



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
LABORATÓRIO DE NUTRIÇÃO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS
CURSO DE OCEANOGRAFIA

PAULO SÁVIO MACIEL VASCONCELOS

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE *ARTEMIA*
ALIMENTADA COM DIETAS DE *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898)
FLOCULADAS COM QUITOSANA

FORTALEZA
2022

PAULO SÁVIO MACIEL VASCONCELOS

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE *ARTEMIA*
ALIMENTADA COM DIETAS DE *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898)
FLOCULADAS COM QUITOSANA

Monografia apresentada ao curso de Oceanografia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes

FORTALEZA

2022

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)

Vasconcelos, Paulo Sávio Maciel.

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE ARTEMIA ALIMENTADA
COM DIETAS DE *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898) FLOCULADAS COM
QUITOSANA / Paulo Sávio Maciel Vasconcelos. – 2022.

32 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto
de Ciências do Mar, Curso de Oceanografia, Fortaleza, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

1. floculação. 2. quitosana. 3. microalga. 4. artemia. I. Título.

CDD 551.46

PAULO SÁVIO MACIEL VASCONCELOS

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE *ARTEMIA*
ALIMENTADA COM DIETAS DE *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898)
FLOCULADAS COM QUITOSANA

Monografia apresentada ao curso de Oceanografia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Oceanografia.

Aprovada em: 13/07/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Esaú Aguiar Carvalho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Jordana Sampaio Leite
Universidade Federal Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Paulo e Mery.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, por ofertar seus serviços de qualidade, necessários para execução do projeto de cada estudante.

Ao Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes, referência internacional em nutrição de organismos aquáticos, pela excelente orientação e sempre à disposição em ajudar na consecução desse trabalho.

Aos membros da Banca Examinadora Dra. Jordana Sampaio Leite e Prof. Dr. Esaú Aguiar Carvalho pelo tempo, valiosas sugestões e colaborações.

A minha companheira, Lívia, pelo irrestrito apoio em todas as minhas causas.

“Valeu a pena? Tudo vale a pena

Se a alma não é pequena.” (FERNANDO
PESSOA, 1922).

RESUMO

A floculação é um método de separação de biomassa barato e pode ser usado para produção de concentrados de microalga com interesse na aquicultura. No entanto, a depender do agente floculante escolhido, a biomassa pode ser contaminada. A quitosana é um biopolímero orgânico com propriedades floculantes e tem se mostrado promissora na separação de biomassa de microalgas. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho zootécnico de *artemia* alimentada com dietas de *Chaetoceros muelleri* que foram floculadas com quitosana. A microalga marinha *C. muelleri* foi cultivada até a fase exponencial de crescimento, e então foi floculada com quitosana para produção de dois concentrados: Dieta Floculada Pastosa (DFP) e Dieta Floculada Liofilizada (DFL), que foram comparadas com a Dieta Controle (DC), composta pela cultura fresca da microalga. A *artemia* foi cultivada em nove tanques com volume útil individual de 5 L, abastecidos com água estuarina filtrada a 1 µm, salinidade 33 g/L e aeração constante. Um total de 1,5 g de cistos de *artemia* foi pesado para povoar todos os tanques. A duração do cultivo foi de 14 dias. Os animais alimentados com a DC e a DFP apresentaram comprimento variando entre, respectivamente, $0,71 \pm 0,02$ mm e $0,73 \pm 0,02$ mm ($P > 0,05$). Os animais alimentados com a DFL apresentaram um comprimento de apenas $0,6 \pm 0,02$ mm, estatisticamente menor em comparação a DC e a DFP. No intervalo correspondente ao dia 4 e 8 de cultivo, a Taxa de Crescimento Específico (TCE) da *artemia* alimentada com a DFP foi de $7,19 \pm 0,54\%$, seguido da DC com $6,79 \pm 0,50\%$ e da DFL com $5,65 \pm 0,65\%$. Para o intervalo dos dias 4 e 12, foi observado uma TCE de $10,68 \pm 0,45\%$ para a DC e de $11,31 \pm 0,17\%$ para a DFP, não havendo diferença estatística significativa entre eles ($p > 0,05$). A *artemia* alimentada com a DC apresentou uma produtividade de 956 ± 427 mg/L, enquanto com a DFP alcançou uma produtividade final de 853 ± 248 mg/L ($p > 0,05$). Desse modo, o presente estudo demonstrou que é possível realizar a alimentação de *artemia* com uma dieta a base de *C. muelleri* floculada com quitosana. Esse biopolímero não contaminou a biomassa microalgal e pode ser utilizado para flocular a microalga *C. muelleri*.

Palavras-chave: floculação; quitosana; microalga; artemia.

ABSTRACT

Flocculation is an inexpensive biomass separation method and can be used to produce microalgae concentrates of interest in aquaculture. However, depending on the flocculating agent chosen, the biomass can be contaminated. Chitosan is an organic biopolymer with flocculating properties and has shown promise in the separation of microalgae biomass. Thus, the aim of the present study was to evaluate the zootechnical performance of brine shrimp fed diets of *Chaetoceros muelleri* that were flocculated with chitosan. The marine microalgae *C. muelleri* was cultivated until the exponential growth phase, and then it was flocculated with chitosan to produce two concentrates: Pasty Flocculated Diet (DFP) and Lyophilized Flocculated Diet (DFL), which were compared with the Control Diet (DC), composed of fresh microalgae culture. *Artemia* was cultivated in nine tanks with an individual useful volume of 5 L, supplied with estuarine water filtered at 1 μm , salinity 33 g/L and constant aeration. A total of 1.5 g of brine shrimp cysts were weighed to populate all tanks. The duration of cultivation was 14 days. The animals fed with DC and DFP had length varying between, respectively, 0.71 ± 0.02 mm and 0.73 ± 0.02 mm ($P > 0.05$). The animals fed with DFL had a length of only 0.6 ± 0.02 mm, statistically smaller compared to DC and DFP. In the interval corresponding to days 4 and 8 of culture, the Specific Growth Rate (SCT) of artemia fed with DFP was $7.19 \pm 0.54\%$, followed by CD with $6.79 \pm 0.50\%$ and DFL with $5.65 \pm 0.65\%$. For the interval between days 4 and 12, a TBI of $10.68 \pm 0.45\%$ for CD and $11.31 \pm 0.17\%$ for PFP was observed, with no statistically significant difference between them ($p > 0.05$). Artemia fed on DC showed a productivity of 956 ± 427 mg/L, while with DFP it reached a final productivity of 853 ± 248 mg/L ($p > 0.05$). Thus, the present study demonstrated that it is possible to feed brine shrimp with a diet based on *C. muelleri* flocculated with chitosan. This biopolymer did not contaminate the microalgal biomass and can be used to flocculate the microalgae *C. muelleri*

Keywords: flocculation; chitosan; microalgae; brine shrimp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Cultivo de <i>C. muelleri</i> em garraões plásticos de 20 L.....	18
Figura 2	– Processo de floculação de <i>C. muelleri</i> com quitosana.....	19
Figura 3a	– Dieta Floculada Pastosa (DFP)	20
Figura 3b	– Dieta Floculada Liofilizada (DFL)	20
Figura 4	– Liofilizador LIOBRAS® L101	20
Figura 5	– Tanques de cultivo de <i>Artemia</i>	21
Figura 6a	– Fotomicroscopia de <i>Artemia</i>	22
Figura 6b	– Papel milimetrado para medir <i>Artemia</i>	22

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Comprimento corporal da *Artemia* em três intervalos de cultivo. Os animais foram alimentados com uma dieta controle e duas dietas floculadas, sendo uma pastosa e a outra liofilizada. Letras em comum indicam diferença estatística não significativa segundo o teste de Tukey ao nível de significância de 0,05..... 24
- Gráfico 2 – Taxa de Crescimento Específico (TCE) da *Artemia* em dois intervalos de cultivo. Os animais foram alimentados com uma dieta controle e duas dietas floculadas, sendo uma pastosa e a outra liofilizada..... 25
- Gráfico 3 – Produtividade final de *Artemia* alimentada com dietas de *C. muelleri*. Os animais foram alimentados com uma dieta controle e duas dietas floculadas, sendo uma pastosa e a outra liofilizada. Não foi possível mensurar a produtividade da Dieta Floculada Liofilizada (DFL)..... 25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DFP	Dieta Floculada Pastosa
DFL	Dieta Floculada Liofilizada
DC	Dieta Controle

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Cultura de microalga	18
3.2 Separação de biomassa	19
3.3 Cultura de Artemia	21
3.4 Biometrias e parâmetros zootécnicos	22
3.5 Análise Estatística	23
4 RESULTADOS	23
4.1 Comprimento corporal	23
4.2 Taxa de Crescimento Específico (TCE).....	24
4.3 Produtividade final.....	25
5 DISCUSSÃO	26
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade econômica que tem bastante relevância para a sociedade, produzindo proteína animal e trazendo renda para a população, principalmente nas regiões costeiras e tropicais (FAO, 2020). Iniciativas que visam melhorar processos em qualquer atividade são importantes para a redução de custos aliado à sustentabilidade.

A larvicultura de várias espécies de peixes e camarões, especialmente os marinhos, é feita empregando um organismo representante do zooplâncton, como por exemplo a *Artemia*, que geralmente é alimentada e (ou) enriquecida com o uso de alguma microalga (KIBRIA et al., 1997). As microalgas são seres autotróficos que compõem um grupo de organismos aquáticos denominado de fitoplâncton. Estes organismos obtêm energia através de nutrientes e da luz, em um processo denominado de fotossíntese. As microalgas são a base alimentar dos ecossistemas aquáticos, pois servem de alimento para os organismos superiores da cadeia trófica.

A microalga marinha *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898) é uma das principais representantes do fitoplâncton usado na aquicultura, sendo largamente utilizada para alimentar larvas de peixes e camarões marinhos em produções comerciais (AGUIRRE-HINOJOSA et al., 1999).

As empresas que reproduzem organismos aquáticos precisam estabelecer produções sistemáticas de fitoplâncton e zooplâncton. Para isto, é necessário investimento em pessoal com conhecimento técnico, equipamentos e cuidados com biossegurança, os quais atuam como uma barreira para o estabelecimento de novas empresas. Estudos apontam que os custos para produção com microalgas na própria empresa representa entre 30 e 40% do investimento total de um empreendimento aquícola (BOROWITZKA, 1997; COUTTEAU; SORGELLOOS, 1992; HEASMAN et al., 2000).

O custo da utilização de concentrados de microalgas se mostrou mais barato do que o custo de produção de microalgas na própria fazenda (MULLER-FEUGA, 2000). Atualmente, poucas empresas se especializam nessa produção, e as que se especializam ofertam seus produtos para outros produtores da cadeia que não têm produção sistemática de microalgas, principalmente para empresas menores.

Para a produção desses concentrados, vários estudos têm se desenvolvido ao longo dos anos, tentando identificar a maneira mais eficiente de separar a biomassa de microalgas da água (DIFUSA et al., 2015). A centrifugação, filtração, coagulação, flotação e floculação já se mostraram eficazes na separação de biomassa (PAHL et al., 2013; VANDAMME et al., 2013). Dentre esses métodos, vários estudos apontam a floculação como o melhor método de separação de biomassa de microalgas (CORRÊA et al., 2019; SHARMA et al., 2013; UMMALYMA et al., 2017; VANDAMME et al., 2013; WAN et al., 2015).

A floculação é um método relativamente barato para a separação da biomassa microalgal (UDUMAN et al., 2010) e pode ser usado na separação de biomassa de algas com interesse na aquicultura (KNUCKEY et al., 2006). No entanto, a depender do agente floculante escolhido, como os floculantes inorgânicos de ferro, cloretos e sulfatos de alumínio, a biomassa pode ser contaminada, impedindo o uso na aquicultura, devido à bioacumulação de compostos nocivos aos organismos aquáticos (AHMAD et al., 2011).

Nesse sentido, há uma busca por agentes floculantes naturais que não contaminem a biomassa de interesse. A quitosana é um biopolímero orgânico, com propriedades floculantes, obtido da desacetilação da quitina. Segundo ISLAM et al. (2017), a quitosana é um polissacarídeo não-tóxico, biodegradável, com atividade antibacteriana e abundante na natureza. Vários estudos apontam que a quitosana é eficaz na floculação de microalgas (KUMARAN et al., 2021; LUBIÁN, 1989; ŞIRIN et al., 2012; XU et al., 2013; YIN et al., 2021).

A *Artemia* é um crustáceo filtrador não seletivo (TIZOL, 1994) bastante usado na larvicultura de peixes e camarões ao redor do mundo (SORGELOOS et al., 2001). Devido a essas características, esse organismo é utilizado como modelo para diversas pesquisas com organismos aquáticos de interesse comercial.

Dessa forma, o presente trabalho teve o objetivo de analisar alguns parâmetros do desempenho zootécnico de artemias alimentadas com a microalga *C. muelleri*, apresentadas sob três formas: floculada pastosa, floculada liofilizada e cultura fresca.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliação de parâmetros do desempenho zootécnico de artemia alimentada com a microalga marinha *C. muelleri*, apresentada nas formas floculada pastosa, floculada liofilizada e cultura fresca.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o comprimento corporal de *Artemia* alimentada com três tratamentos dietéticos.
- Avaliar a Taxa de Crescimento Específico (TCE) de *Artemia* alimentada com três tratamentos dietéticos.
- Avaliar a produtividade final de *Artemia* alimentada com três tratamentos dietéticos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Cultura de microalga

A microalga marinha *C. muelleri* foi cultivada a partir de uma cepa disponibilizada pelo Laboratório de Plâncton do LABOMAR/UFC, e levada ao Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos/LANOA/LABOMAR/UFC. O cultivo iniciou em um Erlenmeyer de 200 ml e depois transferido para biorreatores PET de 20 L (Figura 1). Os biorreatores foram abastecidos com água estuarina, previamente filtrada em cartuchos de areia e depois em filtro de tecido de 1 μm . Foi adicionado 8 ml/L de hipoclorito de sódio (NaClO) em cada biorreator, purificando a água por 24h, e depois neutralizado o cloro com 150 mg/L de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). A salinidade foi ajustada para 20 g/L, pH $7,8 \pm 0,25$, temperatura $26^\circ\text{C} \pm 0,9^\circ\text{C}$ e iluminação artificial de 24 h ao dia. O meio de cultivo usado foi o f/2 (GUILLARD, 1975), adicionado de sílica, essencial para o desenvolvimento de diatomáceas. A contagem de células foi feita a cada dois dias, com o auxílio de um microscópio eletrônico e uma câmara de Neubauer.

Figura 1 – Cultivo de *C. muelleri* em garrafões plásticos de 20 L.

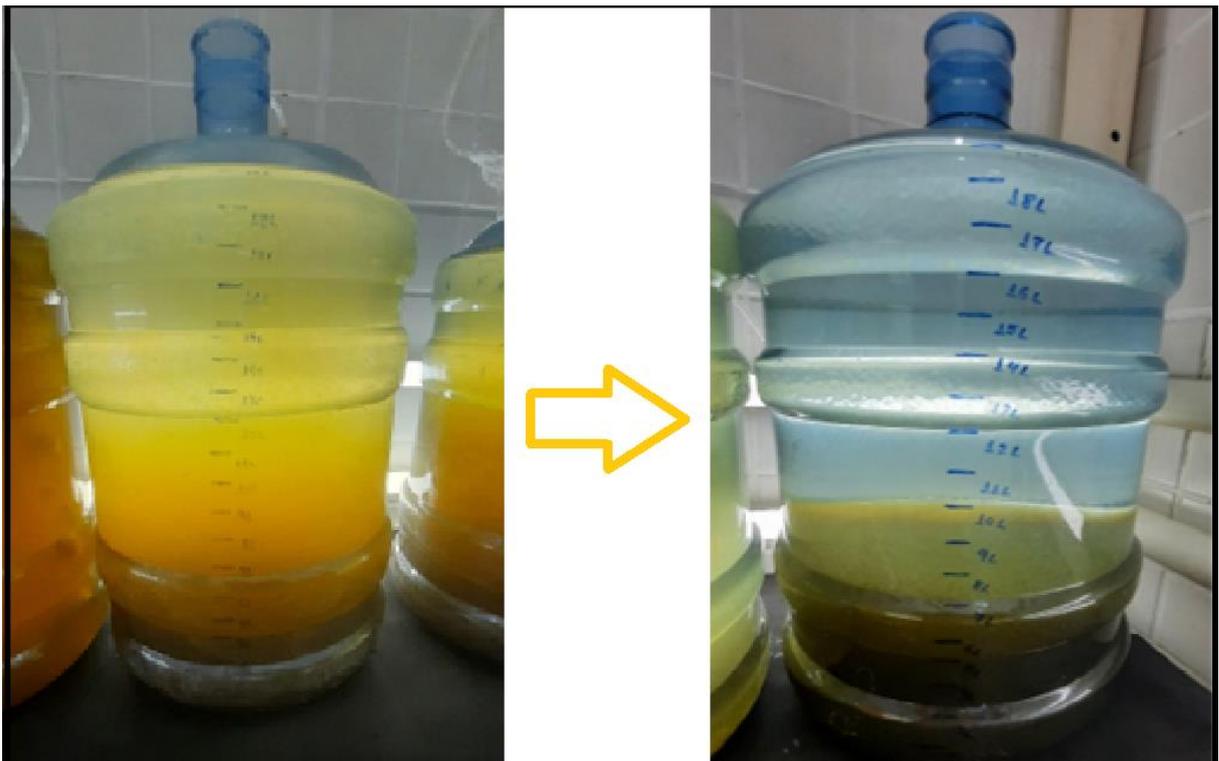


Fonte: autor.

3.2 Separação de biomassa

A microalga foi cultivada até a fase exponencial de crescimento, na densidade 1×10^6 células/mL, e logo após começou o processo de floculação no próprio biorreator plástico. Para isso, o polissacarídeo quitosana foi usado. A quitosana foi adquirida em uma farmácia de manipulação na cidade de Fortaleza, Ceará (PagueMenos® manipulação, 2022). O biopolímero foi dissolvido em solução de ácido acético a 1% (ŞIRIN et al., 2012) e depois adicionado na dosagem de 80 mg/L no cultivo da microalga, com tempo de sedimentação de 40 minutos (KUMARAN et al., 2021) (Figura 2).

Figura 2 – Processo de floculação de *C. muelleri* com quitosana.



Fonte: autor.

Depois da separação, uma parte da biomassa foi refrigerada, correspondendo ao tratamento Dieta Floclada Pastosa (DFP) (Figura 3a). A outra parte foi liofilizada, sendo correspondente à Dieta Floclada Liofilizada (DFL) (Figura 3b), que também foi armazenada em geladeira. O equipamento usado foi o Liofilizador LIOBRAS® L101

(Figura 4). Seguiu-se com a produção de microalgas para o tratamento controle com a cultura fresca.

Figura 3 – a) Dieta Floculada Pastosa (DFP) e b) Dieta Floculada Liofilizada (DFL).



Fonte: autor.

Figura 4 - Liofilizador LIOBRAS® L101.

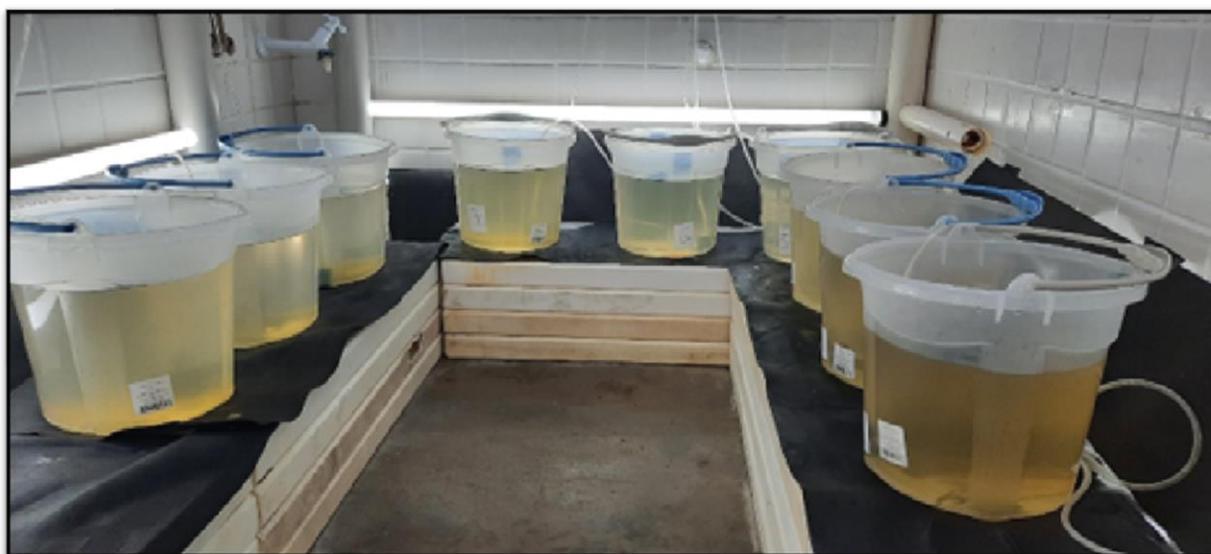


Fonte: Prof. Alberto Nunes

3.3 Cultura de *Artemia*

O passo seguinte à preparação das microalgas foi separar nove tanques, com volume útil individual de 5 L, abastecê-los com água estuarina à salinidade de 33 g/L, sendo filtrada em malha de 1 μm , adicionada de 8 ml/L de hipoclorito de sódio (NaClO) por 24h, seguida de 150 mg/L de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), para finalmente aerá-los de forma constante, a fim de receber os náuplios de *Artemia* (Figura 5).

Figura 5 – Tanques de cultivo de *Artemia*.



Fonte: autor.

Os cistos de *Artemia* foram adquiridos da empresa Yepist[®], localizada em Recife, Pernambuco. Um total de 1,5 g de cistos foi pesado para povoar todos os tanques. Os cistos foram colocados em um recipiente *pet* em forma de funil, adicionado de água salgada, aeração forte e constante, até que todos os cistos eclodissem em 24 h. Passado esse período, os náuplios recém eclodidos foram concentrados em 90 mL de água salgada, e divididos igualmente nos nove tanques, ou seja, 10 mL em cada um (JUNIOR, 2017). A duração do cultivo foi de 14 dias, que é o período que uma *Artemia* passa do seu estágio de náuplio para vida adulta, e foi alimentado uma vez ao dia (SORGELLOOS et al., 1986).

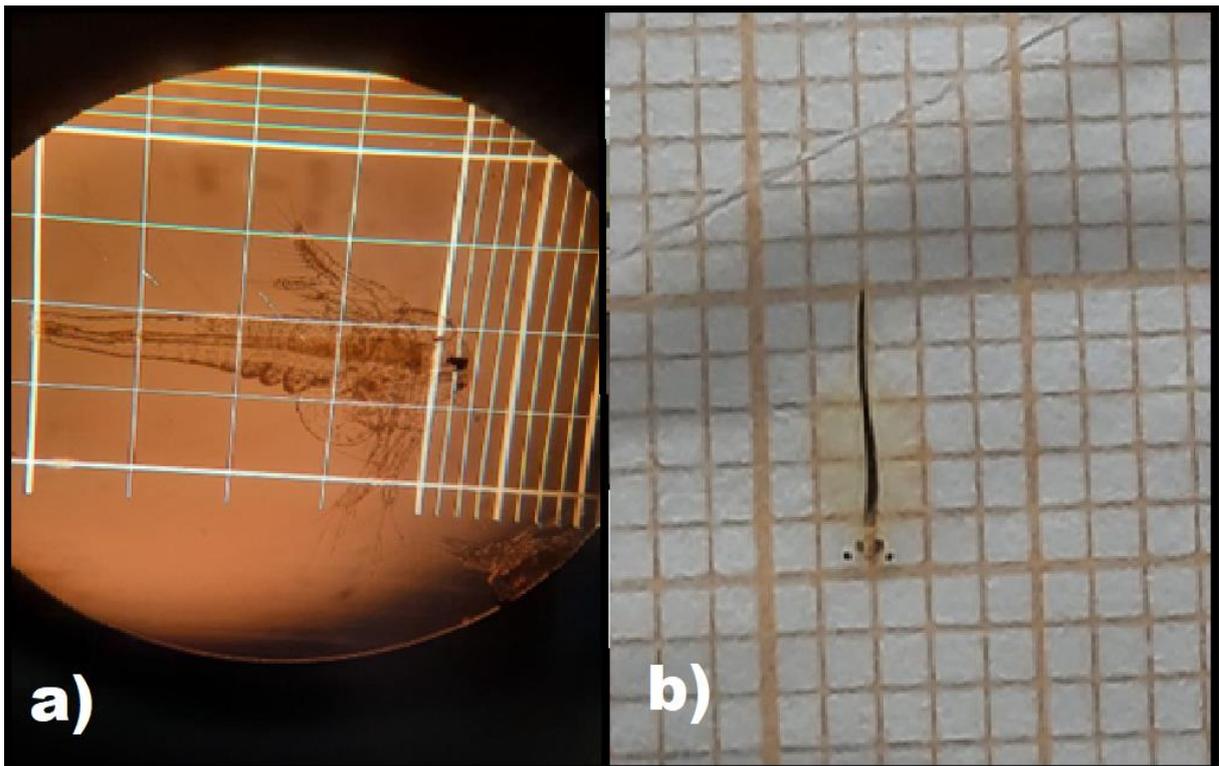
A salinidade, pH e temperatura da água alcançaram uma média (\pm desvio padrão) de 30 ± 1 g/L, $8,1 \pm 0,25$ e $28 \pm 0,8^\circ\text{C}$. Esses parâmetros foram mantidos constantes nos nove tanques de cultivo. A cada dois dias foi realizada a troca de 50%

do volume total de água, a fim de manter em níveis adequados os parâmetros de qualidade de água nos tanques de cultivo.

3.4 Biometrias e parâmetros zootécnicos

Três biometrias foram realizadas ao longo do experimento. Nessas biometrias, foi colhido 10 indivíduos de cada tanque, inicialmente medidos com auxílio de um microscópio eletrônico com aumento de 10x, e uma câmera de Neubauer, que tem marcações em milímetro (Figura 6a). A partir da segunda biometria, um papel milimetrado foi usado para medir os indivíduos (Figura 6b). A média desses 10 indivíduos foi considerada como o tamanho médio de cada tanque.

Figura 6 – a) fotomicroscopia de *Artemia*. b) papel milimetrado para medir a *Artemia*



Fonte: autor.

A Taxa de Crescimento Específico (TCE, %/dia) foi calculada através da fórmula $= [(ln \text{ do comprimento corporal final} - ln \text{ do comprimento corporal inicial}) \div \text{dias de cultivo}] \times 100$. A produtividade final (mg/L) foi determinada através da equação $= \text{biomassa final de } Artemia \text{ (g)} \div \text{volume do tanque (L)}$.

3.5 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistical Package for Social Sciences, pacote 23 (IBM® SPSS® Statistics, Chicago, Illinois, EUA). O efeito da dieta sobre o comprimento corporal, a TCE e a produtividade final da *Artemia* foram examinados pela Análise de Variância (ANOVA) de uma via. Quando diferenças significativas foram detectadas, essas foram comparadas duas a duas com o teste de Tukey HSD. O teste t de Student foi aplicado para comparar as diferenças entre as médias de duas dietas. Um nível significância de 5% foi adotado em todas as análises.

4 RESULTADOS

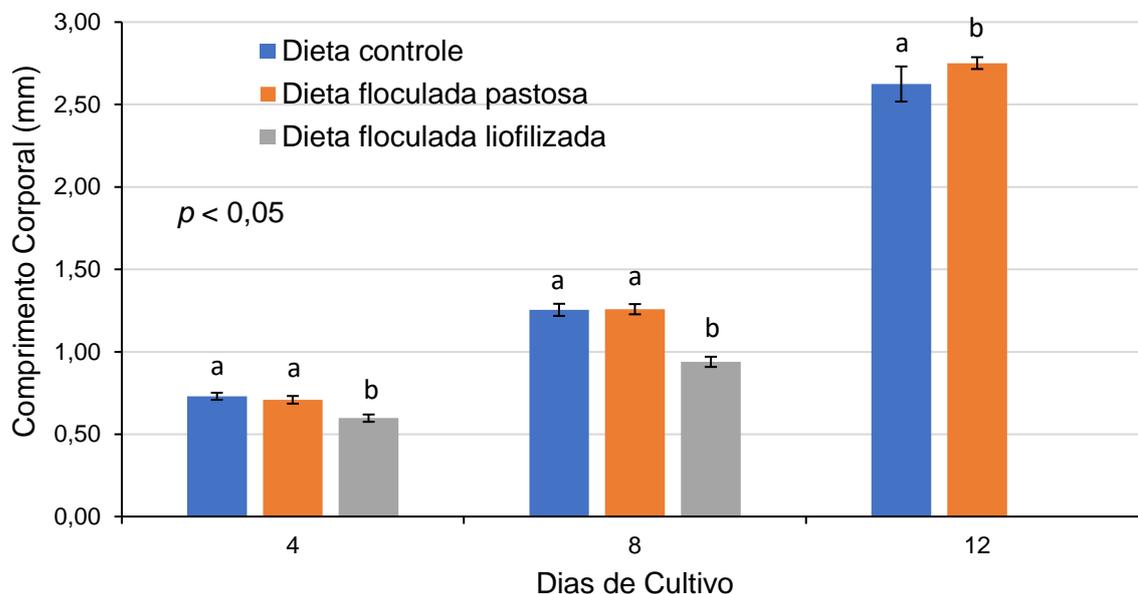
4.1 Comprimento corporal

Uma diferença estatística significativa no comprimento corporal da *Artemia*, a partir do 4º dia de cultivo, foi detectada entre os tratamentos experimentais ($P < 0,05$; Gráfico 1). Os animais alimentados com a cultura fresca (Dieta Controle) e a Dieta Floculada Pastosa (DFP) apresentaram um comprimento variando entre $0,71 \pm 0,02$ mm e $0,73 \pm 0,02$ mm ($P > 0,05$). No entanto, os animais alimentados com a Dieta Floculada Liofilizada (DFL) apresentaram um comprimento de apenas $0,6 \pm 0,02$ mm, estatisticamente menor em comparação à Dieta Controle (DC) e à Dieta Floculada Pastosa (DFP) ($P < 0,05$).

No 8º dia de cultivo, a *Artemia* apresentou um comprimento variando de $0,94 \pm 0,03$ mm (Dieta Floculada Liofilizada) e $1,26 \pm 0,04$ mm (Dieta Controle e Dieta Floculada Pastosa). Com isso, houve diferença estatística entre os animais alimentados com Dieta Floculada Liofilizada (DFL) e os demais tratamentos dietéticos ($P < 0,05$).

No 12º dia de cultivo, devido à mortalidade total da *Artemia* alimentada com a Dieta Floculada Liofilizada (DFL), não foi registrado o comprimento dos animais para esse tratamento. Porém, foi constatado que os animais alimentados com a Dieta Floculada Pastosa (DFP) apresentaram um maior comprimento ($2,75 \pm 0,04$ mm), em comparação com a Dieta Controle ($2,63 \pm 0,11$ mm).

Gráfico 1 – Comprimento corporal da *Artemia* em três intervalos de cultivo. Os animais foram alimentados com uma dieta controle e duas dietas floculadas, sendo uma pastosa e a outra liofilizada. Letras em comum indicam diferença estatística não significativa segundo o teste de Tukey ao nível de significância de 0,05.



Fonte: autor.

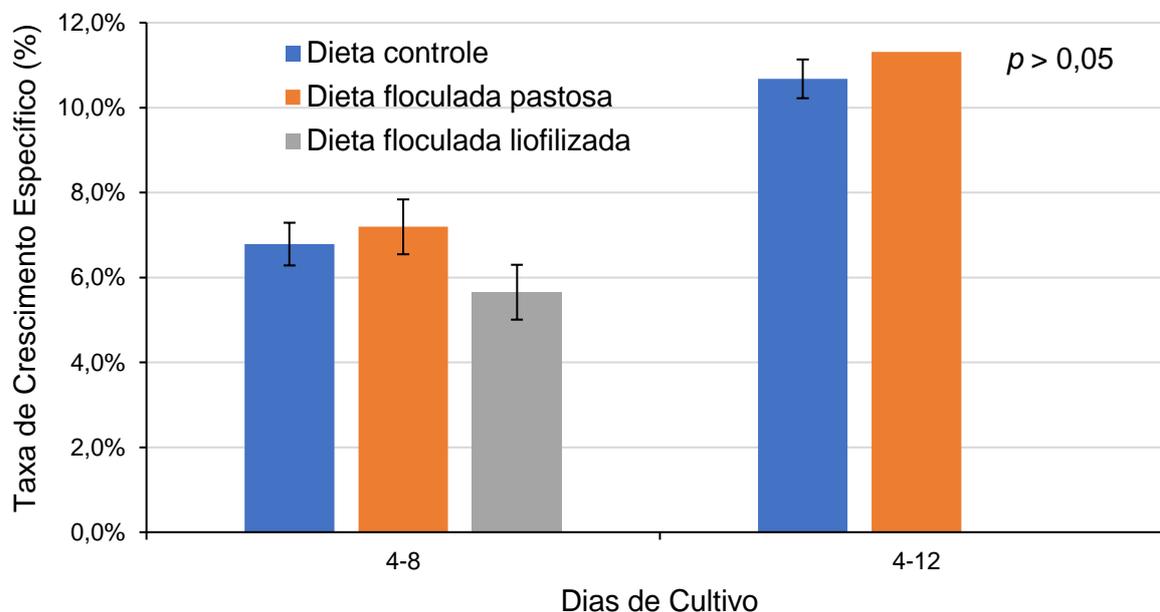
4.2 Taxa de Crescimento Específico (TCE)

A Taxa de Crescimento Específico (%/dia) foi calculada para os tratamentos com a Dieta Controle (DC) e a Dieta Floculada Pastosa (DFP). Devido à mortalidade total no tratamento com a Dieta Floculada Liofilizada (DFL), a partir do 8º dia de cultivo, não foi possível calcular a Taxa de Crescimento Específico para esse tratamento.

Duas Taxas de Crescimento Específico foram calculadas para os tratamentos com a Dieta Controle (DC) e Dieta Floculada Pastosa (DFP). Uma referente as duas primeiras biometrias e outra referente ao intervalo completo do experimento.

No intervalo correspondente ao 4º e 8º dias de cultivo, a *Artemia* alimentada com a Dieta Floculada Pastosa (DFP) teve Taxa de Crescimento Específico de $7,19 \pm 0,54\%$, seguida da Dieta Controle (DC) com Taxa de $6,79 \pm 0,50\%$, e da Dieta Floculada Liofilizada (DFL), com $5,65 \pm 0,65\%$. No intervalo correspondendo ao 4º e 12º dia de cultivo, foi observado uma TCE de $11,31 \pm 0,17\%$ para a Dieta Floculada Pastosa (DFP) e $10,68 \pm 0,45\%$ para a Dieta Controle (DC) ($P > 0,05$; Gráfico 2).

Gráfico 2 – Taxa de Crescimento Específico (TCE) da *Artemia* em dois intervalos de cultivo. Os animais foram alimentados com uma dieta controle e duas dietas floculadas, sendo uma pastosa e a outra liofilizada.

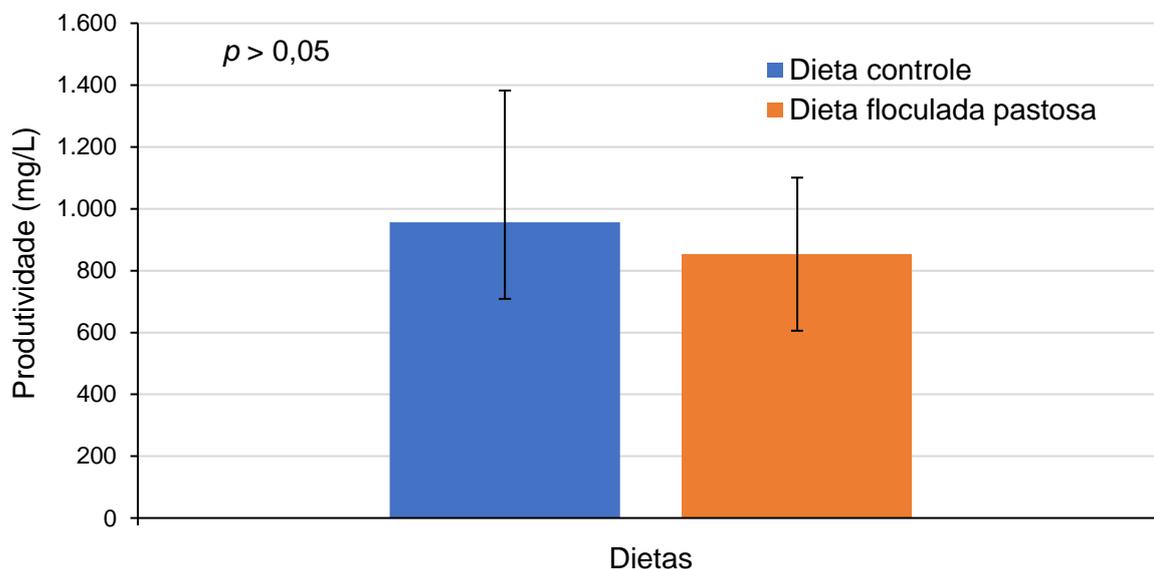


Fonte: autor.

4.3 Produtividade final

A *Artemia* alimentada com a Dieta Controle (DC) apresentou uma produtividade de 956 ± 427 mg/L, enquanto a Dieta Floculada Pastosa (DFP) alcançou uma produtividade final de 853 ± 248 mg/L, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$). A produtividade final do tratamento com a Dieta Floculada Liofilizada (DFL) não pode ser mensurada devido à mortalidade total observada nesse tratamento, a partir do 8º dia de cultivo.

Gráfico 3 – Produtividade final de *Artemia* alimentada com dietas de *C. muelleri*. Os animais foram alimentados com uma dieta controle e duas dietas floculadas, sendo uma pastosa e a outra liofilizada. Não foi possível mensurar a produtividade da Dieta Floculada Liofilizada (DFL).



Fonte: autor.

5 DISCUSSÃO

A larvicultura de organismos aquáticos é uma atividade qualificada da aquicultura e extremamente necessária para o ciclo de produção de espécies aquáticas. As microalgas são uma fonte sustentável de alimentação na aquicultura e são utilizadas, principalmente, na alimentação de larvas de peixes, camarões e ostras (HEMAISWARYA et al., 2011). As fazendas de aquicultura precisam manter produções sistemáticas desses organismos, ou adquiri-las de outras empresas, através de concentrados. Esses concentrados ainda são caros, pois muitas vezes são produzidos através de métodos também onerosos, como a centrifugação, principalmente a de larga escala (CHRISTENSON; SIMS, 2011).

Nesse sentido, há uma busca de novos métodos que possam ser mais baratos e que não contaminem a biomassa de interesse. A floclulação de *C. muelleri* por quitosana é conhecida há bastante tempo (LUBIÁN, 1989), e novos estudos tentam melhorar a eficiência da floclulação desse agente (AHMAD et al., 2011; CHUA et al., 2019; FARID et al., 2013; KUMARAN et al., 2021). Quanto ao custo de floclulação, a

quitosana já se mostrou economicamente viável (KUMARAN et al., 2021), uma vez que o processo é bastante simples, não usando equipamentos sofisticados ou que consumam energia. Nesse processo, apenas o custo da solução de quitosana é relevante, relacionado ao valor do biopolímero e da solução de ácido acético. DAI et al., (2020), em pesquisa com a microalga *Rhodosorus* sp., relataram que a separação da biomassa através da floculação com quitosana foi mais barata que a centrifugação.

Algumas características físico-químicas ajudam a quitosana a ser um efetivo floculante, como o longo tamanho da cadeia polimérica, a alta densidade de carga catiônica e a precipitação em condições alcalinas (RENAULT et al., 2009). Como os cultivos de microalgas tem carga superficial negativa, é preciso usar polímeros de carga superficial positiva para promover a ligação entre as moléculas, e a posterior formação de aglomerados seguida da decantação (WANG et al., 2005).

Sabe-se que a quitosana é bastante usada para flocular microalgas de água doce (RASHID et al., 2013), uma vez que a alta força iônica da água salgada atrapalha a ligação das moléculas de quitosana com as moléculas da microalga, dificultando o mecanismo de varredura da floculação (BLOCKX et al., 2018). Por isso, a faixa de salinidade das culturas de *C. muelleri* foi de 22 g/L, que é uma salinidade relativamente baixa e está dentro da faixa ótima de produção dessa microalga (FUJII et al., 1995).

A quitosana não polui a biomassa de interesse, e por isso pode ser usada para flocular culturas de microalgas com interesse na aquicultura, ou até mesmo para fins alimentícios (RENAULT et al., 2009). Este biopolímero, além de não poluir a biomassa, tem compostos imunoestimulantes contra infecções virais e bacterianas que possam estar presentes em organismos cultivados na aquicultura (KUMAR et al., 2017).

No presente estudo, a floculação seguiu os padrões descritos no trabalho de (KUMARAN et al. (2021), e se mostrou viável para flocular a cultura de *C. muelleri*. Com as culturas floculadas, uma parte foi liofilizada para que uma das dietas fosse desidratada, e com isso aumentar a vida útil do alimento. A vida útil das dietas é um fator extremamente importante na nutrição de organismos aquáticos, pois promove mais segurança para o produtor, que pode estocar o alimento e programar sua produção por períodos mais longos. Além disso, a facilidade no manuseio de um alimento em pó ajuda os produtores com a mão-de-obra. Em relação à Dieta Floculada Pastosa (DFP), apesar de ter vida útil menor do que a Dieta Floculada Liofilizada (DFL), ainda apresenta uma boa vida útil quando refrigerado a -20°C, com todas as células preservadas mesmo depois de 70 dias (KUMARAN et al., 2021).

Para este trabalho, a dieta com *C. muelleri* Floculada Liofilizada não teve bom desempenho, para todos os parâmetros analisados. Alguns pontos podem ser mencionados para esse resultado. O primeiro está relacionado com o tamanho das partículas do pó, que deve ter sido maior que a abertura da boca das artemias, reflexo do não peneiramento da dieta após a liofilização. Isso deve ter impedido ou dificultado o consumo da dieta pela *Artemia*. O segundo ponto pode estar relacionado com a dificuldade de homogeneizar a microalga desidratada com a água de cultivo, pois esse tratamento foi o único em que a maior parte da microalga decantava no fundo dos tanques. Isso também pode ser reflexo do próprio tamanho das partículas, favorecendo essa decantação. Sugere-se um peneiramento em malhas específicas para melhor homogeneização da dieta com a água, e com isso permitir a alimentação das artemias com partículas menores que a abertura de sua boca, melhorando o desempenho zootécnico.

A dieta com *C. muelleri* Floculada Pastosa teve um desempenho satisfatório em relação aos parâmetros de crescimento e produtividade da *Artemia*, não havendo diferença estatística em relação à dieta controle. O fato de a dieta ter se dissolvido completamente na água, e a consequente boa homogeneização com a água de cultivo, facilitou a ingestão do alimento pela *Artemia*. Isso demonstrou que esses organismos conseguem assimilar a dieta e usar seus nutrientes para o seu desenvolvimento corporal.

Após a flocação de *C. muelleri* com quitosana, as células da microalga continuam viáveis quando é refrigerada (KUMARAN et al., 2021). Com isso, os benefícios que a cultura de microalga viva traz ao cultivo de *Artemia*, como o consumo de metabólitos, continuam efetivos. Esses metabólitos dizem respeito aos compostos nitrogenados e fosfatados que as microalgas conseguem assimilar e converter para o desenvolvimento corporal, melhorando a qualidade da água de cultivo (PORRELLO et al., 2003).

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que é possível a alimentação de *Artemia* com uma dieta à base de *C. muelleri* floculada com quitosana. Esse biopolímero não contaminou a biomassa microalgal e pode ser utilizado para flocular *C. muelleri* com interesse na aquicultura. O desempenho da *Artemia* (Comprimento Corporal, Taxa de Crescimento Específico e a Produtividade Final) não é afetado quando os animais são alimentados com as Dietas Floculada Pastosa (DFP) ou a Dieta Controle (DC). A Dieta Floculada Liofilizada (DFL) não teve desempenho satisfatório devido ao manejo inadequado dessa dieta.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-HINOJOSA, E.; LÓPEZ-TORRES, M.; GARZA-AGUIRRE, M. C. Cultivos larvarios de camarones peneidos. **Cultivo de camarones peneidos. Edit. AGT, Mexico, DF 283p**, p. 67–104, 1999.
- AHMAD, A. L. et al. Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. **Chemical Engineering Journal**, v. 173, n. 3, p. 879–882, out. 2011.
- BLOCKX, J. et al. Unravelling the Mechanism of Chitosan-Driven Flocculation of Microalgae in Seawater as a Function of pH. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 9, p. 11273–11279, 4 set. 2018.
- BOROWITZKA, M. A. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. **Journal of applied phycology**, v. 9, n. 5, p. 393–401, 1997.
- CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 6, p. 686–702, 2011.
- CHUA, E. T. et al. Efficient harvesting of *Nannochloropsis* microalgae via optimized chitosan-mediated flocculation. **Global Challenges**, v. 3, n. 1, p. 1800038, 2019.
- CORRÊA, D. DE O.; DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D. Biomass production and harvesting of *Desmodesmus subspicatus* cultivated in flat plate photobioreactor using chitosan as flocculant agent. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 2, p. 857–866, 2019.
- COUTTEAU, P.; SORGELOOS, P. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. **Journal of Shellfish Research**, v. 11, p. 467, 1992.
- DAI, L. et al. Evaluating the potential of carbohydrate-rich microalga *Rhodospira* sp. SCSIO-45730 as a feedstock for biofuel and β -glucans using strategies of phosphate optimization and low-cost harvest. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 5, p. 3051–3061, 2020.
- DIFUSA, A.; MOHANTY, K.; GOUD, V. V. Advancement and challenges in harvesting techniques for recovery of microalgae biomass. **Environmental Sustainability**, p. 159–169, 2015.
- FARID, M. S. et al. Using nano-chitosan for harvesting microalga *Nannochloropsis* sp. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 555–559, mar. 2013.
- FUJII, S. et al. Growth and Osmoregulation of *Chaetoceros muelleri* in Relation to Salinity. **Plant and Cell Physiology**, v. 36, n. 5, p. 759–764, jul. 1995.
- GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: **Culture of marine invertebrate animals**. [s.l.] Springer, 1975. p. 29–60.

HEASMAN, M. et al. Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs - a summary. **Aquaculture Research**, v. 31, n. 8–9, p. 637–659, ago. 2000.

HEMAISWARYA, S. et al. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 8, p. 1737–1746, 24 ago. 2011.

ISLAM, S.; BHUIYAN, M. A.; ISLAM, M. N. Chitin and chitosan: structure, properties and applications in biomedical engineering. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 25, n. 3, p. 854–866, 2017.

JUNIOR, A. C. Alimento inerte como alternativa para cultivo de Artemia. Trabalho de Conclusão de curso. **acervodigital.ufpr.br**, 2017.

KIBRIA, G. et al. Zooplankton: Its biochemistry and significance in aquaculture. 1997. KNUCKEY, R. M. et al. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. **Aquacultural Engineering**, v. 35, n. 3, p. 300–313, out. 2006.

KUMAR, T. S.; POORNIMA, M.; ALAVANDI, S. V. Immunostimulants in aquaculture. **Prophylaxis in aquaculture. CIBA-ICAR, Chennai**, p. 175–185, 2017.

KUMARAN, J.; SINGH, I. S. B.; JOSEPH, V. Effective biomass harvesting of marine diatom *Chaetoceros muelleri* by chitosan-induced flocculation, preservation of biomass, and recycling of culture medium for aquaculture feed application. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 3, p. 1605–1619, 11 jun. 2021.

LUBIÁN, L. M. Concentrating cultured marine microalgae with chitosan. **Aquacultural Engineering**, v. 8, n. 4, p. 257–265, jan. 1989.

MULLER-FEUGA, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. **Journal of applied phycology**, v. 12, n. 3, p. 527–534, 2000.

PAHL, S. L. et al. Harvesting, thickening and dewatering microalgae biomass. In: **Algae for biofuels and energy**. [s.l.] Springer, 2013. p. 165–185.

PORRELLO, S. et al. Reduction of aquaculture wastewater eutrophication by phytotreatment ponds system: I. Dissolved and particulate nitrogen and phosphorus. **Aquaculture**, v. 219, n. 1–4, p. 515–529, 2003.

RASHID, N.; REHMAN, S. U.; HAN, J.-I. Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1107–1110, jul. 2013.

RENAULT, F. et al. Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach. **European Polymer Journal**, v. 45, n. 5, p. 1337–1348, maio 2009.

SHARMA, K. K. et al. Critical analysis of current Microalgae dewatering techniques. **Biofuels**, v. 4, n. 4, p. 397–407, 9 jul. 2013.

ŞIRIN, S. et al. Harvesting the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation. **Journal of applied phycology**, v. 24, n. 5, p. 1067–1080, 2012.

SORGELOOS, P. et al. Manual for the Culture and Use of Brine Shrimp *Artemia* in Aquaculture. **Artemia Reference Center**. 1986.

SORGELOOS, P.; DHERT, P.; CANDREVA, P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. **Aquaculture**, v. 200, n. 1–2, p. 147–159, 2001.

TIZOL CORREA, R. Uso de la levadura torula (*Torulopsis utilis*) en la obtención de biomasa de *Artemia*. **Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR**, v. 23, n. 1, p. 165–171, 1994.

UDUMAN, N. et al. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 3, p. 935–940, 2010.

UMMALYMA, S. B. et al. Bioflocculation: an alternative strategy for harvesting of microalgae—an overview. **Bioresource technology**, v. 242, p. 227–235, 2017.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.

WAN, C. et al. Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies. **Bioresource technology**, v. 184, p. 251–257, 2015.

WANG, L. K.; HUNG, Y.-T.; SHAMMAS, N. K. **Physicochemical treatment processes**. [s.l.] Springer, 2005. v. 3

XU, Y.; PURTON, S.; BAGANZ, F. Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource technology**, v. 129, p. 296–301, 2013.

YIN, Z. et al. Application of chitosan-based flocculants to harvest microalgal biomass for biofuel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 145, p. 111159, 2021.