por causar mortalidade em grande quantidade durante a produção de pós-larvas. Elas podem ser encontradas na água do cultivo, na microbiota intestinal de larvas e no alimento consumido pelos camarões (DECAMP *et al.*, 2008).

Muitos antibióticos, acrescentados à água de cultivo, já foram testados para combater esses patógenos. No entanto, em grande parte dos casos, esses antibióticos podem ser liberados em corpos d'água juntamente com o efluente, poluindo-os e infiltrando no solo (LE *et al.*, 2003). Vários estudos mostram que os antibióticos podem persistir no solo ou no ambiente aquático por meses após serem liberados, podendo trazer consequências graves como favorecer o desenvolvimento de bactérias super-resistentes a antibióticos (BAQUERO *et al.* 2008, KÜMMERER, 2009).

Para superar esses problemas um novo modelo de produção vem sendo disseminado desde 2005, em substituição às técnicas convencionais de cultivo. São os sistemas heterotróficos com manipulação de massa bacteriana, denominada biofloco. Essa tecnologia baseia-se na manipulação da relação C/N no meio de cultivo, adicionando-se fontes extras de carboidratos (CRAB *et al.* 2010), como por exemplo o melaço. A adição de fontes de carbono aumenta a concentração de carbono no meio, favorece o desenvolvimento das bactérias heterotróficas que assimilam a matéria orgânica presente no cultivo, diminuindo as concentrações de compostos nitrogenados no meio (NUNES, 2005).

1.1.2 Impactos causados pela carcinicultura

O crescimento acelerado e a rápida expansão econômica da carcinicultura em diversos países provocaram a intensificação dos sistemas de produção, visando ao aumento da produtividade, sem a preocupação com a biossegurança dos cultivos, sem regulamentação e consequentemente gerando grandes impactos ambientais. (IBAMA, 2005).

Os efluentes de carcinicultura, muitas vezes são despejados sem tratamento prévio em ecossistemas aquáticos (RIBEIRO *et al.*, 2014). Vários estudos apontam que esses efluentes alteram a concentração de nutrientes nos ecossistemas receptivos, modificando o estado trófico, podendo causar eventos tóxicos e até anóxicos (PIÑÓN-GIMATE *et al.*, 2009; SUÁREZ-ABELENDA *et al.*, 2014, CARDOSO-MOHEDANO *et al.*, 2016).

Além disso, um dos maiores impactos causados pelos cultivos de camarão em estuários é o efeito da liberação de efluentes ricos em nutrientes na produtividade de manguezais e na biogeoquímica do solo, em especial o ciclo do carbono (SUÁREZ-ABELENDA *et al.*, 2014). Florestas de mangues são consideradas sumidouros de carbono, pois são capazes de acumular grandes quantidades de carbono orgânico no solo, superiores a outras florestas como a boreal, a temperada e a tropical (DONATO *et al.*, 2011).

De acordo com SUÁREZ-ABELENDA *et al.* (2014) os efluentes provenientes da carcinicultura aumentam a atividade microbiana, reduzindo a concentração de carbono orgânico no solo. Além disso, grandes quantidades de nitrogênio são adicionadas aos cultivos, na alimentação, e parte dessas é assimilada pelos tecidos dos organismos e parte é metabolizada em NH_3 e eliminada, posteriormente as bactérias nitrificantes convertem NH_3 em NO_2 e, em seguida em NO_3 .

Concentrações elevadas de NO_3 mediam a oxidação de pirita por bactérias no solo. O excesso de NO_3 causa modificações nas condições anóxicas do solo e a pirita é degradada, liberando carbono orgânico, diminuindo a capacidade dos manguezais de reter o carbono no solo (SUÁREZ-ABELENDA *et al.* 2014).

1.1.3 Uso de probióticos na carcinicultura

Durante mais de trinta anos carcinicultores têm acrescentado antibióticos à ração ou água de cultivo com intenção de controlar o surgimento de doenças e até para aumentar o

crescimento e a conversão alimentar (PANDIYAN *et al.*, 2013). Muitos o fazem diariamente, de forma profilática, pois em cultivos intensivos a manipulação e contato com muitos indivíduos são fatores que causam muito estresse e acabam por enfraquecer o sistema imunológico dos camarões (CABELLO, 2006; THUY *et al.*, 2011).

No entanto, diversos trabalhos apontam que grandes quantidades de antibióticos não são assimiladas pelos organismos alvos (THUY *et al.*, 2011) podendo ser liberadas nos efluentes, nos corpos d'água adjacentes, ou acumular-se no solo de manguezais e outros ecossistemas. Em alguns casos, dependendo do antibiótico utilizado, entre 60-85% das drogas podem ser excretadas pelos organismos sem sofrerem nenhuma modificação e acabarem sendo ingeridas por animais silvestres que podem também servir para consumo humano (THUY *et al.*, 2011).

Até mesmo antibióticos autorizados por órgãos reguladores são potencialmente tóxicos para organismos silvestres e algas (FERREIRA *et al.*, 2007). Além disso, a presença dessas drogas no ambiente pode induzir à seleção de bactérias resistentes a antibióticos, que podem atingir os humanos, através da cadeia alimentar e causar severos problemas de saúde (CABELLO, 2006; SORUM, 2006; DA COSTA *et al.*, 2013; TANWAR *et al.*, 2014).

Por outro lado, esses antibióticos podem inibir ou matar a microbiota benéfica presente no trato digestivo de peixes silvestres e até em humanos, prejudicando a nutrição, fisiologia e imunidade (REKECKI *et al.*, 2009; MAYNARD *et al.*, 2012).

Na presença do antibiótico estressor, as bactérias são capazes de evoluir rapidamente, devido à alta taxa de mutação e à propriedade de resistir às drogas, geralmente codificada por genes do plasmídeo, que podem ser transferidos de uma espécie para outra por transferência lateral de genes (JACKSON *et al.*, 2011; BANERJEE e RAY, 2017).

Por esses problemas, tem-se estudado a introdução de probióticos nos meios de cultivo para melhorar as práticas de manejo e biossegurança, reduzindo ou eliminando a utilização dos antibióticos e contribuindo para uma prática sustentável (DA SILVA *et al.*, 2012; PANDIYAN *et al.*, 2013; BANERJEE e RAY, 2017).

O termo probiótico tem sido definido de formas diferentes e, atualmente, alguns autores concordam que “são microrganismos vivos que, quando administrados na quantidade correta, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO, 2006; KECHAGIA *et al.*, 2013).

Os primeiros registros do uso de probióticos na aquicultura datam da década de 1980, desde então pesquisas têm se aprofundado com intuito de mostrar que estes são mais sustentáveis e menos poluentes que os antibióticos (BANERJEE e RAY, 2017).

Para que um organismo possa ser utilizado como probiótico na aquicultura deve obedecer a uma série de critérios como: ser organismos não patogênicos e não virulento para o organismo cultivado, não apresentar gene de resistência a antibióticos codificados no plasmídeo (GUEIMONDE *et al.*, 2013), tolerar variações de pH para sobreviver no trato digestivo do hospedeiro, ser capaz de colonizar a superfície da mucosa do trato digestivo, possuir atividade antagonica contra patógenos, como produção de bacteriocinas ou outros compostos antimicrobianos, produzir enzimas extracelulares e vitaminas para o hospedeiro, ser natural do interior de outros organismos para adaptação mais fácil no interior do hospedeiro (BANERJEE e RAY, 2017).

Bactérias do gênero *Bacillus* já têm sido bastante utilizadas e estudadas como probiótico em meios de cultivo de camarão (RENGIPAT *et al.*, 2000; ZIAEI-NEJAD *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2010). Os benefícios apontados são o aumento da taxa de sobrevivência, melhoria no desenvolvimento, maior resistência ao estresse, melhoria da imunidade (LIU *et al.*, 2010) e melhoria na qualidade da água (BOOPATHY *et al.*, 2015).

1.1.3.1 Gênero *Bacillus* utilizado como probiótico

O gênero *Bacillus* é bastante heterogêneo genética e fenotipicamente, pertence ao grupo de microrganismos mais amplamente distribuídos na natureza e pode ser isolado a partir de amostras de solo e água. Seus representantes são aeróbios ou aeróbios facultativos e possuem forma de bastonetes (PRIEST, 1989).

Muitas espécies do gênero *Bacillus* são comercialmente importantes, pois são responsáveis pela produção de uma gama de produtos, dentre eles enzimas, antibióticos e inseticidas. A grande parte não apresenta riscos ao ser humano e a outros animais, com exceção de alguns patógenos conhecidos como *B. anthracis* que causa o anthrax e *B. cereus* que pode causar intoxicação alimentar (PRIEST, 1990). A segurança da utilização de *Bacillus* spp. já foi extensivamente estudada (SCAN, 2000a; ISHIBASHI e YAMAZAKI, 2001; LOGAN, 2004; SANDERS *et al.*, 2003), comprovando que a maioria das espécies do gênero aparenta não causar efeitos colaterais no ser humano.

A maioria das espécies de *Bacillus* é capaz de formar esporos para sobreviver em condições ambientais extremas. A esporulação é ativada quando há declínio na disponibilidade de nutrientes no ambiente que cerca a célula bacteriana vegetativa, desencadeando um processo composto por vários estágios com duração média de oito horas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008, SELLA *et al.*, 2014b). Durante a esporulação cada célula

germinativa origina uma estrutura dormente, o esporo, que apresenta maior resistência às condições físicas e químicas adversas, aumentando também a longevidade da célula no ambiente (VESSONI PENNA *et al.*, 2003).

O esporo liberado consiste em um núcleo com cromossomo inativo, córtex formado por peptidoglicanos e uma capa protéica. Essa estrutura faz com que o esporo seja capaz de resistir à radiação ultravioleta, a temperaturas elevadas (80 a 85 °C), exposição a solventes e a algumas enzimas (NICHOLSON *et al.*, 2000). O esporo é desidratado e germina quando é exposto aos nutrientes necessários, permitindo a entrada de água e removendo as camadas externas do esporo para o crescimento de uma célula vegetativa (MOIR, 2006).

Provavelmente, a capacidade de formação de esporos é o principal motivo da utilização de *Bacillus* spp. como probióticos, pois facilita a estocagem à temperatura ambiente sem que haja perda da viabilidade. *Bacillus* são capazes de sobreviver em valores baixos de pH, característicos de sistemas digestivos que, em geral, são impeditivos para a sobrevivência de microrganismos (BARBOSA *et al.*, 2005; SPINOSA *et al.*, 2000). Dessa forma, há garantias de que, ao ser ingerido, o probiótico alcançará o intestino intacto.

Esporos de *Bacillus clausii* têm sido utilizados como probióticos no trato digestivo humano desde 1958 com a produção da Enterogermina, um suplemento medicinal produzido na Itália. Na carcinicultura, cepas do gênero *Bacillus* têm sido utilizadas para proteger os camarões contra patógenos, melhorar seu crescimento e para melhorar as condições da água de cultivo. As espécies mais utilizadas com esses propósitos são *Bacillus subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans* e *Bacillus licheniformis* (CUTTING, 2011).

Esporos do gênero *Bacillus* são frequentemente encontrados em amostras de solo e durante muito tempo acreditou-se ser esse seu habitat principal. No entanto, estudos revelaram a presença de esporos no trato digestivo de humanos, de insetos e de outros animais (BARBOSA *et al.*, 2005; FAKHRY *et al.*, 2008; HONG *et al.*, 2009a), bem como nas fezes de diversos animais, em quantidades que sugerem não serem resultado apenas da ingestão, mas de um possível estabelecimento nesse habitat (HONG *et al.*, 2009).

O efeito probiótico conferido aos esporos em germinação foi identificado em vários estudos com ratos, em que se observou uma resposta imunológica no trato gastrointestinal à presença desses esporos que poderia conferir maior resistência a patógenos (HONG *et al.*, 2004).

La Ragione *et al.* (2001) observaram o efeito probiótico de *B. subtilis* em aves recém nascidas livres de patógenos inoculadas inicialmente com suspensão de esporos de *B.*

subtilis e, em seguida, após 24 h, com cepa virulenta de *E. coli*. Resultados mostraram supressão da *Escherichia coli* em até mil vezes com relação aos indivíduos sem o probiótico. Posteriormente, resultados semelhantes foram obtidos para supressão de *Clostridium perfringens* (LA RAGIONE; WOODWARD, 2003).

Gullian *et al.* (2004) reportaram efeitos inibitórios de uma cepa de *Bacillus* P64 isolada do hepatopâncreas de *L. vannamei* contra *V. harveyi* S2, formando um halo inibitório de 15,3 mm de diâmetro.

Os efeitos inibitórios de *Bacillus* spp. são atribuídos à sua habilidade de secretar substâncias como toxinas, enzimas bacteriolíticas, metabólitos secundários, substâncias antibióticas e bacteriocinas que podem provocar efeitos bacteriostáticos ou bactericidas em grande variedade de indivíduos gram-positivos e gram-negativos, como também podem causar efeitos inibitórios em *Vibrio* (SCHULZ *et al.*, 2005). As bacteriocinas abrangem um grupo heterogêneo de peptídeos sintetizados por ribossomos, com composição variando de trinta a sessenta aminoácidos. Também variam em atividade, mecanismos de ação, massa molecular, propriedades bioquímicas e origem genética (CLEVELAND *et al.*, 2001; GÁLVEZ *et al.*, 2008).

1.1.4 Hábitos alimentares e exigência nutricional de peneídeos

Os camarões da família Penaeidae são considerados onívoros, alimentando-se basicamente do que estiver disponível no ambiente, sendo que os componentes principais da alimentação, no ambiente natural, são algas, detritos e presas. Geralmente, são classificados como onívoros na fase juvenil, e na fase adulta podem ser onívoros, detritívoros, oportunistas, carnívoros ou predadores, alimentando-se continuamente ou frequentemente durante períodos de atividade alimentar (NUNES, 2005).

Em cultivos, é comum ainda o consumo de poliquetas, anfípodos, copépodos, restos de outros decápodos e de diferentes crustáceos, foraminíferos, nematóides, moluscos, dentre outros (NUNES, 2005)..

Tan *et al.* (2005) relatam que a dieta de camarões pode chegar a constituir cerca de 40 a 60% do valor total dos custos de produção, de rações comerciais que geralmente têm alto custo, onerando a atividade aquícola. Esse alto custo se dá, principalmente, devido ao componente proteico presente nas rações (BENDER *et al.*, 2004).

A ração apropriada deve conter quantidades balanceadas de aminoácidos, ácidos graxos e minerais (SUAREZ *et al.*, 2009), por ser essencial ao cultivo, sua demanda crescente

provoca aumento dos preços, dificultando a rentabilidade do processo. Essa necessidade estimula pesquisas por fontes alternativas mais baratas e viáveis (SALZE *et al.*, 2010).

1.1.5 Sistema de Bioflocos

A tecnologia de biofoco (BFT) começou a ser estudada por volta de 1970, desenvolvida com objetivo de promover benefícios econômicos e ambientais pelo aumento da biossegurança e redução no uso de água, no descarte de efluentes e na quantidade de alimentação artificial utilizada (WEI *et al.*, 2016).

A utilização do sistema de bioflocos para a carcinicultura é uma das formas de melhorar a produção e retenção de nutrientes nos cultivos, que pode ser amplificada pela manipulação da proporção carbono:nitrogênio no meio (AVNIMELECH, 1999). Essa proporção pode ser balanceada para o desenvolvimento da biomassa bacteriana, pela adição de fontes de carbono como glicose, amido, sucrose, etc. (AVNIMELECH, 1999; CRAB *et al.*, 2007; HARGREAVES, 2006).

Quando a relação entre carbono e nitrogênio está bem balanceada, amônia e excretas nitrogenadas podem ser convertidas em biomassa bacteriana; a adição de carboidratos estimula o crescimento de bactérias heterotróficas, aumentando o consumo de compostos nitrogenados para síntese proteica bacteriana (AVNIMELECH, 1999, SCHNEIDER *et al.*, 2005; CRAB *et al.*, 2012).

Bactérias heterotróficas utilizam carboidratos como fonte de energia para síntese proteica, crescimento e divisão celular. Esses microrganismos são responsáveis pela imobilização do nitrogênio do meio, uma vez que utilizam nitrogênio inorgânico disponível para realizar a síntese proteica (AVNIMELECH, 1999). Porém, para que este processo seja eficiente, a relação carbono:nitrogênio no meio deve ser maior que 10:1 (MORIARTY, 1997).

No entanto, o sistema BFT apresenta algumas dificuldades, pois nas primeiras semanas do cultivo, devido à ausência de uma comunidade microbiana heterotrófica estabelecida, pode ocorrer aumento na concentração de amônia, causado pelas excretas e excesso de ração acumulados na água. Nesse início, as bactérias autotróficas são responsáveis pela metabolização da amônia, mas o fazem lentamente convertendo-a em nitrito. O nitrito pode causar alta mortalidade e inibir o crescimento dos camarões. Entretanto, no meio existem grupos de bactérias autotróficas que metabolizam nitrito em nitrato, menos tóxico, porém são bactérias de crescimento lento, permitindo que o nitrito se acumule (LARA *et al.*, 2014).

Portanto, o objetivo do cultivo com biofoco é estimular o estabelecimento de uma comunidade heterotrófica estável, para isso adiciona-se uma fonte de carbono orgânico, como o melaço (SAMOCHA *et al.*, 2007), dextrose (KRUMMENAUER *et al.*, 2012), farinha de mandioca (FROÉS *et al.*, 2012) entre outros, em proporções de 15 a 20:1, ao meio de cultivo, para que o nitrogênio amoniacal seja assimilado pelas bactérias heterotróficas para formação de biomassa, reduzindo a metabolização do mesmo em nitrito (LARA *et al.*, 2014).

. Para minimizar o problema gerado pelo possível acúmulo de nitrito no meio, até que ocorra a estabilização do sistema, que pode demorar algumas semanas, o biofoco pode ser formado externamente ao tanque de cultivo e adicionado ao meio.

Estudos como os de Arnold *et al.* (2009) e Megahed (2010) sugerem que biofocos podem melhorar a taxa de crescimento de camarões, se forem utilizados como suplemento alimentar em cultivos. O consumo de biofocos aumenta a eficiência no consumo alimentar, pois ocorre a reciclagem de resíduos de alimentos e fecais que podem ser reutilizados de um ciclo de cultivo para outro. O sistema de biofoco já tem sido utilizado com resultados bastante favoráveis em fazendas de camarão (BAUER *et al.*, 2012).

1.1.6 Lodos ativados

O crescimento industrial e a evolução dos processos de produção tornaram-se imprescindíveis na sociedade moderna. No entanto, apesar de sua importância a atividade industrial é frequentemente apontada como causadora de diferentes tipos de poluição do meio ambiente, gerando resíduos que precisam ser descartados de alguma forma (FREIRE *et al.*, 2000). Diferentes formas de tratamento foram desenvolvidas para diferentes tipos de rejeitos de acordo com sua natureza (líquidos, sólidos ou gasosos) (MAZZER e CAVALCANTI, 2004).

O tratamento de efluentes pode ser realizado por processos físicos, químicos ou biológicos. Tratamentos baseados em processos biológicos são mais frequentemente utilizados, pois permitem tratar grandes volumes de efluentes a custos comparativamente mais baixos (FREIRE *et al.*, 2000; DA MOTTA *et al.*, 2003).

O fundamento deste tipo de tratamento é a utilização de matéria orgânica como substrato para o crescimento e desenvolvimento microbiano. Os processos de degradação podem ser aeróbios ou anaeróbios, dependendo do aceptor de elétrons disponível no meio. No caso de meios aeróbios, onde há disponibilidade de oxigênio molecular, o mesmo atua como

acceptor, produzindo CO_2 e H_2O ; quando não há oxigênio disponível são utilizados outros compostos como carbono, enxofre ou nitrogênio com conseqüente produção de CH_4 e CO_2 (FREIRE *et al.*, 2000).

O tratamento biológico consiste na remoção da matéria orgânica presente nos efluentes, principalmente rejeitos industriais e usualmente, o monitoramento do desempenho do sistema é feito por determinações de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO) ou carbono orgânico total (COT) (BRITTO e RANGEL, 2008).

Na busca de um sistema de tratamento eficiente para esgotos municipais Arden e Lockett, (1914) descobriram que a aeração das águas residuárias em sistemas de tratamento por sedimentação, resultava na remoção do material orgânico ao mesmo tempo em que se formavam flocos microbianos macroscópicos de fácil remoção por sedimentação, produzindo um lodo biológico (VAN HAANDEL E MARAIS, 1999). Posteriormente, constataram que ao coletar e adicionar esse lodo a outra batelada de água, o processo de remoção da matéria orgânica era acelerado e a quantidade de lodo aumentava, sendo chamado lodo ativado (VAN HAANDEL E MARAIS, 1999). Dentre os processos aeróbios o sistema de lodos ativados é o mais utilizado para efluentes complexos, pois opera com pouco substrato auxiliar (JENKINS *et al.*, 2003).

O lodo consiste em uma massa microbiana composta por várias espécies de bactérias, fungos, protozoários e outros microrganismos que degradam a matéria orgânica, principalmente através da respiração celular que promove a oxidação de compostos orgânicos com quebra de moléculas complexas, transformando-as em moléculas mais simples e estáveis (FREIRE *et al.*, 2000).

O sistema de lodos ativados consiste basicamente em um tanque de aeração, no qual o efluente é introduzido e misturado ao lodo ativado (licor misto) sob aeração mecânica constante para que ocorra a oxidação da matéria orgânica, e um tanque de decantação adjacente onde ocorre a sedimentação dos flocos de microrganismos. Uma parte dos flocos sedimentados é recirculada para o tanque de aeração e o efluente clarificado é conduzido para desinfecção ou disposição final. A recirculação da biomassa permite um tempo maior de residência do lodo no sistema, facilitando o processo de oxidação dos compostos orgânicos (FREIRE *et al.*, 2000). Com a recirculação é possível manter a massa e a concentração de lodo constantes, para isso é necessário realizar o descarte do lodo excedente, que na capacidade máxima do reator é feita na mesma quantidade em que o lodo cresce.

Os principais inconvenientes associados ao tratamento biológico com lodo ativado, são o alto custo de implementação e a formação de grandes quantidades de lodo

excedente. O lodo em excesso deve passar por um processo de tratamento e disposição final, para evitar criar um novo problema. Esse lodo passa por um processo de estabilização para reduzir a fração de matéria viva, em seguida é realizada a remoção de água, formando um produto final sólido ou semi-sólido que pode ser utilizado na agricultura, ser enterrado ou incinerado. Algumas pesquisas apontam usos alternativos como a reutilização desta biomassa para adubo ou sua utilização na dieta de camarões (KUHN *et al.*, 2009).

Para suprir as necessidades da carcinicultura várias técnicas de cultivo e tipos diferentes de tratamento de água têm sido estudadas. O sistema de bioflocos tem sido umas das principais formas de manter o cultivo sem recirculação de água, conseqüentemente reduzindo a liberação de efluentes (NUNES, 2010).

Quando o efluente é tratado por processo biológico aeróbio, é possível produzir o lodo que formará o biofoco (KUHN *et al.*, 2009) o qual pode ser acrescentado no cultivo com o intuito de evitar a mortalidade de camarões, durante o período inicial do cultivo BFT, acelerando a estabilização da comunidade bacteriana heterotrófica. A produção de biofoco em reatores pode ser uma forma de otimizar a produção e manipular, conforme a necessidade, a produção de proteína bruta, o potencial probiótico, quantidade de lipídios. Isso vai depender, por exemplo, da fonte de carbono fornecida ao reator, do oxigênio dissolvido e da presença de compostos nitrogenados (WEI *et al.*, 2016).

Nesse trabalho foi analisada a presença de *Bacillus* spp. no sistema de lodos ativados, no biofoco formado, e a composição bromatológica do biofoco, além da remoção de matéria orgânica do sistema.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M.C.S. de; MATTOS, P. de; LIMA, P.E.S.; PADULA, A.D. Shrimp farming in coastal Brazil: Reasons for market failure and sustainability challenges. **Ocean & Coastal Management**. 54(9):658-667, 2011.
- ANAND, P.S.S.; KOHLI, M.P.S.; KUMAR, S.; SUNDARAY, J.K.; ROY, S.D.; VENKATESHWARLU, G.; SINHA, A.; PAILAN, G.H... Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. **Aquaculture**. 418 - 419, 108 - 115, 2014
- ARNOLD, S.J.; COMAN, F.E.; JACKSON, C.J.; GROVES, S.A. High-intensity, zero water exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density. **Aquaculture**. 293, 42-48, 2009.
- AVNIMELECH, Y. C/N ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**. 176, 227-235, 1999.
- BARBIERI, E. Acute toxicity of ammonia in white shrimp (*Litopenaeus schmitti*) (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. **Aquaculture**. 306, 329 - 333, 2010.
- BANERJEE, G., RAY, A.K. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. **Research in Veterinary Science**. 115,66 - 77, 2017.
- BARBOSA, T.M., SERRA, C.R., LA RAGIONE, R.M., WOODWARD, M.J., HENRIQUES, A.O. Screening for Bacillus isolates in the broiler gastrointestinal tract. **Applied Environmental Microbiology**. 71, 968-978, 2005.
- BAQUERO, F. J.L. MARTINEZ, R. CANTON, Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**. 19, 260-265, 2008.
- BAUER, W. *et al.* Substitution of fishmeal with microbial flocculent and soy protein concentrate in diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**. 342, 112-116, 2012.
- BARRAZA-GUARDADO, R. H., ARREOLA-LIZÁRRAGA, J. A., LÓPEZ-TORRES, M. A., CASILLAS-HERNÁNDEZ, R., MIRANDA-BAEZA, A., MAGALLÓN-BARRAJAS, F., IBARRA-GÁMEZ, C. Effluents of shrimp farms and its influence on the coastal ecosystems of bahía de Kino, Mexico. **The Scientific World Journal**, 2013.
- BENDER, J.; LEE, R.; SHEPPARD, M.; BRINKLEY, K.; PHILIPS, P.; YEBOAH, Y.; WAH, R.C. A waste effluent treatment system based on microbial mats for black sea bass *Centropristis striata* recycled water mariculture. **Aquaculture Engineering**. 31, 73-82, 2004.
- BOOPATHY, R.; KERN, C.; CORBIN, A. Use of Bacillus consortium in waste digestion and pathogen control in shrimp aquaculture. **International Biodeterioration and Biodegradation**. 102, 159 - 164, 2015.

BRITTO, M.J; RANGEL, M.C. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais. **Química Nova**. 31, (1), 114-122, 2008.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environmental Microbiology**. 8, 1137-1144, 2006.

CARDOSO-MOHEDANO, J. G.; BERNARDELLO, R.; SANCHEZ-CABEZA, J. A.; PÁEZ-OSUNA, F.; RUIZ-FERNÁNDEZ, A. C.; MOLINO-MINERO-RE, E.; CRUZADO, A. Reducing nutrient impacts from shrimp effluents in a subtropical coastal lagoon. **Science of the Total Environment**. 571(June), 388–397, 2016.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**. 270, 1-4, 1-14, 2007.

CRAB, R., CHIELENS, B., WILLE, M., BOSSIER, P., VERSTRAETE, W., The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**. 41, 559-567, 2010.

CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**. 356 – 357, 351 – 356, 2012.

CUTTING, S. M. *Bacillus* probiotics. **Food Microbiology**, 28(2), 214–220, 2011.

DA MOTTA, M. et al. Estudo do funcionamento de estações de tratamento de esgotos por análise de imagem: validações e estudo de caso. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**. 8(3), 170-181, 2003.

DA SILVA, E.F.B.; FRÓES, C. N.; DE SOUZA, D. M.; SOARES, R.; PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.; BALLESTER, E. L. C. Uso de probióticos na produção de pós-larvas de camarão-rosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 47(6), 869–874, 2012.

DECAMP, O.; MORIARTY, D.J.W.; LAVENS, P.. Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. **Aquaculture Research**. 39, 334 – 338, 2008.

DONATO, D.; KAUFFMAN, J.B.; MURDIYARSO, D.; KURNIANTO, S.; STIDHAM, M.; KANNINEN, M. Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. **Nature Geoscience**. 4, 293 – 297, 2011.

FAKHRY, S., SORRENTINI, I., RICCA, E., DE FELICE, M., BACCIGALUPI, L., Characterization of spore forming Bacilli isolated from the human gastrointestinal tract. **Journal of Applied Microbiology**. 105, 2178-2186, 2008.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture. FAO fisheries and aquaculture department, Rome. 2010.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2016: Contributing to food security and nutrition for all. Rome, 2016.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Yearbook of Fishery Statistics. Summary table, 2006.

FERREIRA C.S., NUNES B.A., HENRIQUES-ALMEIDA J.M., GUILHERMINO L. Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. **Ecotoxicology Environmental Safety** 67, 452 – 458, 2007.

FREIRE *et al.* Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**. 23 (4), 2000.

FRÓES, C., FÓES, G., KRUMMENAUER, D., BALLESTER, E., POERSCH, L. H., & WASIELESKY, W. Fertilização orgânica com carbono no cultivo intensivo em viveiros com sistema de bioflocos do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. **Atlântica**. 34(1), 31 – 39, 2012.

GUEIMONDE, M.; SÁNCHEZ, B.; REYES-GAVILÁN, C.G.D.L.; MARGOLLES, A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. **Frontiers in Microbiology**. 4, 202, 2013.

HARGREAVES, J.A., Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**. 34, 344 – 363, 2006.

HONG, H. A.; KHANEJA, R.; TAM, N. M. K.; CAZZATO, A.; TAN, S.; URDACI, M.; CUTTING, S. M. *Bacillus subtilis* isolated from the human gastrointestinal tract. **Research in Microbiology**. 160(2), 134–143, 2009.

IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Diagnóstico da Carcinicultura no Estado do Ceará, Vol. I, Vol. II. DIPRO/DILIQ/DIFAPE/GEREX-CE, Brasília — DF 177 (Mapas), 2005.

ISHIBASHI, N., YAMAZAKI, S. Probiotics and safety. **American Journal Clinical Nutrition**. 73, 465S-470S, 2001.

JACKSON, R.W.; VINATZER, B.; ARNOLD, D.L.; DORUS, S.; MURILLO, J. The influence of the accessory genome on bacterial pathogen evolution. **Mobile Genetics Elements**. 1, 55–65, 2011.

KECHAGIA, M.; BASOULIS, D.; KONSTANTOPOULOU, S.; DIMITRIADI, D.; GYFTOPOULOU, K.; SKARMOUTSOU, N.; FAKIRI, E.M. Health benefits of probiotics: a review. **International Scholarly Research Notices Nutrition**, 2013.

KUHN, D.D.; BOARDMAN, G.D.; LAWRENCE, A.L.; MARSH, L.; FLICK, G.J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**. 296, p. 51-57, 2009.

- KUHN, D. D.; SMITH, S.A.; BOARDMAN, G. D.; ANGIER, M.W.; MARSH, L.; FLICK JR, G. J. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. **Aquaculture**, 309(1 - 4), 109 - 114, 2010.
- KUMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment: a review part I. **Chemosphere**. 75, 417 - 434, 2009
- KRUMMENAUER, D.; SEIFERT JÚNIOR, C. A.; POERSCH, L. H.; FOES, G. K.; LARA, G. R. DE; WASIELESKY, W. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise da reutilização da água. **Atlântica**, 34(2), 103 - 111, 2012.
- LARA, G; KRUMMENAUER, D; POERSCH, H; WASIELESKY, W.J. Sistema de Bioflocos : processos de assimilação e remoção do nitrogênio. **Revista Panorama da Aquicultura**. 1-8, 2014.
- LA RAGIONE, R.M *et al.* *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* 070:K80 in poultry. **Veterinary Microbiology**. 79, 133-142, 2001.
- LA RAGIONE, R.M., WOODWARD, M.J., Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens. **Veterinary Microbiology**. 94, 245-256, 2003.
- LACERDA, L.D.; SOARES, T.M.; COSTA, B.G.B.; Godoy, M.D.P. Mercury emission factors from intensive shrimp aquaculture and their relative importance to the Jaguaribe River Estuary, NE Brazil. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 87: 657 - 661, 2011.
- LIU, K.-F.; CHIU, C.-H.; SHIU, Y.-L.; CHENG, W.; LIU, C.H.. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. **Fish & Shellfish Immunology**, 28(5), 8378(5), 2010.
- LOGAN, N.A.,. Safety of aerobic endospore-forming bacteria. In: Ricca, E., Henriques, A.O., Cutting, S.M. (Eds.), *Bacterial Spore Formers: Probiotics and Emerging Applications*. **Horizon Bioscience**. 93-106. Norfolk, UK. 2004.
- MATTKE, Marcos V. O Acordo Geral de Tarifas e Comércio e a construção da hegemonia político-econômica dos EUA após a II Guerra Mundial (1947-1994). Monografia: UniCuritiba: 2010.
- MAYNARD, C.L.; ELSON, C.O.; HATTON, R.D.; WEAVER, C.T. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. **Nature**.489, 231-241, 2012.
- MEGAHED, M.E., The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. **Journal of the Arabian Aquaculture Society**. 5, 119-142, 2010.
- MOIR, A. How do spores germinate? **Journal Applied Microbiology**. 101, 526-530, 2006.

MORIARTY, D.J.W. The role of microorganisms in aquaculture ponds. **Aquaculture**, 151: 333-349, 1997.

NATORI, M.M.; SUSSEL, F.R.; SANTOS, E.C.B. dos; PREVIERO, T. de C.; VIEGAS, E.M.M.; GAMEIRO, A.H. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: avanços tecnológicos e desafios. **Informações Econômicas** 41(2):61-73, São Paulo, SP, Brasil. 2011.

NICHOLSON, W.J. *et al.* Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. 64, 548-572, 2000.

NUNES, A.J.P. Um ano de mudanças, perdas e ganhos. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro. V.15, n. 92, 26, 2005.

PANDIYAN, P.; BALARAMAN, D.; THIRUNAVUKKARASU, R.; GEORGE, E. G. J.; SUBARAMANIYAN, K.; MANIKKAM, S.; SADAYAPPAN, B. Probiotics in aquaculture. **Drug Invention Today**. 5(1), 55-59, 2013.

PIÑÓN-GIMATE, A.; SOTO-JIMÉNEZ, M.F.; OCHOA-IZAGUIRRE, M.J.; GARCÍA-PAGÉS, E.; PÁEZ-OSUNA, F. Macroalgae blooms and $\delta^{15}\text{N}$ in subtropical coastal lagoons from the south-eastern Gulf of California: discrimination among agricultural, shrimp farm and sewage effluents. **Marine Pollution Bulletin**. 58, 1144 – 1151, 2009.

PRIEST, F.G. Isolation and identification of aerobic endospore-forming bacteria. In C.R. Harwood (ed.), *Biotechnology Handbooks 2: Bacillus*. Plenum Publishing Corp., New York. 27-56, 1989.

REKECKI, A.; DIERCKENS, K.; LAUREAU, S.; BOON, N.; BOSSIER, P.; VAN DEN BROECK, W. Effect of germ-free rearing environment on gut development of larval sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). **Aquaculture**. 293, 8 – 15, 2009.

RENGPIPAT, S.; TUNYAMUM, A.; FAST, A.W.; PIYATIRATITIVORAKU, S.; MENASVETA P. Enhanced growth and resistance to vibrio challenge in pond-reared black tiger shrimp *Penaeus monodon* fed a *Bacillus* probiotic, **Diseases of Aquatic Organisms**, 55: 169-173, 2003.

RIBEIRO, L. F., SOUZA, M. M., BARROS, F., & HATJE, V. Desafios da carcinicultura: aspectos legais, impactos ambientais e alternativas mitigadoras. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, 14(3), 365 – 383, 2014.

SALZE, G.; MCLEAN, E.; BATTLE, P.R.; SCHWARZ, M.H.; CRAIG, S.R. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture** 298, 294, 299, 2010.

SAMOCHA T.M.; PATNAIK S.; SPEED M.; ALI A.M.; BURGER J.M.; ALMEIDA R.V.; AYUB Z.; HARISANTO M.; HOROWITZ A.; BROOK D.L. Use of molasses as carbon

source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering** 36:184 – 191, 2007.

SANCHES, E.G.; PANNUTI, C.V.; SEBASTIANI, E.F. A piscicultura marinha como opção para a carcinicultura brasileira. **Aquicultura & Pesca**, 36, 12-19, 2008.

SANDERS, M.E.; MORELLI, L.; TOMPKINS, T.A.. Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 2, 101-110, 2003.

SANTOS, P.N. Validação de metodologias para determinação de antimicrobianos em pescado por cromatografia líquida de alta eficiência. 84p., Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. 2009.

SCAN; Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the Safety of the Use of *Bacillus* Species in Animal Nutrition. European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General. (SCAN) **Scientific Committee on Animal Nutrition**. 2000a.

SCHNEIDER, O.; SERETI, V.; EDING, E.H., VERRETH, J.A.J. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**. 32, 379 – 401, 2005.

SCHULZ, D.; BONELLI, R.R.; BATISTA, C.R.V. Bacteriocinas e enzimas produzidas por *Bacillus* spp. para conservação e processamento de alimentos. **Aliment Nutrition**. 4, 403 – 411, 2005.

SCOPEL, B.R.; SCHVEITZER, R.; SEIFFERT, W.Q.; PIERRI, V.; ARANTES, R. F.; VIEIRA, F. N.; VINATEA, L. A. Substituição da farinha de peixe em dietas para camarões marinhos cultivados em sistema bioflocos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. 46(8), 928–934, 2011.

SELLA, S. R. B. R.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R. Life cycle and spore resistance of spore-forming *Bacillus atrophaeus*. **Microbiological Research**, 169, 12, 931-939, 2014b.

SORUM, H. Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. Aarestrup, F.M. (ed.). Washington, DC, USA: American Society for Microbiology Press, 213 – 238 (Chapter 13). 2006.

SPINOSA, M.R. *et al.* On the fate of ingested *Bacillus* spores. **Research in Microbiology**. 151, 361-368. 2000.

SUAREZ, J.A.; GAXIOLA, G.; MENDOZA, R.; CADAVID, S.; GARCIA, G.; ALANIS, G.; SUAREZ, A.; FAILLACE, J.; CUZON, G. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture**. 289, p.118-123. Supamattaya, K., Kiriratnikom, S., 2009.

SUÁREZ-ABELENDA, M.; FERREIRA, T. O.; CAMPS-ARBESTAIN, M.; RIVERA-MONROY, V. H.; MACÍAS, F.; NÓBREGA, G. N.; OTERO, X. L. The effect of nutrient-rich effluents from shrimp farming on mangrove soil carbon storage and geochemistry under semi-arid climate conditions in northern Brazil. **Geoderma**, 213, 551–559, 2014.

TAN, B.; KANGSEN, M.; SHIXUAN, Z.; QICUN, Z.; LIHE, L.; YU, Y. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**. 36, 439-444, 2005.

TANWAR, J.; FATIMA, Das, S.; Z., HAMEED, S., 2014. Multidrug resistance: an emerging crisis. **Interdisciplinary Perspective Infectious Diseases**. 2014.

THUY, H.T.T., NGA, L.P., LOAN, T.T.C., Antibiotic contaminants in coastal wetlands from Vietnamese shrimp farming. **Environmental Science and Pollution Research**. 18, 835-841, 2011.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. eds. Microbiologia. 5.ed. São Paulo: Atheneu, cap. 2, 103-476, 2008.

VAN-HAANDEL, A.; MARAIS, G. O comportamento do sistema de lodo ativado. Teoria e aplicações para projetos e operação. Campina Grande: epgraf. 488, 1999

VESSONI PENNA, T. C.; MACHOSHVILI, I. A.; ISHII, M. Effect of media on spore yield and thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 105/108, 287-294, 2003.

WEI, Y.F.; LIAO, S-A.; WANG, A-L. The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. **Aquaculture**. 465, 88-93, 2016.

ZIAEI-NEJAD, S.; REZAEI, M.H.; TAKAMI, G.A.;L. LOVETT, D.L.; MIRVAGHEFI, A-R.; SHAKOURI, M. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**. 252(2-4), 516-524, 2006.

CAPÍTULO 2

Avaliação do perfil bromatológico do biofloco gerado em sistema de lodo ativado para tratamento de efluente de carcinicultura

RESUMO

Os efluentes de carcinicultura são ricos em matéria orgânica dissolvida e particulada, compostos nitrogenados, antibióticos, fertilizantes e outros compostos químicos. Por esse motivo, se liberados sem tratamento no ambiente, podem causar grandes alterações ecológicas. Esses efluentes podem ser tratados em sistemas aeróbios como em sistemas de lodos ativados, produzindo biofloco para suplementar a ração de camarões. Assim, neste trabalho, avaliou-se o perfil bromatológico do biofloco gerado em sistema de lodos ativados com o objetivo de suplementar a alimentação do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*. Para isso foi utilizado um sistema de lodos ativados, em escala de bancada, alimentado com água residuária de cultivo do camarão, *Litopenaeus vannamei*, com reaproveitamento de água. Foram determinados: pH, oxigênio dissolvido (OD), demanda química de oxigênio (DQO), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos sedimentáveis (SSS). Determinou-se, no biofloco, proteína bruta, umidade e voláteis, extrato etéreo, fibra bruta e matéria mineral. A remoção média de DQO foi de $68 \pm 0,19$ % em pH médio $7,69 \pm 0,71$. Encontrou-se 45,82%, de proteína bruta, 20,57% umidade e voláteis, 1,54%, extrato etéreo e 0,22% fibra bruta e de 8,71% matéria mineral. O biofloco produzido no sistema de lodos ativados tem teor protéico elevado, embora a eficiência de remoção de matéria orgânica tenha sido relativamente baixa para esse tipo de sistema.

Palavras-chave: sistema aeróbio, reaproveitamento de água, melaço, cultivo superintensivo

Evaluation of the bromatological profile of the biofloc generated in activated sludge system for treatment of shrimp farming effluent

ABSTRACT

Shrimp farming effluents are rich in dissolved and particulate organic matter such as nitrogen compounds, antibiotics, fertilizers and other chemical compounds. For this reason, if released untreated in the environment, they can cause major ecological problems. These effluents can be treated in aerobic systems like activated sludge system, with production of biofloc that can be used to supplement the shrimp feed. Thus, in this work, the bromatological profile of the biofloc generated in activated sludge system was evaluated in order to supplement the feeding of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. For this, a system of activated sludge was used in a laboratory scale fed with *Litopenaeus vannamei* culture water, with reuse of water. PH, dissolved oxygen (OD), chemical oxygen demand (COD), volatile suspended solids (SSV) and sedimented suspended solids (SSS) were determined. Crude protein, moisture and volatiles, ethereal extract, crude fiber and mineral matter were determined in the biofloc. The mean COD removal was $68 \pm 0.19\%$ and mean pH 7.69 ± 0.71 . It was found 45.82% crude protein, 20.57% moisture and volatile, 1.54%, ethereal extract and 0.22% crude fiber and 8.71% mineral matter. The biofloc produced in the activated sludge system has high protein content, although the organic matter removal efficiency has been relatively low for this type of system.

Key words: aerobic system, water reuse, molasses, superintensive shrimp culture

2.1 INTRODUÇÃO

Os efluentes provenientes de cultivos de camarão são ricos em matéria orgânica seja na forma dissolvida ou na particulada. A particulada pode ser dividida em sólidos sedimentados no fundo, sólidos suspensos na coluna d'água, sólidos finos e, geralmente são provenientes de restos de alimentos ou fezes que podem causar depleção de oxigênio e toxicidade pelo acúmulo de amônia (CAO *et al.*, 2007).

Urina e fezes podem causar acúmulo de amônia e aumento da demanda bioquímica de oxigênio (DBO). A amônia é produzida pelo metabolismo dos organismos e excretada no meio. No processo de nitrificação a amônia é oxidada a nitrito e posteriormente a nitrato que é a forma menos tóxica. No entanto, excesso de nitrato e outros nutrientes pode promover eutrofização e *bloom* de algas que podem causar problemas ambientais graves (CAO *et al.*, 2007).

Os efluentes podem conter ainda grandes quantidades de produtos químicos como estabilizadores pigmentos incorporados em alimentos, desinfetantes e medicamentos como antibióticos (CAO *et al.*, 2007).

Por outro lado, a estabilização da comunidade heterotrófica em cultivos pode demorar até algumas semanas, causando mortalidade dos camarões. Para superar esse problema, os bioflocos podem ser gerados em sistemas externos, como o sistema de lodos ativados usado para tratar efluentes de carcinicultura, por exemplo.

Alguns trabalhos, como o de Kuhn *et al.* (2009), relatam a obtenção de biofoco gerado em sistema de tratamento de efluentes de carcinicultura. Segundo os autores, o biofoco produzido em reatores sequenciais em batelada (SBR) tem composição microbiológica diferente das encontradas diretamente na água de cultivo, pois são manipulados em reatores fechados durante o tratamento do efluente. O biofoco coletado a partir desses reatores poderia, então, ser processado, desidratado e incorporado em rações em *pellet* para camarões.

Khatoon *et al.* (2016) investigaram a utilização de biofoco excedente obtido do efluente de fazenda de cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema BFT como substituinte protéico em dietas para pós-larvas dessa mesma espécie, comparando com a ração comercial. Dietas com diferentes porcentagens (25%, 50%, 75% e 100%) de biofoco foram comparadas entre si e a uma dieta controle composta apenas por ração comercial. O estudo mostrou que a dieta composta por 50% biofoco e 50% ração apresentou maior crescimento específico em

comparação às demais, enquanto a maior taxa de sobrevivência foi obtida na dieta com 75% de biofloco e 25% de ração, sendo que esta composição apresentou quantidade de proteína comparável à da dieta controle. Dessa forma, concluíram que o biofloco pode servir como suplemento em dietas para camarões, principalmente substituindo o componente protéico, diminuindo custos. No entanto os demais componentes necessários à dieta ainda são fornecidos com a ração convencional, não permitindo a substituição total.

Pouco ainda tem se estudado sobre o biofloco obtido a partir de sistemas de lodos ativados, Sabry Neto *et al.*, (2015) testaram a biodisponibilidade de proteína bruta em bioflocos produzidos em sistema de lodos ativados tratando efluente de cultivos experimentais de camarão e a partir de água salgada limpa. Os resultados mostraram que o biofloco produzido apresentava pouca proteína disponível para o *L. vannamei* e alta concentração de cinzas, porém continham lipídios disponíveis para o mesmo. Apesar da baixa concentração de proteína obtida (9,59 %) o biofloco apresentou um efeito de estímulo ao crescimento que pode estar associado a minerais e outros nutrientes não estudados.

De modo geral as pesquisas mostram que a presença de biofloco nos sistemas de cultivos de camarões podem trazer grandes benefícios desde a suplementação da alimentação à melhora nas condições da água do cultivo, no entanto, mais estudos são necessários para a compreensão dos mecanismos envolvidos na produção do biofloco.

Estudos mais aprofundados com sistemas de lodos ativados são necessários, pois a manipulação das condições pode levar ao aumento da biomassa produzida para o propósito de alimentação. Tendo isso em vista, o objetivo desse trabalho foi operar um sistema de lodos ativados em escala de bancada para tratar efluentes de carcinicultura e maximizar a geração de bioflocos com potencial para serem utilizados como suplemento nas rações para camarões.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Água residuária

A água residuária foi coletada de tanques de cultivo de camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei* do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) no Centro de Estudos de Aquicultura Costeira do Instituto de Ciências do Mar (CEAC/LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, localizado próximo ao estuário do rio Pacoti. O laboratório é constituído por 314 tanques, sendo cinco tanques berçários de 23.000 L, 25 tanques de 7.000 L e 80 tanques com 1800 L (figura 1). Os tanques de engorda recebiam cerca de 2 kg de ração /tanque com mínimo de 40 % de proteína bruta, ao longo de um ciclo de cultivo de 10 semanas. A esses cultivos foram acrescentados melão em pó e a água reutilizada durante e entre ciclos de cultivo. Não foram acrescentados probióticos para prevenção de doenças nos camarões. A coleta da água foi realizada mensalmente em seis recipientes de 50 L e transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Biomassa na Embrapa Agroindústria Tropical, onde foram armazenadas em câmara fria (4 °C) para evitar degradação até a utilização no sistema de tratamento.

Figura 1- Cultivo de camarão *Litopenaeus vannamei* no Centro de Estudos de Aquicultura Costeira-CEAC/LABOMAR.



Fonte: Blog Engenharia de Aquicultura (2011).

2.2.2 Sistema de lodos ativados

Foi utilizado um sistema de lodos ativados em escala de bancada ($Q=5$ L/d) (Figura 2), instalado no Laboratório de Tecnologia de Biomassa na Embrapa Agroindústria Tropical. Esse sistema consiste em um mini reator biológico retangular, de acrílico, composto por um tanque de aeração (5,80 L), onde ocorre a degradação aeróbia da matéria orgânica. Em seguida existe um decantador também retangular (4,49 L), onde ocorre a separação, por sedimentação do lodo, entre biomassa e água residuária em tratamento e, para facilitar essa sedimentação, o decantador é dotado com um cone no fundo. Existe ainda uma saída no fundo para descarte e recirculação do efluente. Parte do lodo sedimentado retorna ao tanque de reação, para aumentar a concentração da biomassa no reator biológico. A vazão de recirculação corresponde a três vezes a vazão de entrada, portanto 15 L/d.

Figura 2- Mini sistema de lodos ativados em escala de bancada, montado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical e usado nesta pesquisa.



Fonte: autora.

A alimentação do reator foi feita por bombeamento, com aeração constante alternando-se compressor de ar e bomba. A operação do sistema foi dividida em três etapas: a primeira corresponde ao período de novembro de 2014 a agosto de 2015, reator operado por 298 d, caracterizada pela inoculação e adaptação da biomassa por 10 dias, seguida da partida e operação do reator em que foram definidas a vazão e carga orgânica volumétrica (COV)

máxima suportada pelo sistema. A segunda etapa foi de agosto de 2015 a fevereiro de 2016, em que o reator foi operado para COV teórica 3,5 KgDQO/m³.dia.

A terceira etapa foi realizada de fevereiro a outubro de 2016, em que o reator já estava em funcionamento havia 463 d.

2.2.3 Inóculo

O sistema foi inoculado com biomassa concentrada gerada nos tanques berçários do LANOA/CEAC. Para isso, coletaram-se 90 L de efluente dos tanques berçários, os quais ficaram em repouso por 1h para decantação do lodo. Em seguida, o sobrenadante foi retirado por sifonamento e utilizado para encher o decantador. Os sólidos suspensos voláteis (SSV) retidos na decantação (SSV=13,008g/L) foram transferidos para o tanque de aeração e alimentados com 1 mL/L de uma solução de nutrientes (Tabela 1) e 1 g/L de melão por 10 d (período de adaptação da biomassa). Nesse período o efluente ficou em recirculação.

Tabela 1- Composição da solução de nutrientes adicionada ao reator.

Solução nutrientes	Concentração (g.L⁻¹)
K ₂ HPO ₄	2,5 x 10 ⁻²
NH ₄ Cl	2,5 x 10 ⁻²
MgSO ₄	8,6 x 10 ⁻³
CaCl ₂	5,3 x 10 ⁻³
FeCl ₂	3 x 10 ⁻⁴
H ₃ BO ₃	8 x 10 ⁻⁵
ZnCl ₂	2 x 10 ⁻⁵
CoCl ₂	3 x 10 ⁻⁴
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	2 x 10 ⁻⁴
CuCl ₂	1 x 10 ⁻⁵
K ₂ HPO ₄	2,5 x 10 ⁻²

Fonte: Elaborada pela autora.

2.2.4 Alimentação

Após os dez dias iniciais o sistema passou a ser alimentado com afluente composto por água residuária, enriquecida com solução de nutrientes, melação, uréia e fosfato de cálcio monobásico (100C:5N:1P) (Tabela 2). Essa razão foi mantida por ser reconhecida como melhor composição para o crescimento ótimo dos microrganismos (OVIASOGIE, 2013). O abastecimento do tanque de afluente foi realizado com o aporte de 25 L de água residuária, duas vezes por semana, para suportar até quatro dias.

Tabela 2- Composição do afluente utilizado na alimentação do reator.

Composição afluente	Volume de 25 L
Água residuária	22,5 L
Solução nutrientes	2,5 L
Uréia	6,1 g
Fosfato de cálcio	3,5 g
Melaço	**

Fonte: Elaborada pela autora. ** Quantidade de melaço depende da DQO da água residuária

Durante os primeiros 40 d de funcionamento do sistema, testou-se o valor ideal de COV para maior produção de biomassa aumentando a COV real em 0,5 kgDQO/m³.d, a cada 10 d e observando o desempenho do sistema. A COV máxima testada sem comprometer a eficiência de remoção de DQO foi determinada como COV ideal.

Dessa forma, a quantidade de melaço adicionada era calculada (equação 1) para manter a carga orgânica volumétrica ideal em 3,5 kgDQO/m³.dia. COV planejada ou teórica a ser mantida, no entanto, na prática o valor não era exatamente igual fornecendo uma COV real um pouco diferente.

$$COV = \frac{Q_{af} \cdot DQO_{af}}{V_{reator}} \quad (1)$$

Onde;

COV: carga orgânica volumétrica afluente (KgDQO/m³.d);

DQO: demanda química de oxigênio afluente (mg/L);

Q_{af} : vazão afluente (L/d);

V reator: volume útil do reator (L)

Dessa forma, para $COV=3,5 \text{ KgDQO/m}^3 \cdot \text{dia}$:

$$DQO_{af} = \frac{3,5 \text{ KgDQO/m}^3 \cdot \text{dia} \times 0,0058 \text{ m}^3}{0,005 \text{ m}^3/\text{d}}$$

$$DQO_{af} = 4,06 \text{ g DQO/L}$$

Portanto, no afluente a ser colocado no reator a DQO deve ser igual a 4,06g DQO/L. Como o afluente é enriquecido com melão, deve-se determinar a DQO do melão para saber a quantidade do mesmo a ser acrescentada (equação 2).

$$DQO_{af} = DQO \text{ água residuária} + DQO \text{ melão} \quad (2)$$

A DQO da água residuária era determinada sempre após a coleta. Partindo desse valor, foi determinada a DQO do melão a ser obtida; Por exemplo, para DQO_{af} de 0,189:

$$DQO \text{ melão desejada} = 4,06 \text{ gDQO/L} - 0,189 \text{ gDQO/L}$$

$$DQO \text{ melão desejada} = 3,871 \text{ gDQO/L}$$

A partir do valor da DQO do melão desejada é possível determinar a quantidade de melão a ser acrescentada ao afluente. Para isso, a DQO do melão foi determinada experimentalmente, utilizando 0,5 g de melão em 1,5 L de água destilada.

Na DQO desejada, 3,871 gDQO = 5,67g de melão deve ser adicionado na água residuária, para alcançar a DQO do afluente desejada. Esse valor foi calculado sempre após a caracterização da água residuária coletada.

2.2.5 Parâmetros operacionais e variáveis físico-químicas

A tabela 3 mostra os parâmetros operacionais utilizados para manter o sistema em funcionamento.

Tabela 3- Parâmetros operacionais do sistema de lodos ativados

Parâmetro	Valor
Volume do tanque de reação	5,8 L
Vazão do sistema	5 L/d
Vazão de recirculação	3,0 vezes a vazão do sistema
TDH	1,16 d
*COV aplicada	2,0 a 5,0 Kg DQO/m ³ .d ⁻¹

Fonte: Vale, 2015.*carga orgânica volumétrica aplicada.

A entrada contínua de matéria orgânica no tanque de aeração e a aeração constante proporcionam condições ótimas para o crescimento e para a reprodução dos microrganismos. Há a tendência de que isso ocorra indefinidamente até inviabilizar o tratamento pela dificuldade de transferência de oxigênio para todas as células e pela liberação de microrganismos junto com o efluente tratado prejudicando a qualidade da água. Para se manter o sistema em equilíbrio, o controle dos microrganismos é feito pela retirada de lodo na mesma proporção da reprodução dos mesmos (VON SPERLING, 1997), por esse motivo foi realizado o descarte diário de 2 L do material sedimentado no tanque de decantação.

2.2.6 Análise Demanda Química de Oxigênio (DQO)

O teste de DQO foi realizado duas vezes por semana para o afluente, efluente e efluente filtrado, seguindo o protocolo de Eaton *et al.* (2005) para amostras salinas, adicionando sulfato de mercúrio (HgSO₄) para minimizar interferências causadas pelos cloretos, formando o precipitado HgCl₂.

2.2.7 Determinação de Sólidos Suspensos Voláteis

A determinação de sólidos suspensos voláteis foi realizada semanalmente segundo Eaton *et al.* (2005). Para isso, foram coletadas amostras de 10 mL em duplicata do tanque de aeração e do tanque de decantação.

2.2.8 Determinação de Sólidos Sedimentáveis

Os sólidos sedimentáveis foram medidos semanalmente adicionando 1 L do conteúdo do tanque de aeração do reator a um cone de Imhoff, deixando sedimentar por 30 min para fazer a leitura, de acordo com a metodologia descrita por Avnimelech e Kochba (2009). Ao final o conteúdo era devolvido para o reator.

2.2.9 Análise bromatológica do lodo

Para análise bromatológica o lodo foi coletado do tanque de decantação do reator, deixado em repouso em cone de Imhoff por 30 min para sedimentar e o sobrenadante em excesso foi descartado. O material sedimentado foi então filtrado em bomba a vácuo com papel filtro com porosidade 28 μm (Figura 3). Como o lodo foi produzido a partir de efluente com alto teor de sal este foi lavado repetidas vezes com água destilada (2L) durante a filtração para remover o excesso de sais e, em seguida, secada em estufa com circulação e renovação de ar para desidratação (100 °C). Do lodo desidratado foi analisado o perfil bromatológico: Umidades e Voláteis, Proteína Bruta, Extrato Etéreo, Fibra Bruta e Matéria Mineral no Laboratório CBO em Campinas, São Paulo.

Figura 3-Filtragem com bomba a vácuo de lodo obtido no sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura.



Fonte: própria autora.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios obtidos durante os 728 dias de operação do reator, encontram-se na Tabela 4. O valor médio da COV foi próximo ao encontrado em esgotos domésticos, geralmente entre 2,5 e 3,5 kgDQO/m³.dia. A eficiência média de remoção de DQO foi inferior à mínima desse tipo de sistema de tratamento que, segundo Von Sperling (1997) seria de 85%. É possível que esse resultado tenha sido afetado pela variação na concentração de oxigênio dissolvido, que oscilou bastante entre 0,6 e 4,5 mg/L devido ao colapso do compressor utilizado e ao entupimento das pedras de aeração. O teor de oxigênio dissolvido (OD) é importante no controle do sistema de lodos ativados, pois em excesso pode causar perdas e em falta pode resultar em um fator limitante no crescimento dos microrganismos. A faixa de concentração ideal de oxigênio dissolvido é de 1,0 a 2,0 mg/L (CLAAS, 2007). A NBR 12209 (1992), recomenda a concentração de 1,5 mg/L quando a idade do lodo for igual ou superior a 18 d e 2,0 mg/L quando a idade do lodo for menor que 18 d.

Sólidos suspensos voláteis indicam a quantidade de biomassa presente no reator, o valor médio obtido durante todo o período de funcionamento é concordante com os valores típicos para esse tipo de sistema que, segundo Von Sperling (1997), seriam entre 1,50 e 4,00 g SSV/L.

Tabela 4-Resultados operacionais do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura

Parâmetros	Resultados
Vazão média	4,68 ± 0,68 L
Remoção média de DQO	68 ± 0,19 % (IC: 33 a 99%)
pH médio	7,69 ± 0,71 (IC: 4,60 a 8,49
COV	3,39 ± 1,56 kgDQO/m ³ .dia (IC: 0,73 a 6,40 kgDQO/m ³ .dia)
SSV	2,88 ± 1,40 g /L (IC: 0,25 a 7,79 g/L

IC – Intervalo de confiança. Fonte: Elaborado pela autora.

Durante os primeiros 40 d de operação do reator (primeira etapa), foram considerados como período de adaptação e estabelecimento da comunidade heterotrófica, no qual há a ocorrência de um processo de seleção e multiplicação da microbiota inoculada no

sistema. Durante este período houve grande variação nos valores de pH (gráfico 1) e a eficiência de remoção de DQO foi menor que 50% (gráfico 2).

Após o período de adaptação o pH do sistema ficou mais estável durante a operação, com exceção dos dias 86 e 147, quando foram registrados dois episódios de colapso na aeração do reator, que levaram o mesmo à anaerobiose. Para que a microbiota pudesse se recuperar a COV foi reduzida, diminuindo a quantidade de melaço acrescentado ao afluente.

No dia 189, novamente o reator ficou anaeróbico, houve queda do pH (4,91) e diminuição da eficiência da remoção de DQO, porém dessa vez o motivo deve ter sido o aumento da COV (5,90 Kg DQO/m³.d), uma vez que nesse período estava sendo testada a melhor COV teórica para maior produção de biomassa.

Até a COV 3,5 Kg DQO/m³.d a remoção de DQO total foi de 77%; acima deste valor de COV a remoção caiu para 40%, sendo então 3,5 Kg DQO/m³.d adotado como COV ideal.

O maior valor de SSV foi obtido na etapa 2 (Tabela 5), indicando maior produção do lodo, apesar de ter a maior variação (maior desvio padrão). Na terceira etapa, o pH estava mais estável que nas anteriores (menor desvio padrão) e a média de eficiência de remoção foi maior. No entanto, a quantidade de sólidos produzida foi reduzida, que pode ter ocorrido devido à redução do oxigênio dissolvido.

Tabela 5- Resultados obtidos durante a operação do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura. Valores médios para cada etapa.

Etapa	Duração (d)	COV (KgDQO/m³.d)	pH	OD (mg/L)	Remoção DQO (mgO₂/L)	SSV (g/L)
1	298	2,63 ± 1,30	7,8 ± 0,82	2,35±0,85	63±0,18%	2,971±0,95
2	165	3,73 ± 1,18	7,65 ± 0,84	3,01±0,91	72±0,21%	4,360±1,62
3	265	4,54 ± 0,12	7,54±0,36	1,91±1,28	76 ±0,15%	1,796±1,45

Fonte: Elaborada pela autora. Valores apresentados como médias ± desvio padrão.

Como o objetivo era obter o máximo de lodo possível, o melhor valor encontrado foi durante a segunda etapa no dia 358, (pH 7,8, eficiência de remoção de DQO em 88%) com 7,79g SSV/L, quando a COV aumentou para 5,03 kgDQO/m³.d. No entanto, esse resultado foi pontual, provavelmente por estar acima da capacidade de suporte do reator, devido ao volume

pequeno do mesmo. O segundo melhor resultado foi no dia 331 com 5,5g SSV/L, pH 8,3, COV 2,54 kgDQO/m³.d e remoção de DQO em 68%.

Gráfico 1- Variação de pH durante operação do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura

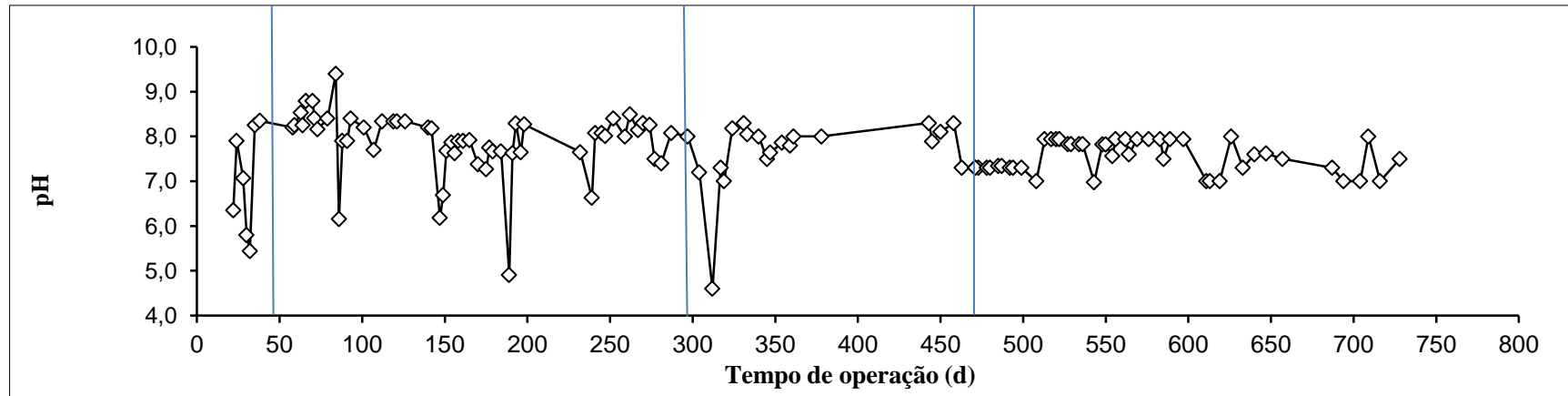


Gráfico 2- Eficiência de remoção da DQO

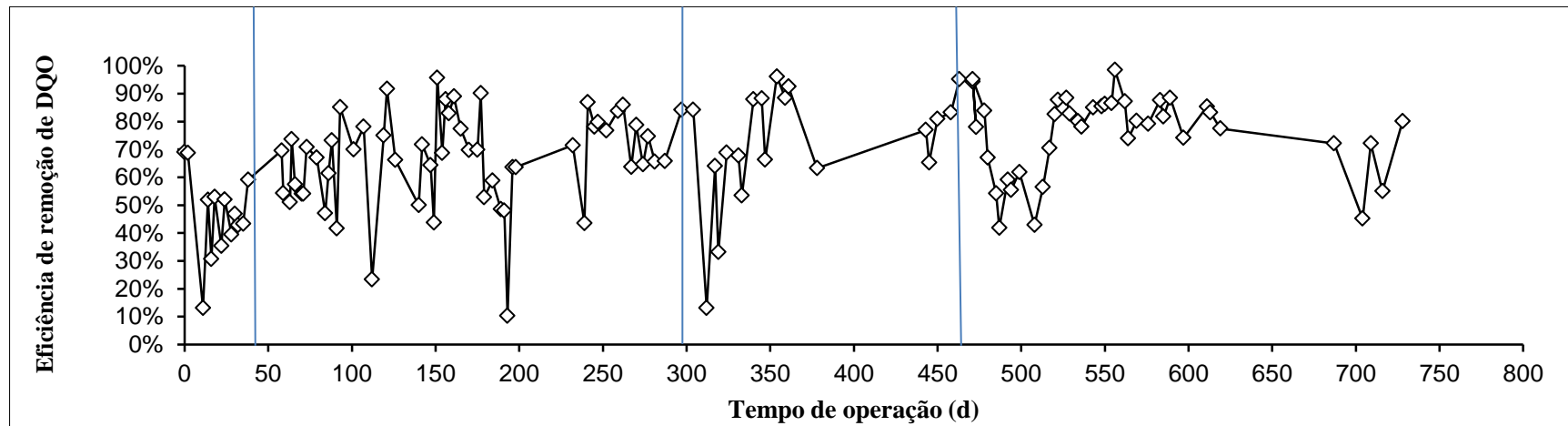


Gráfico 3- Variação da carga orgânica volumétrica (COV) ao longo dos dias de operação do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura

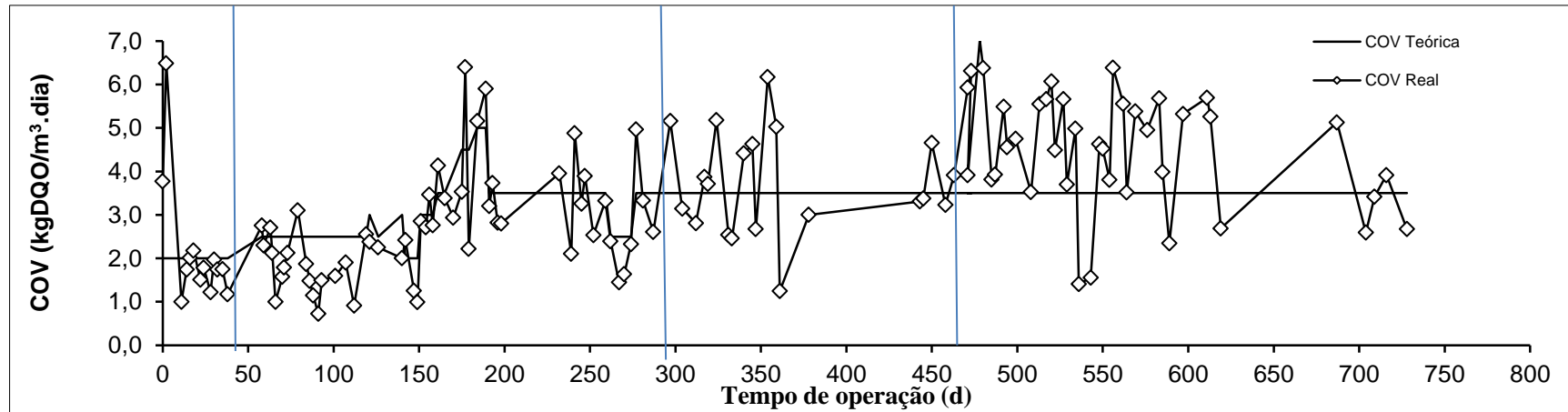
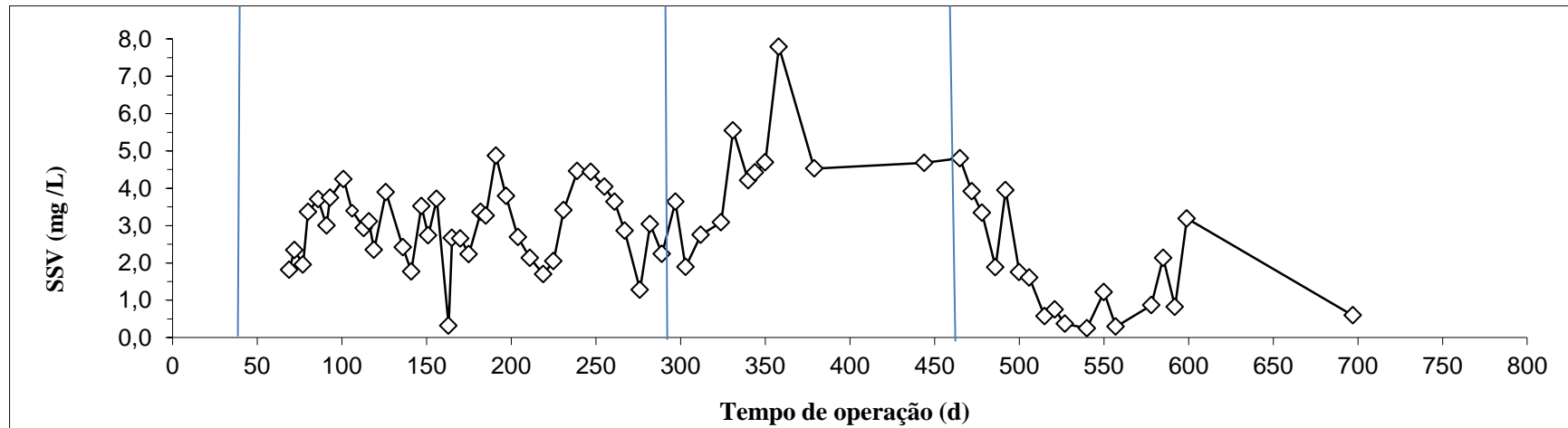


Gráfico 4- Sólidos suspensos voláteis durante operação do sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura.



Durante a pesquisa ocorreram vários problemas, o lodo muitas vezes obstruía a saída de ar dos aeradores, diminuindo o valor de OD havendo alterações visíveis no lodo, que ficava mais intumescido e sedimentava menos. A falta de oxigênio em condições ideais para o crescimento bacteriano das formadoras de floco favorece a proliferação de bactérias filamentosas e o fenômeno chamado “*bulking* filamentoso” (SANTI, 2013).

O teste para sólidos sedimentáveis serviu para analisar visualmente as características do lodo, para análise nutricional foi coletado quando o mesmo apresentava melhores resultados (Figura 4), marcando até, no máximo, 300 mL, valores acima desse, podem indicar má sedimentação do lodo devido ao *bulking* filamentoso (SANTI, 2013).

A coleta do lodo para avaliação da composição bromatológica foi realizada apenas na terceira fase, pois para o sistema de lodo ativado se manter é necessário alcançar um valor de sólidos mínimo ou o mesmo entra em colapso. Para o reator utilizado o valor almejado era de 5 g/L, porém devido ao tamanho reduzido e problemas de aeração já apresentados ficou difícil alcançar esse valor e a coleta foi realizada com valores aproximados de 3,5 g/L.

Figura 4- Teste de sólidos sedimentáveis utilizando cone de Imhoff de lodo obtido no sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura.



Fonte: própria autora.

Os resultados obtidos da análise bromatológica do biofloco estão apresentados na Tabela 6, sendo que a porcentagem de proteína bruta foi maior do que os resultados encontrados por Avnimelech, (2009) que indicou teores protéicos para o biofloco variando entre 24 e 41%.

Tabela 6- Perfil bromatológico do biofloco obtido no sistema de lodos ativados para produção de bioflocos e tratamento de efluentes de carcinicultura, montado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical e usado nesta pesquisa.

Parâmetros	Base natural	Base seca
Umidade e voláteis	20,57 %	
Proteína bruta	45,82 %	57,72 %
Extrato etéreo	1,54 %	1,91 %
Fibra bruta	0,22 %	0,27 %
Matéria mineral	8,71 %	10,97 %

Fonte: Elaborado pela autora.

Outros trabalhos relataram teores semelhantes aos deste trabalho, como Kuhn *et al.* (2009) que obtiveram flocos microbianos de reator sequencial em batelada (SBR) tratando efluentes de cultivo de tilápia com teor protéico de 49%. Esse biofloco foi adicionado à dieta de camarões em substituição aos componentes da ração como proteínas e farinha de peixe. Os autores concluíram não haver diferenças nas taxas de sobrevivência entre as dietas, sendo que a taxa de crescimento semanal com as dietas com biofloco foram maiores que das dietas tradicionais.

Khaton *et al.* (2016) analisaram o excesso de biofloco no efluente descartado de cultivos de *L. vannamei* como complemento dietético em cultivo de pós-larvas da própria espécie. Pela análise nutricional, encontraram-se 30,4% de proteína bruta, quantidade inferior à obtida à deste trabalho e outros estudos utilizando biorreatores para produção externa de biofloco, o que pode ser indicativo de que seja mais vantajoso gerar biofloco externamente, por exemplo, em sistema de lodos ativados.

A dieta composta por 50% de biofloco e 50% de ração comercial resultou na maior taxa de crescimento específico, e as dietas com 50% e 75% de biofloco

apresentaram as maiores taxas de sobrevivência em comparação às dietas com apenas ração comercial, corroborando que o biofloco pode ser um suplemento alimentar importante na criação desses camarões.

Já Sabry-Neto *et al.*, 2015 produziram biofloco a partir de sistema de lodo ativado, porém encontraram baixo teor de proteína bruta (9,59%) e alto teor de cinzas (matéria mineral) (64,9%). Isso pode ser decorrente da lavagem insuficiente do lodo que concentrou alto teor de sais da própria água do cultivo. Uma vez que no presente estudo, a lavagem com água destilada foi repetida várias vezes na intenção de reduzir os sais e concentrar a proteína.

Diferenças na composição nutricional podem ser causadas por diferentes fontes de carbono, adicionadas ao reator ou cultivo, para estimular o crescimento microbiano. Crab *et al.* (2010) compararam o valor nutricional de bioflocos gerados em meios com diferentes fontes de carbono. Os resultados mostraram 42% de proteína bruta no peso seco em acetato, 43% em glicerol, 28% em glicose e o melhor resultado foi no meio com glicerol inoculado com *Bacillus* spp. com 58% do peso seco.

Alguns substratos podem promover o desenvolvimento de bactérias que produzem grandes quantidades de exopolissacarídeos em detrimento do crescimento celular (CRAB *et al.*, 2010), reduzindo, dessa forma a síntese protéica.

A estrutura e estabilidade do biofloco podem ser determinadas pela fonte de carbono orgânico, uma vez que afetam a composição da comunidade microbiana. Na literatura encontram-se vários trabalhos utilizando melão como fonte de carbono, geralmente adicionado diretamente à água do cultivo (DE SOUZA *et al.* 2014; EKASARI *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2011).

Como também, é possível que a proteína proveniente de rações no cultivo de *L. vannamei* tenha sido reaproveitada durante o processo de tratamento, no entanto, ainda não há estudos que sugiram que essa proteína bruta seja agregada ao biofloco ou simplesmente eliminada pelo efluente do sistema.

O sistema de lodos ativados é adequado para produção de biofloco e com o controle das variáveis corretas é possível saber se esse biofloco obtido seria ingerido pelos camarões e a biodisponibilidade dessa proteína, realizando testes *in vivo*.

Embora a eficiência do tratamento não tenha sido a desejada, ela foi superior à determinada pela Resolução n° 430 do CONAMA para disposição de efluentes em corpos hídricos que exige que a remoção mínima de matéria orgânica

(DBO) seja de 60% (BRASIL, 2011). Como a determinação de DQO é mais precisa que a de DBO, pode-se dizer que 68% de remoção de DQO, significa que o efluente atingiu o exigido pela legislação ambiental brasileira para lançamento em corpos hídricos.

2.4 CONCLUSÕES

Embora o sistema de lodos ativados usado nessa pesquisa não tenha sido o ideal, devido às suas dimensões, foi possível produzir quantidade relevante de bioflocos com teor de proteína bruta compatível com o exigido para alimentação de camarões peneídeos. Além disso, a remoção de matéria orgânica foi suficiente para atender a legislação ambiental.

REFERÊNCIAS

- AVNIMELECH, Y; KOCHBA, M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ^{15}N tracing. **Aquaculture**. 287(1–2), 163–168, 2009.
- BRASIL. Resolução CONAMA N° 430 de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União N° 92, 16/05/2011, pág. 89.
- CAO, Y.S.; TEO, K.H.; YUEN W.A.; LONG W.Y.; SEAH B. Performance analysis of anoxic selector in upgrading activated sludge process in tropical climate. **Water Science and Technology**. (52) 27-37, 2005.
- CLAAS, I. C. Lodos ativados: Princípios teóricos fundamentais, operação e controle. Porto Alegre: Evangraf, 2007.
- CRAB, R.; CHIELENS, B.; WILLE, M.; BOSSIER, P; VERSTRAETE, W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research** 41(4):559–67, 2010.
- DE SOUZA, D.M.; SUITA, S. M.; ROMANO, L. A.; WASIELESKY, W.; BALLESTER, E. L. C. Use of molasses as a carbon source during the nursery rearing of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a Biofloc technology system. **Aquaculture Research**, 45(2), 270–277, 2014.
- EATON, A.D.; CLESCERI, L.S.; RICE, E.W.; GREENBERG, A.E.; FRANSON, M.A.H. standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington, DC. **American Public Health Association**. 2005.
- EKASARI, J.; HANIF AZHAR, M.; SURAWIDJAJA, E. H.; NURYATI, S.; DE SCHRYVER, P.; BOSSIER, P. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. **Fish and Shellfish Immunology**, 41(2), 332–339, 2014.
- KHATOON, H.; BANERJEE.S; YUAN, G.T.G.; HARIS, N.; IKHWANUDDIN, M.; AMBAK, M.A.; ENDUT, A.. Biofloc as a potential natural feed for shrimp postlarvae. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 1–6, 2016.
- KUHN, D.D., BOARDMAN, G.D., LAWRENCE, A.L., MARSH, L., FLICK, G.J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture** 296, 51-57, 2009.
- National Research Council (NRC). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington DC, USA, 306, 2001.
- OVIASOGIE,U. Continuous biological treatment (cbt) of anaerobic 55°celsius pretreated membrane concentrates of tmp wastewater streams from pulp and paper. **International Refereed Journal of Engineering and Science**. 2, 4,01-10, 2013.

SABRY NETO, H.S.; SANTAELLA, S.T.; NUNES, J.A.P. Bioavailability of crude protein and lipid from biofloc meals produced in a activated sludge sistem for white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Revista brasileira de zootecnia**, 44(8), 269–275, 2015.

VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Lodos ativados. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - DESA. Universidade Federal de Minas Gerais. Vol. 4, 1997.

XU, W.J.; MORRIS, T.C.; SAMOCHA, T.M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. **Aquaculture**, 453, 169–175, 2016.

CAPÍTULO 3

Bacillus spp. em sistema de lodos ativados tratando efluente de carcinicultura

RESUMO

Na carcinicultura, o uso de probióticos é uma alternativa mais sustentável que o de antibióticos, por minimizar o risco de surgimento de bactérias super resistentes. *Bacillus* spp. podem ser encontrados em corpos d'água, no solo e trato digestivo de camarões e são bastante utilizados como probióticos na carcinicultura. Os probióticos apresentam melhor resposta quanto melhor adaptados ao meio em que são inoculados, por esse motivo esse trabalho investigou a presença de *Bacillus* spp. no biofilme produzido em sistema de lodos ativados tratando efluentes de cultivo fechado de camarões. Foram coletadas amostras do afluente ao sistema, tanque de aeração, decantador e efluente do sistema, das quais foi feita a contagem padrão de placas. Colônias de *Bacillus* spp. foram encontradas em todas as amostras, principalmente no decantador, onde o biofilme sedimenta. Esses resultados mostram que esses microrganismos provenientes do meio de cultivo podem ser incorporados ao biofilme e utilizados posteriormente, possivelmente para alimentação de camarão.

Palavras-chave: probióticos, biofilme, cultivo intensivo

Bacillus spp. in activated sludge treatment system while treating shrimp farming effluent

ABSTRACT

In shrimp farming, the use of probiotics is a more sustainable alternative than using antibiotics, since it minimizes the risk of emergence of super-resistant bacteria. *Bacillus* spp. can be found in water bodies, soil and shrimp digestive tract and are widely used as probiotics in shrimp farming. Probiotics have a better response when they are adapted to the environment in which they are inoculated, so this work investigated the presence of *Bacillus* spp. in the biofloc produced in activated sludge system treating effluents of shrimp farming. Samples were collected from the affluent to the system, aeration tank, decanter and effluent from the system, from which the Standard Plate Count was made. Colonies of *Bacillus* spp. were found in all samples, especially in the decanter, where the biofloc sediments. These results show that these microorganisms from the culture medium can be incorporated into the biofloc for posterior use as supplement for shrimp feeding.

Key words: probiotics, biofloc, intensive shrimp farming

3.1 INTRODUÇÃO

Na carcinicultura, probióticos têm sido amplamente estudados e utilizados em substituição aos antibióticos (LIU *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2012; PANDIYAN, 2013). Aliado a isso, tem se buscado maior biossegurança nos cultivos, evitando-se patógenos; fazendo os cultivos em sistemas fechados com pouca ou nenhuma troca de água, utilizando para isso a tecnologia do bioflocos; e monitorando cuidadosamente a qualidade da água (SAMOCHA *et al.*, 2007). Esses cuidados têm sido uma alternativa mais sustentável e rentável, pois permitem produções com alta densidade de camarões por tanque com mínimo de contaminação do ambiente por descartes de efluentes (BURFORD, 2003).

Na maioria dos casos, utilizam-se probióticos comerciais para acrescentar ao cultivo, que são compostos por bactérias que não são oriundas do animal de estudo o que acaba reduzindo a especificidade entre o probiótico e o hospedeiro. Contudo, probióticos nativos do próprio ambiente de cultivo ou do trato digestivo dos organismos que estão sendo cultivados é uma alternativa viável (FERREIRA, 2014).

O efeito probiótico conferido aos esporos em germinação foi identificado em estudos com ratos, em que se observou uma resposta imunológica no trato gastrointestinal à presença desses esporos; que poderia conferir maior resistência a patógenos (HONG *et al.*, 2009).

O gênero *Bacillus* é composto por microrganismos gram-positivos, em formato de bastonetes, capazes de formar endósporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos. Podem ser encontrados no solo, na água, em partículas de poeira e no ar. Em geral, apresentam intensa atividade metabólica e são capazes de produzir enzimas que degradam diferentes substratos orgânicos (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

Esporos ou células vegetativas de *Bacillu* spp. podem ocorrer no trato digestivo de diferentes animais, oriundos de alimentos que os contêm ou ingerindo probióticos, sendo capazes de se estabelecer e tornar-se membro transitório da microbiota intestinal. Diversas espécies de *Bacillus* podem ser isoladas de peixes e crustáceos, como camarão (GILLIAND; SPECK, 1999).

Várias espécies de *Bacillus* são utilizados como probióticos devido principalmente à capacidade de formação de esporos e produção de enzimas. Podem auxiliar em distúrbios intestinais e fortalecer o hospedeiro contra possíveis patógenos (GILLIAND; SPECK, 1999).

Devido à sua importância na sobrevivência dos animais e manutenção da qualidade de água do viveiro, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Bacillus* spp. nas várias fases do tratamento de efluentes da carcinicultura em sistema de lodos ativados e o potencial probiótico do biofloco.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Ensaio microbiológico

O ensaio microbiológico foi realizado semanalmente durante três meses durante a terceira etapa de funcionamento do reator (549 d), de agosto a outubro, quando o lodo apresentou volume de sólidos sedimentáveis entre 100 mL e 300 mL, para verificar a presença de *Bacillus* spp. após as fases iniciais de adaptação. Para isso, foram coletadas amostras de 50 mL em tubos Falcon do afluente, efluente, tanque de aeração e tanque de decantação (pela torneira de descarte).

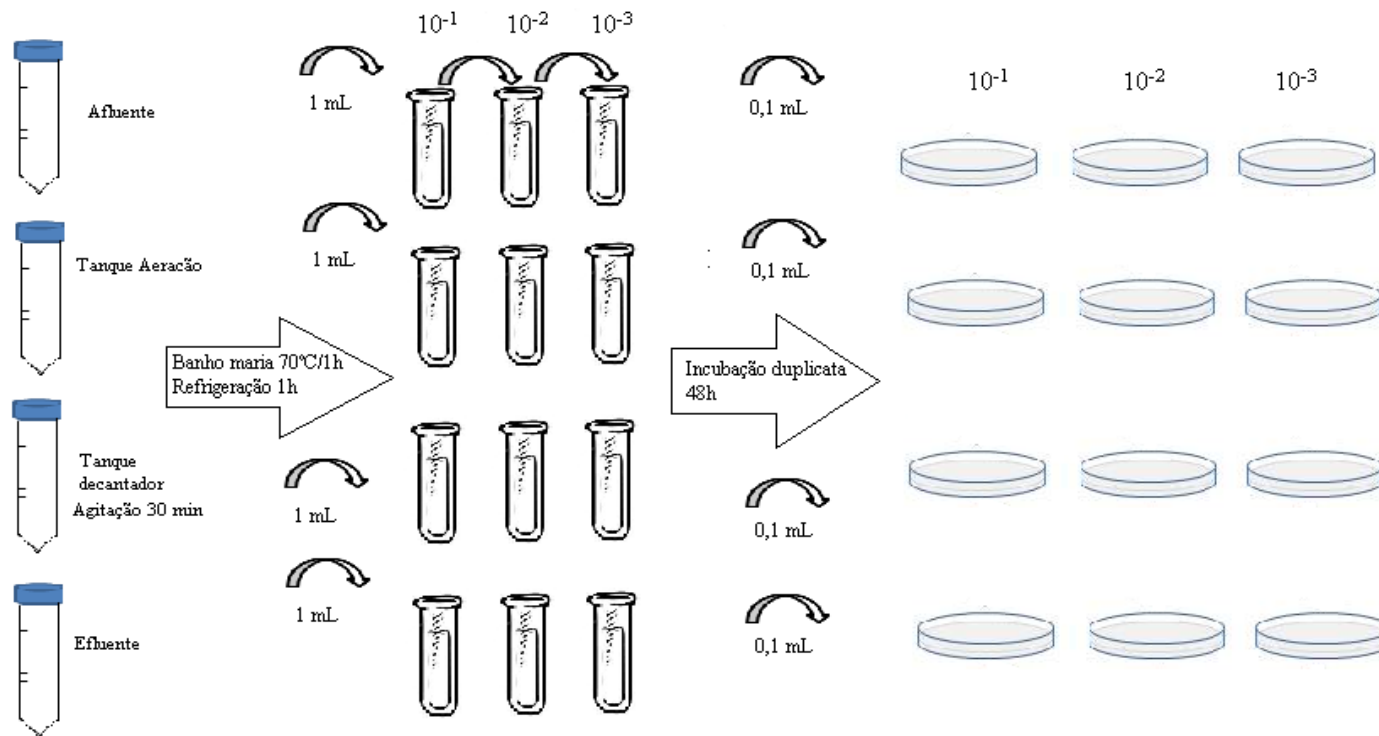
Posteriormente, a amostra do decantador, por se tratar do lodo acumulado, foi colocada sob agitação em placa magnética por 30 min, em baixa rotação para que o floco microbiano fosse desfeito, separando os microrganismos que o compõem, permitindo o crescimento bacteriano.

Em seguida, as amostras foram colocadas para aquecimento a 70°C em Banho Maria durante 1 h e logo depois colocadas sob refrigeração. Esse tratamento térmico teve o intuito de provocar a morte das espécies bacterianas mesófilas, enquanto as espécies do gênero *Bacillus* sp sofrem esporulação, voltando a se desenvolver nas condições ideais do meio de cultivo (HONG *et al.*, 2009).

Após o tratamento térmico, as amostras foram levadas a uma câmara de fluxo, onde foram realizadas as diluições para obter os inóculos desejados. A diluição das amostras foi feita em água peptonada com cloreto de sódio (0,85 %) para manter o equilíbrio osmótico e permitir o crescimento bacteriano. Em seguida, foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada amostra e acrescentadas em tubos de ensaio contendo 9 mL de APA para realizar a diluição seriada, sendo 1 mL transferido de um tubo para outro, obtendo três diluições (Figura 5). Em seguida, foram semeadas placas com ágar nutriente pela técnica de *spread plate*.

A contagem das placas foi realizada manualmente para determinar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) presentes em cada uma, seguindo o método de contagem padrão de placas (CPP) que estima o número de células viáveis em um meio, considerando apenas as diluições que atingiram crescimento celular entre 25 e 250 (DOWNES e ITO, 2001, VIEIRA *et al.*, 2004). Baseando-se na premissa de que cada célula viável, isolada e homogeneizada em meio sólido dará origem a uma colônia bacteriana.

Figura 5- Esquema de realização do ensaio microbiológico

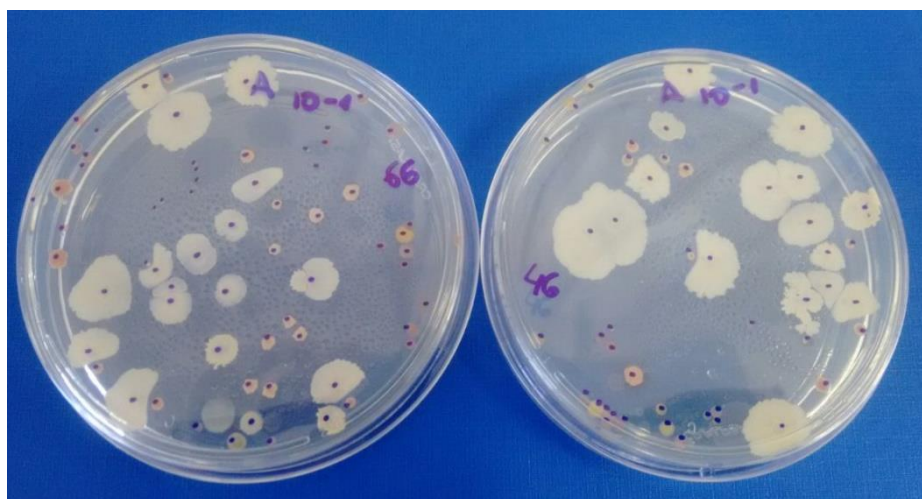


Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras coletadas foi encontrado *Bacillus* spp., como pode ser observado na Figura 6, presentes em maior quantidade no decantador, onde o biofilme sedimenta e é acumulado em maior quantidade e no tanque de aeração, onde o biofilme está em suspensão. A baixa quantidade encontrada no efluente tratado do sistema indica que esses microrganismos foram incorporados ao biofilme, aumentando a quantidade no decantador (Tabela 7).

Figura 6- Placa de ágar nutriente inoculada com afluente do reator, evidenciando crescimento bacteriano.



Fonte: autora.

Tabela 7- Resultado da contagem padrão de placas (UFC/mL) de amostras coletadas no sistema de lodos ativados em escala de bancada, tratando efluente de carcinicultura, montado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical.

Tempo de operação (d)	Afluente ao sistema	Tanque de Aeração	Decantador	Efluente do sistema
549	9,8 x 10	3,5 x 10 ²	3,3 x 10 ²	1,5 x 10est.*
556	2,5 x 10 est.*	1,3 x 10 ² est.*	8,0 x 10 est.*	1,5 x 10est.*
563	8,5 x 10 est.*	3,0 x 10 ²	2,0 x 10 ² est*	< 10 est*.
570	5,9 x 10	1,1 x 10 est.*	6,4 x 10 ²	1,6 x 10
577	5 est.*	2,0 x 10 est.*	6,0 x 10 ² est.*	2,0 x 10
584	2,0 x 10 est.*	9,0 x 10est.*	6,0 x 10 ² est.*	<10 est.*
591	6,5 x 10 est.*	7,5 x 10 est.*	2,0 x 10est.*	1,5 x 10est.*
598	2,2 x 10 ²	9,5 x 10 est.*	1,4 x 10 ² est.*	3,0 x 10 est.*
605	4,0 x 10 ²	2,4 x 10 ³ est.*	2,4 x 10 ³ est.*	3,1 x 10
612	5,6 x 10 ²	2,1 x 10 ³	1,7 x 10 ³	1,5 x 10

*Est: Resultado expresso em estimativa para placas com 25>UFC>250.

Como não foram acrescentados probióticos comerciais na água do cultivo, os *Bacillus* spp. encontrados são provenientes da própria água coletada do rio Pacoti para compor o cultivo ou podem ser provenientes do alimento encontrado no trato digestivo dos próprios camarões.

Estudos com esporos de cepas de laboratório de *Bacillus subtilis* mostraram que as mesmas foram capazes de germinar no jejuno e íleos de ratos dosados por via oral e esporularam à medida que seguiam no trato digestivo (CASULA; CUTTING, 2002, TAM *et al.*, 2006). Fenômeno similar ocorreu com cepas naturais isoladas de fezes humanas e biopsia intestinal, o que pode significar que o trato digestivo é um possível habitat para essas espécies formadoras de esporos, permitindo crescimento e esporulação (HONG *et al.*, 2009a). O movimento peristáltico pode ser então responsável por garantir que esses esporos sejam expelidos junto às fezes de diversos animais, se acumulando na água e no solo (BARBOSA *et al.*, 2005; FAKHRY *et al.*, 2008; HONG *et al.*, 2009a).

Carvalho, 2016 identificou e isolou cepas de *Bacillus* spp. de camarões selvagens para uso como probiótico na carcinicultura. *Bacillus circulans* e *Bacillus subtilis* foram isolados do intestino de *Farfantepenaeus subtilis* e demonstraram antagonismo contra *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus* e *Vibrio mimicus* em testes *in vitro*. Essa identificação indica presença desses microrganismos naturalmente no sistema digestivo desses organismos, assim como encontrado neste trabalho. Espécies como *B. subtilis* e *B. licheniformis* ocorrem naturalmente no trato intestinal de camarões (DECAMP E MORIARTY, 2005).

Como as características de uma cepa bacteriana dependem do ambiente em que vivem a utilização de bioflocos com microrganismos probióticos produzidos no próprio meio, é boa alternativa para diminuir o risco de um probiótico não produzir o efeito desejado de proteção ao cultivo ou não sobreviver (SCHULZE *et al.*, 2006).

A produção de biofoco em sistemas aeróbios de tratamento de efluentes ainda é pouco conhecida, em Crab *et al.*, (2010) foram produzidos bioflocos em reatores com diferentes fontes de carbono (glicose, glicerol e acetato) que serviram de alimento para pós-larvas de *Macrobrachium rosenbergii*. Um dos reatores alimentados com glicerol foi inoculado com um mix de esporos de *Bacillus* spp. Os resultados mostraram que o biofoco resultante do reator alimentado com glicerol e inoculado com *Bacillus* spp. continha, em média, 15% de proteína bruta a mais que o biofoco gerado em reator com apenas o glicerol. Ainda não se sabe quais mecanismos podem ser responsáveis por essa diferença, mas, possivelmente a presença do probiótico altere a comunidade microbiológica do biofoco.

Boopathy *et al.* (2015) realizaram experimentos com inóculos de várias espécies do gênero *Bacillus* spp. em águas residuárias de carcinicultura para avaliar os efeitos na degradação da matéria orgânica, remoção de amônia, nitrato e nitritos que poderiam auxiliar no tratamento dos efluentes de carcinicultura. Nesse estudo observaram que a eficiência na remoção dos mesmos foi aumentada pela presença do inóculo de consórcio de *Bacillus* spp. com outros microrganismos presentes na água residuária como bactérias nitrificantes e desnitrificantes, como também provocou inibição do crescimento de *Vibrio harveyi*, um patógeno perigoso.

Esses resultados são importantes para ajudar no tratamento das águas residuárias, como também permitir que essa água seja reutilizada.

Ferreira *et al.*(2015) analisaram a presença de probióticos em biofloco de cultivo superintensivo de *L. vannamei* e encontraram várias espécies de *Bacillus* spp.: *Bacillus thuringiensis* CPQBA 571-12 DRM06 (N99%), *Bacillus licheniformis* CPQBA 571- 12 DRM 07 (N99%), *B. licheniformis* CPQBA 571-12 DRM 08 (N99%) e *Bacillus cereus* CPQBA 571-12 DRM 09 (N99%). Sendo a última capaz de inibir o patógeno *Vibrio alginolyticus* em teste *in vitro*.

Na literatura, a quantidade de probióticos suficiente para suprir as necessidades de um cultivo, varia entre 10^4 e 10^{10} UFC/mL (DA SILVA *et al.*, 2012; RAMÍREZ *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2015) e, portanto, a quantidade encontrada neste trabalho pode ser insuficiente. No entanto, pode ser utilizada como complemento ao probiótico comercial, reduzindo os custos econômicos. Ainda, existe a possibilidade de reciclar o efluente tratado para complementar os probióticos no cultivo, uma vez que o efluente do tratamento ainda tem quantidades razoáveis de *Bacillus* spp.

3.4 CONCLUSÃO

Bacillus spp. podem ser incorporados ao biofilme gerado em sistemas de tratamento aeróbio, constituindo uma possível fonte alternativa para probióticos acrescentados a cultivos de *L. vannamei*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É viável produzir biofloco com alto teor protéico e com potencial probiótico em sistema de lodos ativados tratando efluentes de carcinicultura. No entanto, sistemas de tratamento biológico aeróbio de efluentes precisam ser muito bem controlados para que sejam obtidas as melhores condições de geração de biofloco aliado à melhor remoção de matéria orgânica.

A utilização de sistema de lodos ativados para produção de biofloco ainda foi pouco estudada, mas a possibilidade de alteração da composição microbiológica do biofloco conforme os parâmetros e fonte de carbono utilizada são alterados, demonstra um grande potencial para futuras pesquisas. Como também, esse biofloco deve ser testado em cultivos para avaliar seu desempenho na dieta de camarões e biodisponibilidade dos nutrientes.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, T.M., SERRA, C.R., LA RAGIONE, R.M., WOODWARD, M.J., HENRIQUES, A.O. Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. **Applied Environmental Microbiology**. 71, 968-978. 2005.
- BOOPATHY, R., KERN, C., & CORBIN, A. Use of *Bacillus consortium* in waste digestion and pathogen control in shrimp aquaculture. **International Biodeterioration and Biodegradation**, 102, 159–164. 2015.
- BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C.. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**, 219(1-4), 393–411. 2003.
- CARVALHO, J.A.L.V. Seleção e identificação de bactérias probióticas para aplicação no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2016.
- CASULA, G.; CUTTING, S.M. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. **Applied Environmental Microbiology**. 68, 2344-2352. 2002.
- COSTA, B.G.B.; SOARES, T.M.; TORRES, R.F.; LACERDA, L.D. Mercury distribution in a mangrove tidal creek affected by intensive shrimp farming. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**. 90, 537-541. 2013.
- CRAB, R., CHIELENS, B., WILLE, M., BOSSIER, P., VERSTRAETE, W., The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. **Aquaculture Research**. 41, 559-567. 2010.
- DA SILVA, E.F.B.; FRÓES, C. N.; DE SOUZA, D. M.; SOARES, R.; PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.; BALLESTER, E. L. C. Uso de probióticos na produção de pós-larvas de camarão-rosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 47(6), 869–874. 2012.
- DECAMP, O.; MORIARTY, D.J.W.; LAVENS, P.. Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. **Aquaculture Research**. 39, 334 – 338. 2008.
- DOWNES, M. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed., Washington: Ed. APHA, 2001. p. 676. EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic
- FAKHRY, S., SORRENTINI, I., RICCA, E., DE FELICE, M., BACCIGALUPI, L., Characterization of spore forming Bacilli isolated from the human gastrointestinal tract. **Journal of Applied Microbiology**. 105, 2178-2186. 2008.
- FERREIRA, G.S.; BOLÍVAR, N.C.; PEREIRA, S.A.; GUERTLER, C. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**. 448, 273 – 279. 2015.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos, Atheneu,p 182, 2002.

GILLIAND, S. E; SPECK, M.L. Enumeration and identity of lactobacilli in dietary products. **Journal of Food Protection**. 40, 760- 762, 1999.

KUHN, D.D., BOARDMAN, G.D., LAWRENCE, A.L., MARSH, L., FLICK, G.J. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture* 296, 51e57. 2009.

KUHN, D.D., LAWRENCE, A.L., BOARDMAN, G.D., PATNAIK, S., MARSH, L., FLICK, G.J. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**. 303, 28-33.Lowry, O.H., Rosebrough, N.J. 2010.

.LIU, K. F.; CHIU, C.H.; SHIU, Y.L, CHENGD, W, LIU, C.H. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. **Fish & Shellfish Immunology**. 28(5), 837–844. 2010.

PANDIYAN, P.; BALARAMAN, D.; THIRUNAVUKKARASU, R.; GEORGE, E. G. J.; SUBARAMANIYAN, K.; MANIKKAM, S.; SADAYAPPAN, B. Probiotics in aquaculture. **Drug Invention Today**. 5(1), 55-59. 2013.

RAMÍREZ, N.B.; SEIFFERT, W.Q.; VIEIRA, F.N.; MOURIÑO, J.L.P.; JESUS, G.F.A.; FERREIRA, G.S.; ANDREATTA, E.R. Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 8, 913–919. 2013.

SAMOCHA, T. M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; Abdul-Mehdi ALI, A.-M.; BURGER, J.M.; ALMEIDA, R.V.; AYUB, Z; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D. L. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**. 36(2),184–191. 2007.

SCHULZE, A.D.; ALABI, A.O.; TATTERSALL-SHELDRAK, A.R.;MILLER, K.M. Bacterial diversity in a marine hatchery: Balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains. **Aquaculture**. 256, 50 - 73, 2006.

TAM, N.K.; UYEN, N.Q.; HONG, H.A.; DUC LE, H.; HOA, T.T.; SERRA, C.R.; HENRIQUES, A.O.; CUTTING, S.M., The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. **Journal of Bacteriology**. 188, 2692-2700. 2006.

