

Marcos Estevão Santiago de Melo Filho

**APLICAÇÃO DOS PROCESSOS DE NITRIFICAÇÃO E  
DESNITRIFICAÇÃO EM UM SISTEMA DE REUSO DIRETO  
PLANEJADO DA ÁGUA PARA CULTIVO SUPERINTENSIVO  
DE CAMARÃO MARINHO**

Dissertação submetida ao Programa de pós graduação da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Moreira Soares

Coorientadora: Prof. Dr. Kat Regina Lapa

Florianópolis  
2013

M528c MELO FILHO, Marcos Esetevão Santiago de.

Aplicação dos processos de nitrificação e desnitrificação de reuso direto planejado da água para cultivo superintensivo de camarão marinho [dissertação] / Marcos Estevão Santiago de Melo Filho; orientado, Hugo Moreira Soares – Florianópolis, SC, 2013.  
109 p.: Il., tab.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui referências.

1. Carcinicultura. 2. Bioreatores. 3. Cultivo – produção de camarões. 4. Tratamento de efluentes - aquícolas. I. Soares, Hugo Moreira. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDU 639.5/628.2

Marcos Estevão Santiago de Melo Filho

**APLICAÇÃO DOS PROCESSOS DE NITRIFICAÇÃO E  
DESNITRIFICAÇÃO EM UM SISTEMA DE REUSO DIRETO  
PLANEJADO DA ÁGUA PARA CULTIVO SUPERINTENSIVO  
DE CAMARÃO MARINHO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós – Graduação em Engenharia Química

Florianópolis, 28 de Fevereiro de 2013.

---

Prof. , Ricardo Antonio Francisco Dr.  
Coordenador do Curso

---

Prof. Hugo Moreira Soares, PhD.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof<sup>ª</sup>. Kat Regina Lapa, Dr.  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

**Banca Examinadora:**

---

Prof. , José Carlos Cunha Petrus Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. , Humberto Jorge José Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. , José Luiz Mouriño Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me abençoou e meu deu a felicidade de escrever essa dissertação.

Agradeço á todos da minha família, em especial agradeço a minha esposa Luciane Toledo, pela paciência e pela companhia e ajuda na realização dessa dissertação.

Agradeço ao professor Hugo Moreira Soares, pela oportunidade de realizar o mestrado, pelos ensinamentos, pela orientação em todas as etapas do trabalho principalmente nos momentos de dificuldade, pela amizade e os sábios conselhos de vida.

Agradeço aos professores Willibaldo e Agenor, pelos conhecimentos transmitidos fundamentais para realizar o trabalho.

Agradeço a professora Regina pela disponibilidade de uso do laboratório, as alunas da pós graduação Jaqueline e Gisele pela realização das análises.

Agradeço ao Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), pela parceria e por ter disponibilizado toda estrutura para realização do trabalho.

Agradeço aos funcionários do corpo técnico do LCM, Carlos e José Luiz, pela dedicação, pelos ensinamentos em qualidade de água e microbiologia e pela paciência e pela amizade.

Agradeço aos funcionários do LCM Davi, Wilson e Carlos por ajudar na montagem dos equipamentos e na operação do sistema. E a todos os funcionários responsáveis pela limpeza e pelo “milagroso cafezinho”.

Agradeço as estagiárias Juliana e Natália por ajudar na operação do sistema e com as análises de qualidade de água e microbiologia.

Agradeço aos amigos de trabalho do LTBR, pela colaboração de todos, pelos conhecimentos transmitidos, pela paciência e pela amizade “Valeu galera”.

Agradeço a CAPES pela bolsa de estudo.

Agradeço ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, e ao secretário da pós-graduação em Engenharia Química, Edvilson pela dedicação e por todos os serviços prestados.



E aqueles que foram vistos dançando, foram julgados como insanos por aqueles que não podiam escutar a música.

Friedrich Nietzsche.



## RESUMO

Um dos problemas da carcinicultura intensiva é o acúmulo de compostos nitrogenados, principalmente nitrogênio amoniacal e de nitrito, os quais se acumulam dentro do tanque de cultivo, sendo extremamente tóxicos para os organismos aquáticos. Isso acontece em função dos resíduos gerados pela ração administrada e pelo metabolismo dos camarões. Alguns sistemas de tratamento já existem removendo a amônia por meio da utilização de bactérias heterotróficas, as quais utilizam fontes extras de carbono orgânico para converter a amônia em biomassa bacteriana. O presente estudo tem como objetivo promover a retirada do nitrogênio por meio do processo de nitrificação/desnitrificação, a fim de manter a qualidade de água necessária para o cultivo de camarão mirinho. Para isso foi desenvolvido um sistema de com recirculação da água em circuito fechado, promovendo a nitrificação dentro do próprio tanque de cultivo e um reator de desnitrificação externo. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Camarão Marinho (LCM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O ensaio envolveu o desenvolvimento de camarões desde a fase juvenil até a fase adulta, realizado em duas etapas. A primeira etapa teve duração de 50 dias utilizando camarões de  $1,48 \pm 0,31\text{g}$  e a segunda foi realizada em 36 dias utilizando camarões de  $7,1\text{g} \pm 0,56\text{g}$ . A unidade experimental continha três partes principais: tanque contendo um reator de leito móvel para nitrificação; um reator de leito móvel para desnitrificação e um decantador. Esse trabalho destinou-se a aplicação desse processo no cultivo super-intensivo de camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) operado em ciclo fechado, com zero de renovação de água. E obteve como resultado após os 36 dias dias de cultivo utilizando uma densidade de 350 camarões/m<sup>3</sup>, 92,86 % de sobrevivência, peso final de  $13,1 \pm 1,44\text{g}$ , e crescimento semanal médio de 1,23 g/ semana. O sistema assim concebido mostrou-se viável e muito promissor para aplicação na carcinicultura, trazendo uma série de vantagens quando comparado com os sistemas atualmente utilizados, sendo os principais: menor produção de lodo; menor gasto com energia e melhores condições de cultivo.

**Palavras-chave:** Nitrificação/Desnitrificação; Produção superintensiva de camarão; Carcinicultura



## ABSTRACT

One of the problems associated to the intensive shrimp pond is ammonia and nitrite accumulation in the tank, being extremely toxic to aquatic organisms. This is due to the residues generated by the shrimp metabolism. Some existing treatment systems remove ammonia using heterotrophic bacteria, which use external organic carbon sources to convert ammonia to bacterial biomass. This study aims to promote the removal of nitrogen through the nitrification/denitrification process in order to maintain the water quality required for growing marine shrimp. In this work it was built a closed circuit water recirculation system, promoting the nitrification process inside the cultivation tank and one external denitrification reactor. The experiment was conducted at the Laboratory of Marine Shrimp (LCM) of the Federal University of Santa Catarina (UFSC). The experiment involved shrimp from larval to adult phases, carried out in two steps. The first stage lasted 50 days starting with  $1.48 \pm 0.31$ g shrimp and the second lasted 36 days starting with  $7.1 \pm 0.56$  g. The experimental setup was composed of three main parts: tank containing a moving bed reactor for nitrification, a moving bed reactor for denitrification and a settler. This work aimed the implementation of this process, applied to grow marine shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in a super-intensive mode, operated in water closed loop, with zero water renewal. The results after 36 days of cultivation, using a density of 350 shrimps/m<sup>3</sup>, it was obtained 92.86 % of survival, final weight of  $13.1 \pm 1.44$ g, and average growth rate of 1.23 g/ week. The designed system have shown to be viable to be implemented and a promising process to be applied in the carciniculture, bringing many advantages when compared to other system used until now, being highlighted: smaller sludge production; less energy consume; and better cultivation conditions.

**Key Words:** Nitrification; Denitrification; Bioreactors; Shrimp; recirculation system; Intensive shrimp ponds;



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Produção mundial de Camarões pela Aqüicultura e Pesca. ...	24
Figura 2: Fotografia da espécie de camarão <i>Litopenaeus Vannamei</i> . ...	25
Figura 3: Produção de Camarões cultivados em SC desde 1999 a 2007. .....	26
Figura 4: Ilustração de um sistema extensivo, Lagoa dos Patos (RS)..	28
Figura 5: Sistema de cultivo semi- intensivo de camarão marinho (BA). .....	29
Figura 6: Sistema intensivo de camarão.....	30
Figura 7: Diagrama de distribuição das espécies de amônia a 25 °C ....	36
Figura 8: Toxidez de amônia em camarões. ....	37
Figura 9: Comportamento do pH e CO <sub>2</sub> da água ao longo do dia em cultivo de algas (figura ilustrativa).....	39
Figura 10: Ciclo do Nitrogênio .....	46
Figura 11: Etapas da desnitrificação e enzimas envolvida. ....	46
Figura 12: Desenho esquemático do sistema do reator de nitrificação..	55
Figura 13: desenho esquemático do sistema do reator de desnitrificação .....	56
Figura 14: Desenho Esquemático do Sistema na Primeira Etapa do Cultivo: 1 (tanque); 2 (telas suporte); 3 (reator nitrificante); 4 (reator desnitrificante); 5 (decantador); 6 (aeração); 7 (entrada de acetato); 8 (bomba de recalque); 9 (retorno); 10 (mangueira porosa).....	58
Figura 15: pontos de coleta no sistema durante a primeira etapa de cultivo:1 (meio do tanque); 2 ( saída do tanque); 3 (saída do reator desnitrificante); 4 ( saída do decantador). ....	61
Figura 16: lâmpada ultra violeta 8 Watts de potência. ....	63
Figura 17: sistema segunda etapa: 1 (tanque); 2 (rede suporte); 3 (reator nitrificante); 4 (decantador); 5 (entrada de acetato); 6 (reator desnitrificante); 7 (ultra violeta); 8( aeração); 9 (retorno para o tanque); 10 (pedra porosa); 11 (recalque/ saída do tanque).....	63
Figura 18: Pontos de coleta do sistema na segunda etapa do cultivo:1 (tanque); 2 ( saída do reator nitrificante); 3 (saída decantador); 4 ( saída reator desnitrificante); 5 (retorno). ....	65
Figura 19: Fluxograma dos principais processos realizados no experimento.....	72
Figura 20: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato no reator de produção de inóculo nitrificante. ....	73
Figura 21: Acompanhamento das concentrações do nitrito e nitrato no reator de produção de inoculo desnitrificante.....	74

Figura 22: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato no tanque de cultivo mediante aos pulsos de amônia p1, p2, p3,p4 e p4 durante a inoculação.....	75
Figura 23: Acompanhamento das concentrações do nitrito e nitrato no reator desnitrificante de mediante aos pulsos de nitrato p1, p2, p3 durante a inoculação.....	76
Figura 24: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato ao longo da primeira etapa do cultivo: 1(meio do tanque); 2(saída do tanque); 3 (saída reator desnitrificante) ;4(saída do sedimentador/retorno).....	78
Figura 25: Cargas nitrogenadas aplicada, remanescente e removida no sistema na primeira etapa de cultivo. ....	82
Figura 26: Valores da concentração de oxigênio ao longo da primeira etapa de cultivo nos pontos de coleta. ....	84
Figura 27: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato ao longo da segunda etapa do cultivo: ponto 1 (tanque de cultivo; ponto 2 ( saída do tanque); ponto 3 (saída do decantador); ponto 4 (saída reator desnitrificante); ponto 5 ( saída do reator ultra violeta).....	88
Figura 28: Cargas nitrogenadas aplicada, remanescente e removida no sistema na segunda etapa de cultivo.....	90
Figura 29: Comportamento do sólidos no tanque de cultivo ao longo da segunda etapa do cultivo. ....	92
Figura 30: Foto do tanque de cultivo mostrando a transparência da água. ....	94
Figura 31: Foto ilustrativa durante a despesca do tanque de cultivo.....	98
Figura 32: gráfico da respirometria do tanque realizado no 35° dia de cultivo. ....	99

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tabela contendo os principais parâmetros de efluentes gerados pela aquicultura e doméstico. ....	33
Tabela 2: Nitrogênio, em diferentes estados oxidativos. ....	34
Tabela 3: Capacidade de desnitrificação de acordo com o substrato. ...	48
Tabela 4: Composição de nutrientes do meio nitrificante sintético. ....	53
Tabela 5: Composição de nutrientes do meio desnitrificante sintético. ....	54
Tabela 6: Meio para formulação da água do mar sintética. ....	54
Tabela 7: Solução de elementos traço para água do mar sintética. ....	54
Tabela 8: Quantidade dos nutrientes adicionado no tanque. ....	59
Tabela 9: Composição de nutrientes do meio. ....	59
desnitrificante sintético. ....	59
Tabela 10: Pulsos de substratos para adaptação dos microrganismos no sistema. ....	60
Tabela 11: Análises e frequência da primeira etapa de cultivo. ....	62
Tabela 12: Manejo da ração da segunda etapa. ....	64
Tabela 13: Análises e frequência da segunda etapa de cultivo. ....	66
Tabela 14: Média da concentração das formas de nitrogênio amônia (N-NH <sub>4</sub> ), nitrogênio de nitrito (N – NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) e nitrogênio de nitrato (N – NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) (média ± desvio padrão) nos pontos de coleta calculado ao longo dos 12 últimos dias da primeira etapa de cultivo. Pontos de coleta: 1 (meio do tanque); 2 (saída do tanque); 3 (saída reator desnitrificante); 4 (saída sedimentador/ retorno). ....	80
Tabela 15: Valores médios do acompanhamento das concentrações de oxigênio dissolvido, pH e temperatura (média ± desvio padrão) nos pontos de coleta do sistema calculado nos últimos 14 dias. (1) (meio do tanque); (2) (saída do tanque); (3) (saída reator desnitrificante); (4) (saída sedimentador/ retorno). ....	85
Tabela 16: Média de compostos nitrogenados, nitrogênio de amônia (N-Amônia), nitrogênio de nitrito (N-Nitrito) e nitrogênio de nitrato (N-Nitrato) (média ± desvio padrão) calculado a partir do 10º dia nos pontos de coleta do sistema de cultivo da segunda etapa: 1(meio do tanque); 2(saída do tanque); 3 (saída decantador); 4( saída desnitrificante); 5( saída u.v/ retorno). ....	89
Tabela 17: Valores médios do acompanhamento das concentrações de oxigênio dissolvido, pH e temperatura (média ± desvio padrão) nos pontos de coleta do sistema a partir do 11º dia de cultivo da segunda etapa: 1(meio do tanque); 2(saída do tanque); 3 (saída decantador); 4( saída desnitrificante); 5( saída u.v/ retorno). ....	91

Tabela 18: Contabilização de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) medidos na purga do decantador na segunda etapa do cultivo (média  $\pm$  desvio padrão) realizada no 18° dia e ao final do cultivo. .... 93

Tabela19: controle de bactérias totais (UFC/ml) no tanque durante a segunda etapa de cultivo realizados nos pontos de coleta do sistema utilizando agar marine como meio padrão de inoculação nos pontos, Pt 1(meio do tanque);Pt 2(saída do tanque); Pt 3 (saída decantador); Pt 4( saída desnitrificante); Pt 5( saída u.v/ retorno), com o reator u.v em funcionamento 24horas até o dia 10. Com o reator u.v desligado entre os dias 10 e 16. E com o reator u.v ligado novamente entre os dias 16 e 33..... 95

Tabela 20: controle de vibrio (UFC/ml) no tanque durante a segunda etapa de cultivo realizados nos pontos de coleta do sistema utilizando agar marine como meio padrão de inoculação nos pontos, Pt 1(meio do tanque);Pt 2(saída do tanque); Pt 3 (saída decantador); Pt 4( saída desnitrificante);Pt 5( saída u.v/ retorno), com o reator u.v em funcionamento 24horas até o dia 10. Com o reator u.v desligado entre os dias 10 e 16. E com o reator u.v ligado novamente entre os dias 16 e 33. .... 96

Tabela 21: Índices Zootécnicos da segunda etapa de cultivo. Coluna da esquerda mostrando os parâmetros avaliados seguido da unidade entre parênteses e a coluna da direita mostrando o valor (média  $\pm$  desvio padrão) de cada índice avaliado. .... 97

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C/N – Razão carbono nitrogênio

COT – Carbono orgânico total

DBO<sub>5</sub> – demanda biológica de oxigênio em 5 dias

DBO<sub>5</sub><sup>20</sup> – demanda biológica de oxigênio em 20 dias

DQO – Demanda química de oxigênio

N – NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – Nitrogênio amoniacal (mg N – NH<sub>4</sub><sup>+</sup> /L)

N – NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – Nitrogênio de nitrito (mg N – NO<sub>2</sub><sup>-</sup> /L)

N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – Nitrogênio de nitrato (mg N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup> /L)

NT – Nitrogênio total (mg N/L)

pH – Potencial hidrogeniônico

SST – Sólidos Suspensos totais

SSV – Sólidos Suspensos voláteis

TRH – Tempo de retenção hidráulica



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	21
1.1 OBJETIVO GERAL .....	22
<b>1.1.1 Objetivo específico</b> .....	22
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	24
2.1 AQUICULTURA .....	24
2.2 CARCINICULTURA .....	25
2.3 SISTEMAS DE PRODUÇÃO .....	27
<b>2.3.1 Extensivo</b> .....	27
<b>2.3.2 Semi-intensivo</b> .....	28
<b>2.3.3 Intensivo</b> .....	29
2.3.3.1 Cultivo de camarão marinho em Bioflocos .....	31
2.4 EFLUENTES AQUÍCOLAS .....	32
2.5 NITROGÊNIO .....	34
2.6 AMÔNIA EM AMBIENTES AQUÁTICOS .....	35
2.7 NITRITO EM AMBIENTES AQUÁTICOS .....	37
2.8 NITRATO E AMBIENTES AQUÁTICOS .....	38
2.9 EXCESSO DO NITROGÊNIO EM CORPOS D'ÁGUA .....	38
2.10 REMOÇÃO DE BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM CARCINICULTURA INTENSIVA .....	39
<b>2.10.1 Nitrificação</b> .....	41
<b>2.10.2 Desnitrificação</b> .....	45
<b>2.10.3 Reator biológico com biomassa imobilizada</b> .....	50
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	53
3.1 INÓCULO .....	53
<b>3.1.1 Meio de cultivo para seleção das bactérias</b> .....	53
<b>3.1.2 Operação dos reatores</b> .....	55
3.1.2.1 Acompanhamento do reator .....	56
3.2 SISTEMA DE PRODUÇÃO DE CAMARÃO MARINHO DA PRIMEIRA ETAPA DE CULTIVO .....	57
<b>3.2.1 Inoculação dos microorganismos no sistema de produção de camarão marinho</b> .....	58
<b>3.2.1.1 Adaptação dos microrganismos no sistema</b> .....	59
3.3 PRIMEIRA ETAPA DE CULTIVO .....	60
<b>3.3.1 Monitoramentos do cultivo</b> .....	61
3.4 SEGUNDA ETAPA DE CULTIVO .....	62
<b>3.4.1 Alterações do sistema de produção</b> .....	62
<b>3.4.2 Segunda etapa de produção</b> .....	64
<b>3.4.3 Manejo de alimentação para o camarão na segunda etapa</b> ....	64
<b>3.4.4 Monitoramento segunda etapa de cultivo</b> .....	65

3.5 RESPIROMETRIA DO TANQUE DE CULTIVO .....	66
3.6 METODOLOGIA ANALÍTICA .....	68
3.6.1 Amônia (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) e Nitrito (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) .....	68
3.6.2 Nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) .....	69
3.6.3 Sólidos Suspensos Totais (SST) e Voláteis (SSV) .....	69
3.6.4 Bactérias Totais e Vibrionáceos .....	69
3.6.6 Alcalinidade total .....	70
3.6.7 Cálculo do Tempo de Residência Hidráulica (TRH) .....	70
3.6.8 biometria e cálculo da ração .....	70
3.6.9 Eficiências de conversão e remoção do nitrogênio .....	71
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
4.1 REATOR DE CULTIVO DO INÓCULO DE MICRORGANISMOS NITRIFICANTES .....	73
4.2 REATOR DE CULTIVO DO INÓCULO DE MICRORGANISMOS DESNITRIFICANTES .....	74
4.3 INOCULAÇÃO DO SISTEMA .....	75
4.4 PRIMEIRA ETAPA DE CULTIVO .....	77
4.5 SEGUNDA ETAPA DO CULTIVO .....	86
4.5.1 Acompanhamento da produção de Sólidos do sistema .....	91
4.5.2 Controle de bactérias patogênicas aos camarões .....	94
4.5.3 Desempenho zootécnico .....	97
4.5.4 Avaliação da velocidade de consumo de oxigênio do tanque de cultivo .....	98
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>100</b>
<b>6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>101</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>112</b>
<b>ANEXO 2 .....</b>	<b>118</b>
<b>ANEXO 3 .....</b>	<b>123</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade que se encontra em franca expansão quando comparada com a pesca predatória, chegando em 2008 ao patamar de 50% da produção mundial de pescado. A maior parte da produção de crustáceos é oriunda da carcinicultura, destacando o cultivo de camarão marinho.

Nos sistemas de cultivo semi-intensivo tradicionalmente adotado, a manutenção da qualidade da água é realizada com o emprego de intensa renovação e utilização de grandes quantidades de áreas alagadas. Por ser rica em nutrientes, como a de lodos domésticos, se despejada no ambiente natural sem tratamento prévio causa alterações nos ecossistemas adjacentes e às áreas de cultivo, destrói manguezais, saliniza terras agrícolas e causa poluição orgânica de estuários. A biossegurança nesse tipo de sistema também é comprometida, pois a água utilizada para a renovação não passa por nenhum tratamento prévio de desinfecção o que facilita a entrada de patógenos, que normalmente causam sérios danos à produção.

Mediante a necessidade de crescimento da atividade da carcinicultura, surge o cultivo superintensivo de camarão marinho, o qual eleva a densidade de camarões dentro do tanque suprindo assim, as necessidades de crescimento da atividade.

Tradicionalmente o cultivo superintensivo tem como princípio de funcionamento o estímulo de bactérias heterotróficas, as quais se utilizam de carbono orgânico e compostos nitrogenados para crescer. Desse modo elas mantêm a qualidade da água e converte o nitrogênio amoniacal diretamente em biomassa bacteriana, esse crescimento excessivo promove um aumento na geração do lodo, aumenta o consumo de oxigênio pelo sistema, além de prejudicar a transferência de oxigênio para o meio, fazendo com que esse tipo de sistema tenha altos custos energéticos.

Outra forma de manter a qualidade de água dentro do tanque é através do processo de nitrificação seguido de desnitrificação. Esses processos de tratamento biológico de efluentes seria uma aplicação interessante no cultivo superintensivo de camarão marinho, pois assim a amônia proveniente do metabolismo do camarão seria oxidada a nitrato no processo de nitrificação. As bactérias nitrificantes são autotróficas e crescem menos que as heterotróficas, são mais eficientes na retirada de amônia, além de consumir menos oxigênio. Isso permitiria uma menor produção de sólidos no tanque, conseqüentemente uma melhor

transferência e menor consumo de oxigênio para o sistema, proporcionando uma melhor zona de conforto para o camarão crescer.

O nitrato é um composto mais estável na água sendo pouco tóxico para o camarão, no entanto ele serve de nutriente para microalgas e outros micro-organismos, que irão competir pelo oxigênio, podendo esses crescer demasiadamente e eutrofizar o tanque de cultivo levando o camarão a óbito.

Na desnitrificação bactérias heterotróficas utilizam nitrato para gerar energia e matéria orgânica como fonte doadora de elétrons. Nesse processo o nitrato é reduzido a gás  $N_2$ , que é liberado diretamente para a atmosfera. A desnitrificação aplicada nesse sistema contribuiria para o controle do nitrato no sistema além de diminuir a matéria orgânica.

Assim a aplicação do processo combinado de nitrificação/desnitrificação pode se tornar uma opção para o cultivo superintensivo de camarão marinho, possibilitando tratar e reutilizar a água em circuito fechado, com 0% de renovação. Desse modo é esperado criar um ambiente mais controlável, em relação aos componentes tóxicos (amônia, e nitrito), independente do mar, mais seguro contra doenças, gerar menos lodo e consumir menos oxigênio.

Por fim, esse estudo permite uma quebra de paradigma para carcinicultura, uma atividade que foi estabelecida nos moldes da Revolução Verde e que hoje sofre seus reflexos, busca um novo horizonte com a ajuda da biotecnologia possibilitando um salto tecnológico para a atividade e um ganho para o meio ambiente o que permitirá uma carcinicultura mais sustentável.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Promover o controle de qualidade da água do cultivo superintensivo de camarão marinho (*Litopenaus vannamei*) em escala piloto, através da remoção de nitrogênio, utilizando-se processo de nitrificação/desnitrificação.

### 1.1.1 Objetivo específico

1. Selecionar inóculo de bactérias nitrificantes e desnitrificantes do cultivo de camarão marinho.
2. Dar a partida e operar um sistema de cultivo de camarão em circuito fechado, promovendo a remoção biológica de nitrogênio

utilizando o efluente gerado pelo metabolismo do camarão como substrato para os microrganismos.

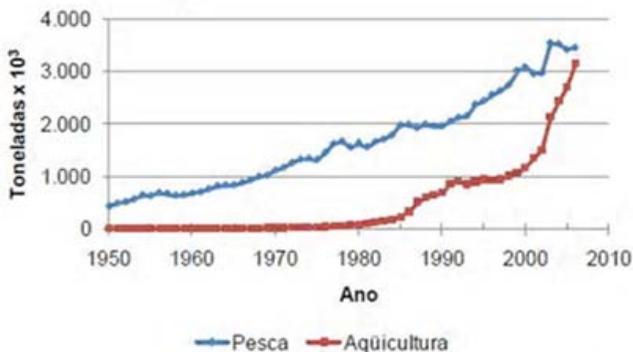
3. Avaliar a aplicabilidade do uso de luz ultra violeta como um possível sistema de controle de organismos patogênicos aos camarões.
4. Determinar a taxa de consumo de oxigênio dos camarões e dos microrganismos no tanque de cultivo.
5. Avaliar a eficácia na remoção de nitrogênio do sistema projetado.
6. Avaliação Zootécnica do camarão.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 AQUICULTURA

A aquicultura pode ser definida como a produção dos seres que têm na água o seu principal ou mais frequente ambiente de vida, como peixes, caranguejos e rãs. Esta atividade cresce significativamente em relação à pesca extrativista, atingindo no ano de 2008 o patamar de 50% da produção do pescado, de acordo com a Organização das Nações Unidas de Agricultura e Alimentação (FAO, 2013). A Figura 1 apresenta o crescimento da produção mundial de camarão desde 1950.

Figura 1: Produção mundial de Camarões pela Aqüicultura e Pesca.



Fonte: FAO, (2008)

A aquicultura é dividida em quatro grandes grupos, os peixes representando 49,49% da produção mundial; plantas aquáticas, 23,09%; moluscos, 19,16%, crustáceos, 7,33 % e outros organismos aquáticos com 0,94% (FAO, 2013). Com relação à receita, os produtos oriundos da aquicultura renderam aos produtores US\$ 105,8 bilhões em 2008. Apesar dos crustáceos ocuparem a quarta posição na produção mundial aquícola, seu rendimento em relação à receita é de 21,4%, somando um total de 22,64 bilhões de dólares na produção de crustáceos, segundo a FAO (2013).

## 2.2 CARCINICULTURA

A maior parte da produção de crustáceos é oriunda da carcinicultura, destacando o camarão marinho, sendo o *Litopenaeus vannamei* uma das principais espécies de cultivo no mundo. A Figura 2 apresenta uma fotografia desta espécie.

Figura 2: Fotografia da espécie de camarão *Litopenaeus Vannamei*.



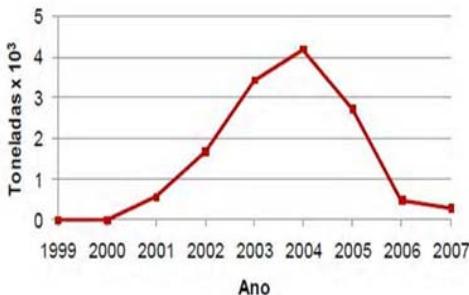
No Brasil a carcinicultura é uma atividade estabelecida, apresentando um rápido crescimento chegando ao seu auge em 2003, tendo como principal produtor a região nordeste com 95% do total (MPA, 2010), e uma pequena parcela na região sul.

Nos sistemas de cultivo semi-intensivo tradicionalmente adotado, a manutenção da qualidade da água é realizada com o emprego de intensa renovação de água e utilização de grandes quantidades de área alagada, ou seja, para produzir um quilo de camarão em viveiros de engorda, utiliza-se uma quantidade que varia de 39 a 199 toneladas de água. Normalmente esta água é rica em nutrientes, e despejada no ambiente natural sem tratamento prévio, causando grande impacto nos ecossistemas adjacentes às áreas de cultivo (HOPKINS *et al*, 1995; BAIRD, *et al*, 1993 *apud* ARANTES, 2007).

A biosseguridade nesse tipo de sistema também é comprometida, pois a água utilizada para a renovação não passa por nenhum tratamento prévio de desinfecção o que facilita a entrada de patógenos que normalmente causam sérios danos à produção (SCHUUR, 2003).

Em de 2004 no Brasil, a enfermidade causada pelo vírus da síndrome da mancha branca (WSSV), que ocasiona rapidamente a morte de quase 100% do camarão cultivado (YUAN et al., 2006), praticamente dizimou os cultivos no estado de Santa Catarina, acarretando em sérios problemas para a atividade de carcinicultura estabelecida no estado. Com a advento do WSSV houve uma queda brusca na produção, de 4190 t no ano de 2004 para 300 t em 2007, reduzindo a área de cultivo no estado de 1600 ha para 200 ha (SEIFFERT et al., 2006). Os efeitos foram catastróficos para o setor produtivo com uma redução na produção acima de 80%, com prejuízos acumulados superiores a R\$ 50 milhões (COSTA et al, 2007), com reflexos diretos na redução de postos de trabalho e na renda dos municípios produtores. Essa situação provocou uma grave crise financeira entre os produtores, que enfrentam sérios problemas para saldar compromissos com banco e fornecedores, lançando a atividade dentro de um abismo produtivo comprometendo a carcinicultura em Santa Catarina. A Figura 3 apresenta a variação da produção de camarões cultivados em Santa Catarina durante o período deste evento.

Figura 3: Produção de Camarões cultivados em SC desde 1999 a 2007.



Fonte: Silveira et al, (2008).

Neste contexto, surge então o sistema fechado de produção atrelado à Tecnologia de Bioflocos – BFT (DE SCHRYVER et al, 2008). Essa nova tecnologia permitiu avanços na aquicultura, quanto à

biossegurança, pois com um sistema fechado de produção é possível tratar a água antes de entrar no sistema. Esse tratamento prévio da água é fundamental, pois assim é possível eliminar organismos causadores de doenças e seus vetores, além disso amenizou o problema da intensa renovação de água.

## 2.3 SISTEMAS DE PRODUÇÃO

Quanto aos sistemas de produção na aquicultura um parâmetro clássico de classificação diz respeito à produtividade, nessa se encontram os sistemas extensivos, semi-intensivos e intensivos que serão detalhados para a produção de camarão marinho.

### 2.3.1 Extensivo

O cultivo extensivo dependente da produção natural do viveiro, que pode ser incrementada com a adição de nutrientes químicos ou orgânicos.

Este sistema normalmente exige uma pequena renovação de água diária de 2 a 5%, pois é importante que os nutrientes sejam retidos no tanque para garantir a produção primária. Devido às essas características o sistema extensivo tem uma baixa densidade de 0,5 a 4 camarões/m<sup>3</sup>. As fazendas que utilizam esses sistemas possuem grande extensão de 80 a 200 ha. Viveiros de 10 a 20 ha e atingem uma produção de 200 a 700 kg/ha/ano (POLI *et al*, 2004). A Figura 4 a seguir apresenta uma fotografia da lagoa dos patos no Rio Grande do Sul, utilizada para produção de camarões em sistema extensivo.

Figura 4: Ilustração de um sistema extensivo, Lagoa dos Patos (RS).



Fonte: Lucena, (2011)

### 2.3.2 Semi-intensivo

Permite uma maior densidade de estocagem de organismos cultivados quando comparado com o sistema extensivo de 6 a 20 camarões/m<sup>3</sup>, uma vez que, além do aproveitamento do alimento produzido naturalmente no viveiro há uma complementação através do fornecimento de alimento artificial 4,5 % em média do peso total de camarões. Neste caso, há necessidade de uma maior renovação diária de água, de 5 a 20 % do volume total, para garantir as condições de qualidade de água adequada ao bom desenvolvimento dos organismos de cultivo (POLI et al., 2004).

Os viveiros possuem área de 1 a 10 ha e a produtividade pode chegar a mais de 10t/ha/ano. Neste sistema, é observada uma relação direta entre a porcentagem de renovação, a capacidade de carga do viveiro e a dependência do alimento artificial. A maior circulação de água possibilita a estocagem de maior biomassa inerente ao cultivo, porém, dificulta o desenvolvimento planctônico e promove a drenagem dos nutrientes.

A adubação do viveiro é aconselhada somente quando a renovação da água é pequena o suficiente para possibilitar a utilização dos nutrientes pela comunidade planctônica aquática.

A qualidade do efluente gerado vai variar entre aquele produzido no sistema extensivo e intensivo, dependendo das características do cultivo. Apesar das variações observadas, o grande problema com a qualidade do efluente produzido está relacionado com a drenagem do viveiro para a despesca. A Figura 5 apresenta uma fotografia de um sistema de cultivo semi-intensivo de camarões instalado no Estado da Bahia.

Figura 5: Sistema de cultivo semi- intensivo de camarão marinho (BA).



Fonte: OAS, (2013).

### 2.3.3 Intensivo

O sistema intensivo de cultivo é caracterizado pela elevada densidade de estocagem, 20 a 100 camarões/m<sup>3</sup>, pela dependência total do alimento exógeno e aeração contínua (TACON; PHILLIPS e BARG, 1995), sendo inclusive desconsiderada a produção natural de alimento do tanque de cultivo, e por isso é chamado também de superintensivo.

Deve-se aumentar a quantidade de alimento de acordo com o consumo crescente, ou seja, regular a alimentação conforme o tamanho dos animais, a densidade de estocagem e a temperatura da água. O fator limitante deste sistema é, portanto, a qualidade da água do tanque. Desta forma, é utilizada uma grande porcentagem de renovação de água para a retirada dos metabólitos e resíduos alimentares presentes no meio (KINNE et al., 2001).

A elevada densidade de estocagem de organismos exige que uma grande quantidade de alimento artificial seja introduzida diariamente ao tanque, gerando uma quantidade proporcional de matéria orgânica formada por fezes e restos de alimento.

A grande porcentagem de renovação diária de água, 50 a 100% do volume do tanque, promove uma intensa movimentação da água e pequeno tempo de residência no tanque, inibindo o desenvolvimento planctônico. Grande parte da matéria orgânica produzida no sistema de cultivo se encontra na forma particulada e apresenta um pequeno tempo de sedimentação, sendo acumulada no fundo do mesmo.

Além da grande porcentagem de renovação diária de água é necessário o fornecimento de oxigênio complementar, que é feito através de aeradores de pá ou de por ar difuso, a agitação do meio de cultivo é fundamental para que a matéria orgânica não se acumule no fundo criando uma zona anóxica e produza gases tóxicos como  $S^{2-}$ .

A Figura 6 abaixo apresenta uma fotografia de um sistema de cultivo intensivo implantado nos Estados Unidos.

Figura 6: Sistema intensivo de camarão.



Fonte: Inland Marine Shrimp Farming in the USA.

### 2.3.3.1 Cultivo de camarão marinho em Bioflocos

O cultivo intensivo em bioflocos baseia-se na manutenção dos parâmetros de qualidade de água através de uma pequena renovação de água 10 – 15%. Os parâmetros de qualidade de água são mantidos através do estímulo de bactérias heterotróficas, as quais utilizam o carbono orgânico e compostos nitrogenados em seus processos metabólicos, mantendo a qualidade da água no tanque e convertendo o nitrogênio amoniacal diretamente em biomassa bacteriana (EBELING;TIMMONS e BISOGNI, 2006).

Esse tipo de cultivo permitiu reduzir a área devido ao aumento da densidade de camarões entre 130 a 150 camarões/m<sup>3</sup>. No entanto esse aumento de biomassa contribui para o aumento da amônia no tanque, devido aos excretos nitrogenados dos camarões, pela degradação da sobra de ração e dos restos celulares de micro-organismos mortos (HARGREAVES, 1998)

A maneira de manter o controle da amônia gerada nesse tipo de sistema é promover o crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias, elevando substancialmente a relação entre carbono e nitrogênio (C:N). No entanto, isso promove um aumento da matéria orgânica particulada dentro do tanque, tornando o meio com elevada turbidez, aumenta a concentração de matéria orgânica solúvel no meio, aumenta consideravelmente o consumo de oxigênio, ocultam as brânquias do camarão e promove o aparecimento de micro-organismos nocivos que prejudicam o seu crescimento (RAY et al., 2010).

De acordo com Ebeling; Timmons; Bisogni (2006), do total de proteína da ração, 16 % é nitrogênio, desses 90% é absorvido pelo camarão, que por sua vez 10% é incorporado, e 90% são eliminados nas excretas. Do nitrogênio eliminado 90 % são excretados como nitrogênio amoniacal e 10% como uréia. Sabendo-se que a uréia, quando em contato com a água, é rapidamente hidrolisada, gerando amônia e dióxido de carbono, podemos calcular a taxa de produção de amônia no tanque resultando na Equação 1:

$$P_{TAN} = R \times \%p \times 0,16 \times 0,9 \times 0,9 + R \times \%p \times 0,16 \times 0,9 \times 0,1$$

$$P_{TAN} = R \times \%p \times 0,16 \times (0,9 \times 0,9 \times 0,9 + 0,9 \times 0,1)$$

$$\therefore P_{TAN} = R \times \%p \times 0,144 \quad \dots(1)$$

$$P_{TAN} = \text{Taxa de produção de nitrogênio de amoniacal ( kg/dia)}$$

R = Taxa de alimentação (kg/dia)

%p = Porcentagem de proteína da ração

O aporte excessivo de matéria orgânica pode comprometer a transferência de oxigênio para o sistema, fazendo com que oxigênio e amônia sejam fatores limitantes do sistema de cultivo em bioflocos (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006)

## 2.4 EFLUENTES AQUÍCOLAS

O impacto dos efluentes da aquicultura sobre os corpos de água receptores depende da diferença da concentração dos parâmetros de qualidade entre a água dos tanques e a do corpo receptor, além da proporção entre a água originária do tanque e do corpo receptor (BOYD, 1998). Dessa forma, o potencial poluente de um determinado sistema de cultivo pode ser variável de acordo com o local de instalação. As características do lodo gerado pela aquicultura em sistemas superintensivos são bastante semelhantes àquelas do lodo doméstico, isto é, apresentam alta demanda bioquímica de oxigênio e grande concentração de sólidos em suspensão, além de compostos nitrogenados e fosfatados (WOLFF, OCHOA et al. 2005). Esta similaridade permite uma analogia dos impactos provocados pelos cultivos, contribuindo para a eutrofização dos rios, riachos e lagos, conforme apresentado por Chen *et al.*, (1998). A Tabela 1 apresenta uma comparação entre lodo doméstico e lodo de aquicultura.

Tabela 1: Tabela contendo os principais parâmetros de efluentes gerados pela aquicultura e doméstico.

Parâmetro	Efluente aquicultura		Efluente doméstico	
	Faixa	Média	Faixa	Típico
<b>Sólidos Totais (ST) (%)</b>	1,4 – 2,6	1,8	2 – 8	5
<b>SSV (% de ST)</b>	74,6 – 86,6	82,2	50 – 80	65
<b>DBO<sub>5</sub> (mg/L)</b>	1590 – 3870	2760	2000 – 3000	6000
<b>Nitrogênio Amoniacal (mg/L)</b>	6,28 – 25,6	18,3	100 – 800	400
<b>Fósforo Total (% ST)</b>	0,6 – 2,6	1,3	0,4 – 1,2	0,7
<b>pH</b>	6 – 7,2	6,7	5 – 8	6
<b>Alcalinidade</b>	284 – 415	334	500 – 1500	600
<b>DBO<sub>5</sub><sup>20</sup></b>	3250 – 7670	5510	–	–

Fonte: adaptado Chen *et al.*, (1998).

## 2.5 NITROGÊNIO

O nitrogênio é um elemento importante a todos os seres vivos, está presente na composição de proteínas e aminoácidos; e também é encontrado na clorofila, no DNA, em enzimas e até algumas vitaminas. O nitrogênio é essencial para diversas funções fisiológicas como as funções de fotossíntese, respiração, síntese de proteínas, formação de genes e no crescimento.

A maior parte do nitrogênio se encontra no ar atmosférico, cerca de 78% na forma gasosa ( $N_2$ ). Nesse estado, a maioria dos micro-organismos não são capaz de incorporar esse elemento. No entanto, alguns grupos específicos de micro-organismos conseguem fixar biologicamente o nitrogênio direto do ar atmosférico convertendo-o em sais de amônio. Esses micro-organismos geralmente estão presentes nas raízes de leguminosas e são dos gêneros *Azotobacter*, *Clostridium* e *Rhizobium*. Além desses, algumas cianobactérias também possuem essa capacidade de fixar o nitrogênio (PELCZAR *et al*, 1981).

O nitrogênio pode ser encontrado em diversas formas, diferindo no número de oxidação segundo a Tabela 2 abaixo:

Tabela 2: Nitrogênio, em diferentes estados oxidativos.

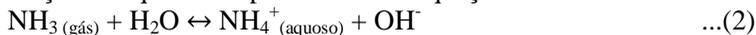
Compostos	Estado de oxidação
<b>Nitrogênio orgânico (R-NH<sub>2</sub>)</b>	- 3
<b>Amônia (NH<sub>3</sub>)</b>	- 3
<b>Nitrogênio Gasoso (N<sub>2</sub>)</b>	0
<b>Óxido Nitroso (N<sub>2</sub>O)</b>	+ 1
<b>Óxido Nítrico (NO)</b>	+ 2
<b>Dióxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>)</b>	+ 4
<b>Íon Nitrito ( NO<sub>2</sub><sup>-</sup> )</b>	+ 3
<b>Íon Nitrato ( NO<sub>3</sub><sup>-</sup> )</b>	+ 5

Fonte: Madigan *et al.*, (2010).

Destes, além do nitrogênio gasoso, os que se encontram em maior abundância na natureza são a amônia e o íon nitrato.

## 2.6 AMÔNIA EM AMBIENTES AQUÁTICOS

A amônia é um gás altamente solúvel em água e apresenta a reação de equilíbrio apresentada na Equação 2.



Este equilíbrio depende do pH, temperatura e salinidade. A amônia não ionizada  $\text{NH}_3$  é a forma mais tóxica para os organismos aquáticos. É de natureza lipofílica e difunde-se facilmente através das membranas respiratórias da maioria dos organismos que compõem o nécton. A amônia não ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ), ou íon amônio, é de natureza lipofóbica sendo repelida pelas membranas, a qual é de natureza lipoproteica (KORMANICK e CAMERON, 1981).

A amônia livre ( $\text{NH}_3(\text{gás})$ ) é passível de volatilização enquanto que a amônia não ionizada ( $\text{NH}_4^+(\text{aquoso})$ ) não pode ser removida da mesma maneira, sendo esse processo relacionado principalmente com o pH. Com a elevação do pH o equilíbrio é deslocado na formação de  $\text{NH}_3$  e em pH neutro praticamente toda amônia se encontra na forma não ionizada.

Segundo Wiesmann, (1994) o equilíbrio entre estas formas pode ser expresso pela reação abaixo através das Equações 3 e 4.



$$[\text{N-NH}_3] = ([\text{N-NH}_4^+].10^{pH}) / K_a \quad \dots(4)$$

Onde :

$[\text{N-NH}_3]$  = Concentração de amônia no meio;

$[\text{N-NH}_4^+]$  = Concentração de amônio no meio;

$pH$  = pH do meio contendo estas formas;

$K_a$  = Constante de equilíbrio.

A constante de equilíbrio pode ser representada pela Equação 5 abaixo.

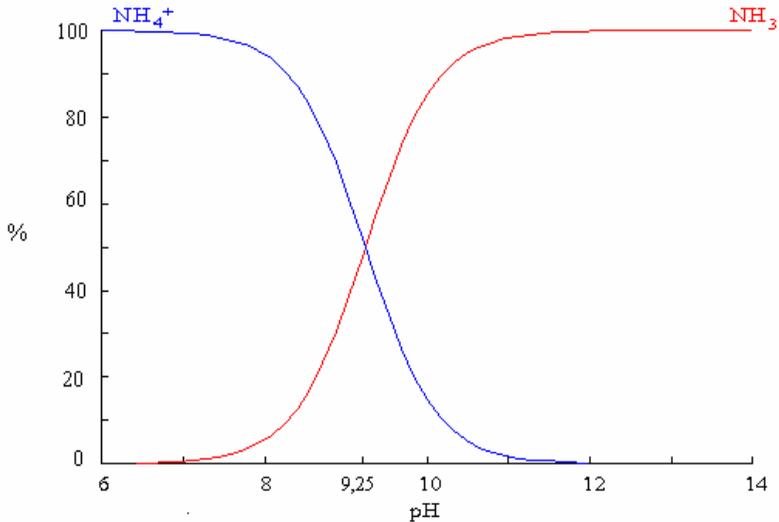
$$K_a = e^{\frac{6344}{273+T}} \quad \dots(5)$$

Onde:

$T$  = Temperatura do meio (°C).

Mediante a equação 4 é possível construir um gráfico da fração da amônia *versus* pH da solução, representado na Figura 7 abaixo.

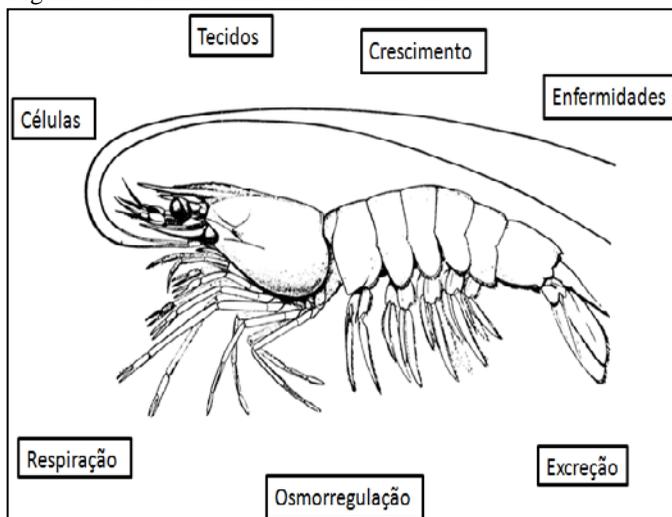
Figura 7: Diagrama de distribuição das espécies de amônia a 25 °C



A amônia é o principal produto de excreção dos organismos aquáticos, resultante do catabolismo das proteínas (CAMPBELL, 1973). Uréia, aminoácidos, derivados de aminas, creatina, creatinina e ácido úrico completam os compostos nitrogenados da excreção. Entretanto, o único que é excretado em quantidades significativas é a uréia, porém não é tóxica, e quando entra em contato com a água é hidrolisada rapidamente para produzir amônia e dióxido de carbono (COLT e TCHOBANOGLOUS, 1976).

No que diz respeito à toxidez da amônia em organismos aquáticos Colt e Armstrog (1981), identificaram sete tipos de efeito tóxico como mostrado na Figura 8 abaixo.

Figura 8: Toxicidez de amônia em camarões.



Fonte: Adaptado de Colt e Armstrong (1981).

Desses sete efeitos tóxicos apresentados, os mais fáceis de identificar dentro de um cultivo de camarão é na respiração e no crescimento. Na respiração ocorre uma fusão e necrose das brânquias. No crescimento, observa-se sobra demasiada de ração na bandeja, o animal para de ganhar massa e fica menos ativo. A toxicidade aguda ( $LC_{50}$ ) para camarão marinho varia de acordo com a espécie, com a sua fase de vida e com as condições da água como visto acima. Segundo Lin e Chen (2001), o  $LC_{50}$  para juvenis de *Litopenaeus Vannamei*, foi de 1,2 mg/L  $N-NH_3$  à salinidade de 15000 ppm num período de 96 horas.

## 2.7 NITRITO EM AMBIENTES AQUÁTICOS

O nitrito ( $NO_2^-$ ) é a forma ionizada do ácido nitroso e em ambientes aquático e apresenta o equilíbrio descrito pela Equação 6 abaixo.



O nitrito é um composto intermediário do processo de nitrificação, que será mais bem detalhado adiante, realizado numa primeira etapa por bactérias que oxidam amônia a nitrito e numa segunda etapa por bactérias que oxidam nitrito a nitrato ( $NO_3^-$ ).

O nitrito em altas concentrações provoca a oxidação do átomo de ferro da molécula de hemoglobina, que passa do estado ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) para o estado férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), com a conseqüente formação de meta-hemoglobina, incapaz de transportar oxigênio para os tecidos, estabelecendo um quadro de hipoxia e cianose. Acredita-se que o mesmo fenômeno possa ocorrer com o átomo de cobre da molécula de hemocianina dos crustáceos (COLT e ARMSTROG 1981). De acordo com Lin & Chen (2003) valores seguros para o cultivo de camarão marinho são de 6,1, 15,2 e 25,7 mg  $\text{N-NO}_2^-$  para as salinidades de 15; 25 e 35000 ppm, respectivamente. Valores acima dessa faixa pode levar a óbito de juvenis de camarões da espécie *Litopenaeus vanammei* em uma salinidade de 35000 ppm.

## 2.8 NITRATO E AMBIENTES AQUÁTICOS

O nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é o produto final do processo de nitrificação. Quando a toxicidade do nitrato em animais aquáticos parece não ser preocupante, em sistemas de recirculação esse composto pode se tornar potencialmente tóxico devido ao acúmulo gerado no processo de nitrificação.

O nitrato possui a capacidade de oxidar a hemoglobina, assim como o nitrito. Segundo Colt e Armstrog (1981) o  $\text{LC}_{50}$  para a maioria dos animais aquáticos varia entre 1000 e 3000 mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$ .

## 2.9 EXCESSO DO NITROGÊNIO EM CORPOS D'ÁGUA

Além de luz, água, hidrogênio e carbono, as plantas aquáticas necessitam de nutrientes para crescer. Os macro nutrientes incluem elementos como C, H, O, N, P, Mg, S, K, Si e Ca, incluindo nitratos e fosfatos. Os micronutrientes consistem de vários traços de metais (B, Fe, Cu, Co, Mn, Zn, Mo) e vitaminas ( $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_{12}$  e A) (MORALES, 1991)

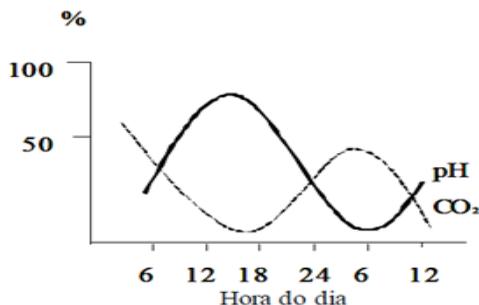
Partindo do princípio de que o nitrogênio é um nutriente importante para as plantas aquáticas, sua exposição em excesso nos corpos d'água, seja de forma natural ou pela ação antropogênica, como é o caso do lançamento de efluentes, quase sempre causa o fenômeno conhecido da eutrofização. Segundo Von Sperling (1996 p. 30), “a eutrofização é o crescimento das plantas aquáticas, tanto planctônicas quanto aderidas, a níveis tais que sejam considerados como causadores de interferência com os usos desejáveis dos corpos d'água”. Esse crescimento aumenta a turbidez da água, impede a passagem da luz, consome o oxigênio, causando mortalidade da maioria dos organismos

aquáticos. Ao fim do seu ciclo de vida as algas se depositam no fundo da camada trofólitica e são degradadas por bactérias aeróbias, que consomem o oxigênio restante na água. Quando finda o oxigênio a degradação continua pela ação de bactérias anaeróbias, as quais produzem gases que ressuspende a matéria orgânica não degradada. Nutrientes também são liberados dando continuidade ao fenômeno da eutrofização.

## 2.10 REMOÇÃO DE BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM CARCINICULTURA INTENSIVA

Muitos sistemas de cultivo tem como base da cadeia trófica a microalga, além disso, em cultivos aquícolas as microalgas aparecem naturalmente devido a contaminações de manejo. Apesar de assimilarem amônia e nitrato, podendo então ser empregadas para controle do nitrogênio, as algas causam uma variação de pH do meio ao longo do dia devido consumo de  $\text{CO}_2$  para realização da fotossíntese, e pela respiração estrita durante a noite. A Figura 9 apresenta uma variação típica de pH e  $\text{CO}_2$  dentro do tanque ao longo de um dia.

Figura 9: Comportamento do pH e  $\text{CO}_2$  da água ao longo do dia em cultivo de algas (figura ilustrativa).



Fonte: Sipaúba-Tavares, (1995).

Diante desse fenômeno faz-se necessário o acompanhamento preciso das variáveis físico-químicas do tanque de cultivo, caso contrário a amônia tóxica pode chegar a níveis letais.

A remoção de nitrogênio através de macrófitas aquáticas e microalgas é uma prática cada vez mais frequente no tratamento de efluentes. Plantas como *Lemna*, e microalgas como *Chlorella ssp*, se mostram eficiente e são capazes de diminuir a DBO (demanda bioquímica de oxigênio), amônia e fostato quando usada em conjunto no tratamento de efluentes industriais (VALDERRAMA, 2002) e efluentes de aquicultura. Um trabalho realizado no estado de Santa Catarina tratou o efluente composto pela água residual do cultivo de tilápias com *Lemna valdiviana*, revelando que após 13 dias de tratamento as porcentagens de remoção foram de 100% para amônia total e nitrito, 66,8% para nitrato, 96,3% para fósforo total, 90,8% para DQO, 99,4% para sólidos suspensos totais e 98,7% para a turbidez (MOHEDANO, 2004). A biomassa produzida por essas macrófitas possui um alto valor proteico, que varia entre 30 e 49% da matéria seca, (ORON; WILDSCUT e PORATH, 1984) e baixa quantidade de fibras (HAMMOUDA; GABER e ADBEL-HAMMED, 1995), podendo então ser utilizada como rica fonte de alimento para peixes e outros animais.

No entanto, a associação de cultivo de microalgas como alternativa para o controle de nitrogênio em carcinicultura é complexo e temeroso, pelos motivos já apresentados acima.

Os processos de nitrificação e desnitrificação são algumas das práticas mais empregadas na retirada do nitrogênio de águas residuárias. A nitrificação é realizada por bactérias aeróbias que oxidam amônia a nitrato, tendo o nitrito como composto intermediário. A desnitrificação é realizada em condições de ausência ou em baixas concentrações de oxigênio. Nesse processo bactérias heterotróficas reduzem o nitrato de forma dissimilatória a nitrogênio gasoso (SCHMIDELL; SPILLER, 2005).

Na carcinicultura o emprego da nitrificação é prática comum para a remoção de nitrogênio amoniacal do meio (forma mais tóxica do nitrogênio). Isto porque é possível realizar a nitrificação no mesmo tanque de cultivo dos camarões sem prejuízos ao desenvolvimento e à saúde dos mesmos. O meio é aerado e possui os nutrientes necessários para o desenvolvimento destas bactérias, uma vez que estas são autotróficas e crescem de forma moderada, não comprometendo a turbidez do meio e competindo pouco com os camarões em desenvolvimento. No entanto, mesmo o nitrato atingido concentrações não elevadas suficientemente para promover toxidez aos camarões, sua presença não é desejável, pois esta também é fonte de nitrogênio para o desenvolvimento de algas.

Para remover o nitrato da água pode ser empregado o sequestro do mesmo através do crescimento de microrganismos heterotróficos aeróbios que consumiriam este composto para seu crescimento celular. Para tal, há necessidade de adicionar matéria orgânica facilmente biodegradável no tanque para servir de fonte de carbono para o crescimento celular, em quantidades estequiométricas para tal fim. A sua utilização para remover nitrogênio no tanque de cultivo dos camarões é um processo denominado bioflocos (descrito no item 2.3.3.1), trazendo alguns problemas de ordem operacional, tais como:

Necessidade de adição de carbono dentro do tanque de cultivo, aumento excessivo de lodo no tanque, aumento da turbidez da água, necessidade de fazer a remoção de lodo frequentemente, necessidade de controlar a quantidade de flocos através do uso de sedimentadores, gasto de energia pra manter o meio líquido em suspensão, maior gasto de energia na incorporação de oxigênio, impossibilidade do controle de organismos patogênicos seja por uso de antibióticos ou por processo de oxidação avançada.

Outra forma de se remover o nitrato do sistema é pelo processo de desnitrificação, que envolve bactérias heterotróficas anaeróbias facultativas que possuem alto fator de conversão de substrato em células, transformando o nitrato em nitrogênio gasoso. Como o processo é anóxico a desnitrificação deve ser realizada em um reator específico e fora do tanque de cultivo dos camarões, permitindo a sua otimização e melhorando o controle da adição de matéria orgânica externa ao meio. Esta alternativa ainda não foi testada no cultivo superintensivo de camarões marinhos e não se encontra na literatura referências para mesmo. As características dos processos de nitrificação e desnitrificação encontram-se a seguir, estabelecendo os princípios das condições operacionais de um sistema.

### **2.10.1 Nitrificação**

É comum observar a nitrificação como sendo a etapa limitante da remoção de nitrogênio em sistemas biológicos, sua complexidade e sensibilidade faz dessa etapa um grande desafio no tratamento de efluentes, por isso é a etapa mais estudada (SCHMIDELL e REGINATO 2005).

Como foi visto anteriormente a nitrificação é realizada por bactérias que oxidam amônia a nitrato, tendo o nitrito como composto intermediário, sendo esse processo realizado em duas etapas distintas.

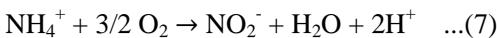
Essas bactérias são conhecidas desde o século XIX, são aeróbicas, Gram negativas e podem ser quimiolitotrófica ou quimiolitotróficas facultativas. Possuem formatos variados, bastonetes, bastonetes curvados, esferas, espiral e formas lobulares, abrangendo uma faixa de tamanho de aproximadamente 0,3 até 11,7 micrômetros. São encontradas em vários habitat, na água doce, marinha, água salobra, óleo e água de resíduo. São sensíveis a luz ultravioleta, entretanto são encontradas em ambientes de luz natural segundo APHA; AWWA; WEF, (2005).

Na primeira etapa conhecida como nitrificação, bactérias do gênero *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosocystis* e *Nitrosogloea*, oxidam amônia sendo essas referidas como (BOA). Na segunda etapa conhecida como nitratação bactérias do gênero *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrocystis*, *Bacteroderma* e *Midroderma*, oxidam nitrito sendo essas referidas como (BON).

Embora a nitrificação seja realizada por bactérias autotróficas, há registros de que este processo ocorra também por ação de bactérias heterotróficas, como *Arlhrobacer* e *Thiosfera pantotropho*, que utilizam o carbono orgânico e oxidam a amônia a nitrato (BITTON, 1994 e JETTEN et al, 1999).

Madigan, Martinko e Parker(1997), apresentam as reações das Equações 7 a 9 a seguir para o processo de nitrificação.

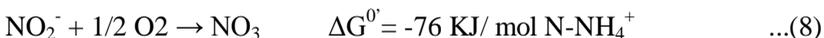
Geração de nitritos principalmente por bactérias *Nitrosomonas*



$$\Delta G^0 = - 287 \text{ KJ/ mol N-NH}_4^{++\dots} \quad \dots(7)$$

(Reação com hidroxilamina,  $\text{NH}_2\text{OH}$ , como composto intermediário).

Oxidação dos nitritos a nitratos por ação principal do *Nitrobacter*

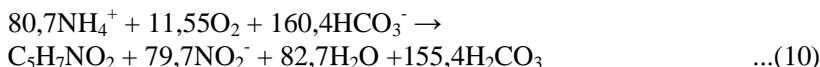


Reação global da oxidação do amônio a nitrato:

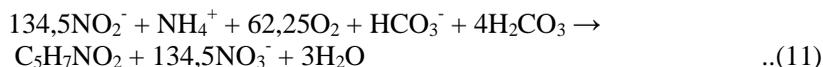


Segundo Henze *et al* (1997) nas etapas de nitrificação, as seguintes reações apresentadas nas Equações 10 a 12 estão vinculadas ao crescimento celular:

Reação referente ao crescimento celular durante a Nitrificação.



Reação referente ao crescimento celular pela Nitratação.



Equação Global:



Segundo proposta de Schmidell e Reginatto (2005), a estequiometria da reação de nitrificação é válida para que sejam determinados parâmetros importantes que auxiliam no andamento do processo. Algumas considerações são relatadas abaixo:

**Rendimento celular:** Pode-se calcular o coeficiente de rendimento celular das *Nitrosomonas* partindo da relação estequiométrica entre o nitrogênio, utilizado como substrato, e o material celular ( $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ , PM=113g/gmol) mostrado na Equação 13 de rendimento celular da nitrificação.

Neste caso, considera-se o nitrogênio sob a forma amônio.

$$Y_{\text{Nitrosomonas}} = \frac{1 \text{ mol} \cdot 113 \text{ gSSV/mol}}{(80,7 \text{ mol} \cdot 14 \text{ g N-NH}_4^+/\text{mol})} = 0,10 \text{ gSSV/gN-NH}_4^+ \quad \dots(13)$$

Através da Equação acima é possível determinar o coeficiente de conversão do substrato para o conjunto de biomassa através da Equação 14.

$$Y_{Biomassa\ total} = \frac{0,02\text{mol} \cdot 113\text{gSSV/mol}}{(1\text{mol} \cdot 14\text{g N-NH}_4^+/\text{mol})} = 0,16\text{ gSSV/gN-NH}_4^+ \quad \dots(14)$$

Desta forma, o coeficiente de produção de biomassa envolvendo as bactérias *Nitrobacter* pode ser considerado como a diferença entre os dois coeficientes anteriores, conforme apresentado na Equação 15:

$$Y_{Nitrobacter} = (0,16 - 0,10)\text{gSSV} / \text{gN NH}_4^+ = 0,06\text{ gSSV/gN-NH}_4^+ \quad \dots(15)$$

**Consumo de oxigênio:** Pode-se calcular a demanda de oxigênio do sistema baseado na reação global oxidação de amônio para nitrato proposta na Equação 9, ou ainda pela reação global segundo a Equação 12. As Equações 16 e 17 apresentam estes cálculos.

$$\frac{2\text{ mol} \cdot 32\text{gO}_2/\text{mol}}{(1\text{ mol} \cdot 14\text{g N-NH}_4^+/\text{mol})} = 4,57\text{ gO}_2/\text{gN-NH}_4^+ \quad \dots(16)$$

$$\frac{1,86\text{ mol} \cdot 32\text{gO}_2/\text{mol}}{(1\text{ mol} \cdot 14\text{g N-NH}_4^+/\text{mol})} = 4,25\text{ gO}_2/\text{gN-NH}_4^+ \quad \dots(17)$$

Estes valores diferem pelo fato de que o carbono inorgânico, utilizado pelos microrganismos para o crescimento, também atua como oxidante e desta forma, reduz o consumo de oxigênio.

Para o caso da oxidação do amônio ir somente até nitrito, têm-se a Equação 18 que apresenta o valor indicado por Henze *et al* (1997).

$$\frac{114,55\text{ molO}_2 \cdot 32\text{gO}_2/\text{mol}}{(80,7\text{ mol} \cdot 14\text{g N-NH}_4^+/\text{mol})} = 3,24\text{ gO}_2/\text{gN-NH}_4^+ \quad \dots(18)$$

Este valor de oxigênio representa cerca de 25% de economia de oxigênio na passagem de amônio apenas até nitrito. Essa prática justifica a tendência dos outros processos serem realizados utilizando apenas a primeira etapa da nitrificação, tais como os processos SHARON OLAND e ANAMMOX, que não serão abordados neste trabalho.

A reação de nitrificação encontra suas condições ótimas num pH em torno de 7,5 (HENZE *et al.*, 1997). No entanto alguns autores afirmam ainda que o pH ótimo para este processo gira em torno de 7,2 a 8,5 (BARNES; BLISS, 1983). Segundo EPA (1975), valores de pH abaixo de 7,0 e acima de 9,8 reduzem a velocidade de nitrificação em cerca de 50%. Os microrganismos nitrificantes são suscetíveis a uma série de inibidores orgânicos e inorgânicos (FERREIRA, 2000) e, como podemos perceber, o pH é o principal regulador desse processo. O ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) é o principal inibidor da nitrificação, bastando uma concentração na faixa 0,22 a 2,8 mg N- $\text{HNO}_2$ /L para ocorrer a inibição, o que foi observado no trabalho de Zdradek (2005) para valores de pH abaixo de 7.

Para cada grama de N- $\text{NH}_4^+$  oxidado é consumido 7,1g de alcalinidade, expressa em  $\text{CaCO}_3$ , (EPA, 1975). Schmidell e Reginatto (2005) indicam que quando a alcalinidade cai abaixo de 40 mg $\text{CaCO}_3$ /L há sérios problemas de redução drástica de pH, interferindo no processo.

A faixa de temperatura em que a nitrificação pode ocorrer está situada entre 5 e 50°C, sendo que a temperatura ótima apresenta valores entre 28 a 36°C (HENZE *et al.*, 1997).

O valor crítico de oxigênio dissolvido, abaixo do qual a nitrificação é reduzida significativamente, é encontrado em uma faixa ampla na literatura. Von Sperling (1996) recomenda que a concentração de oxigênio dissolvido não seja reduzida a valores menores de 0,5 mg/L. Barnes e Bliss (1993) apresentam que o valor crítico de oxigênio em torno de 0,2 mg/L. Em contrapartida, encontra-se descrito pela EPA (1975) que o valor mínimo de oxigênio dissolvido se acha em torno de 2,0 mg/L para que sejam evitados problemas com os picos de amônia no efluente.

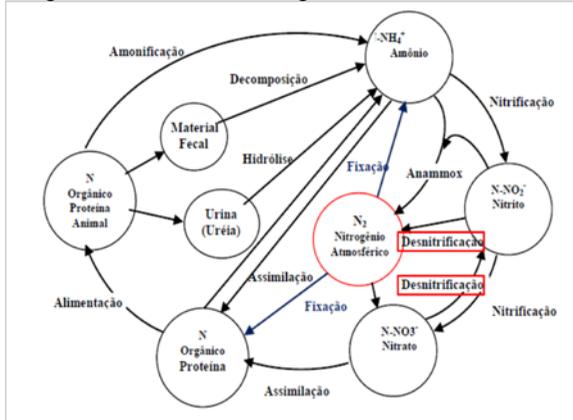
Sob estas condições, a velocidade específica de crescimento ( $\mu_{\text{max}}$ ) para o *Nitrosomonas* está entre 0,6 e 0,8  $\text{d}^{-1}$ , enquanto para o *Nitrobacter* pode-se esperar velocidades em torno de 0,6 e 1,0  $\text{d}^{-1}$ , o que indica baixas velocidades específicas de crescimento (HENZE *et al.*, 1997). Com relação à velocidade específica de decaimento celular ( $k_d$ ), Wiesmann (1994) sugere um valor de 0,048  $\text{d}^{-1}$ , sendo frequente desprezar o valor de decaimento celular para o cultivo de nitrificantes.

## 2.10.2 Desnitrificação

O nitrato gerado na nitrificação pode ser utilizado pelos microrganismos e causar sérios problemas. Desse modo a desnitrificação é o processo que devolve o nitrogênio para a atmosfera

na sua forma mais estável, como gás  $N_2$ , para que novamente esse elemento retorne ao seu ciclo como é mostrado na Figura 10 abaixo:

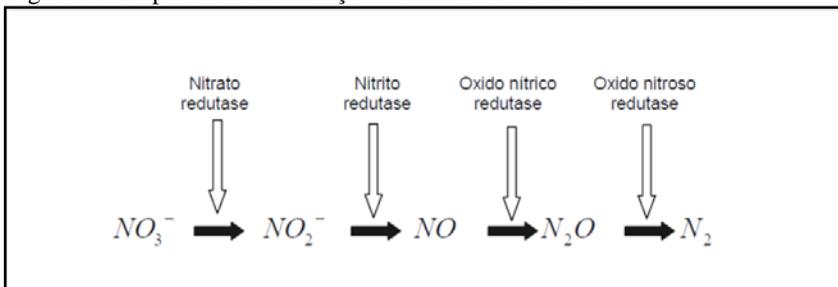
Figura 10: Ciclo do Nitrogênio



Fonte: Adaptado de Ferreti 2009.

Nesse processo o óxido nítrico (NO) e o óxido nitroso ( $N_2O$ ) aparecem como intermediários na reação, sendo a produção desses compostos facilitada por enzimas distintas.

Figura 11: Etapas da desnitrificação e enzimas envolvida.



Fonte: LEITE, (2002).

Segundo Tiedje (1988) *apud* Abreu (1994) os microrganismos mais frequentemente encontrados na natureza são dos gêneros *Pseudomonas* e *Alcaligenes*. Entretanto muitos outros são descritos na literatura como sendo microrganismos que realizam reações de desnitrificação, como, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*,

*Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum*, e *Vibrio* entre outros gêneros dessas bactérias (METCALF e EDDY, 2003).

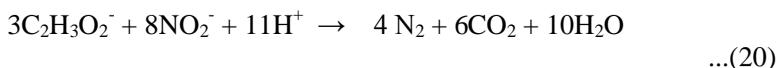
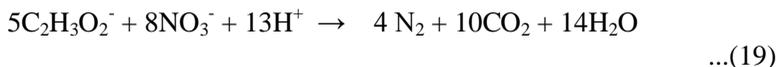
Muitos micro-organismos são capazes de realizar a desnitrificação, no entanto o processo evolutivo selecionou grupos de bactérias desnitrificantes em função do substrato utilizado, sendo assim algumas dessas bactérias não expressam todas as enzimas da reação, como visto na figura acima. Drysdale; Kusan e Bux (2001) classificaram as bactérias heterotróficas desnitrificantes em cinco grandes grupos funcionais, de acordo com a capacidade de redução de nitrato ou nitrito sob condições anóxicas, como demonstrado na Tabela 5, apesar dessa distinção é visto com frequência o consórcio de bactérias que realizam a desnitrificação completa.

Tabela 3: Capacidade de desnitrificação de acordo com o substrato.

<b>Grupo Funcional</b>	<b>Capacidade de Desnitrificação</b>	<b>%</b>
Desnitrificantes verdadeiras	Redução de $\text{NO}_2^-$ e $\text{NO}_3^-$	8,6
Redutoras de nitrito incompletas	Redução de $\text{NO}_2^-$ e $\text{NO}_3^-$ Com inibição da redução do $\text{NO}_2^-$ por $\text{NO}_3^-$	20,5
Desnitrificantes incompletas	Redução do $\text{NO}_3^-$ e não do $\text{NO}_2^-$	31
Redutoras de nitrito exclusivas	Redução de $\text{NO}_2^-$ somente	2,6
Não desnitrificantes	Redução de $\text{NO}_2^-$ e $\text{NO}_3^-$ ausente	37,7

Fonte: Drysdale; Kasan e Bux (2001)

Na desnitrificação, uma fonte de carbono de origem orgânica pode ser utilizada como doadora de elétrons, num processo heterotrófico. A matéria orgânica pode estar disponível no próprio processo, ou ser adicionada artificialmente quando necessário. Entre as fontes de carbono mais utilizadas estão o metanol, o etanol, o acetato e a glicose (VON SPERLING, 1996; MADIGAN; MARTINKO e PARKER, (1997). Segundo Wiesmman (1994), a estequiometria da desnitrificação utilizando o acetato como matéria orgânica pode ser representada pelas Equações 19 e 20:



Conforme estas equações, a relação obtida para a desnitrificação, via nitrato, é de 2,64 g  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$ / g  $\text{NO}_3^-$ , e via nitrito de 1,57 g  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$ / g  $\text{NO}_2^-$ , que correspondem a 2,86 g DQO/ g N- $\text{NO}_3^-$ , e 1,71 g DQO/ g N- $\text{NO}_2^-$ .

Mateju *et al.* (1992), a equação apresenta uma boa relação para a desnitrificação, levando em consideração a biomassa produzida conforme a Equação 21.



Segundo estes autores, a relação ótima entre C/N é 3,51 g  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ / g  $\text{NO}_3^-$  ou 3,74 g DQO/ g N- $\text{NO}_3^-$ .

Alguns fatores ambientais influenciam na velocidade de desnitrificação, como: o pH, a concentração de oxigênio dissolvido, a temperatura, a fonte de carbono e a relação C/N (METCALF, 2003; CUERVO-LÓPEZ *et al.*, 2009).

A presença de oxigênio pode inibir reversivelmente a desnitrificação. Em condições com altas concentrações de oxigênio dissolvido, a biomassa tem preferência pelo uso do oxigênio para respirar por se tornar energeticamente mais favorável.

De acordo com EPA, (1993) para lodo ativado a desnitrificação pode ser inibida para concentrações de 0,3 a 1,5 mg/L, tendo em vista o crescimento aglomerado de células na forma de flocos. O pH ótimo para que ocorra a desnitrificação está na faixa de 6,5 a 8,0 (METCALF, 2003). Temperaturas entre 5 °C e 35 °C são indicadas para a desnitrificação (LALUCAT *et al.*, 1996 *apud* CUERVO-LÓPEZ *et al.*, 2009).

A razão C/N indica a capacidade de desnitrificação do sistema, sendo que a deficiência de carbono orgânico poderá se traduzir em uma desnitrificação incompleta. Deste modo, esta relação mostra se há a necessidade de adição de uma fonte externa de carbono. Henze *et al.*, (1997) propõe o uso de matéria orgânica em relações de C/N entre 4 e 5 KgDQO/ KgN, e para o caso de se utilizar o acetato, uma fonte altamente biodegradável, a relação C/N que se recomendada está entre 3,1 a 3,7 kgDQO/ kgN. Entretanto, sistemas biológicos que tratam diferentes águas residuárias em distintos reatores e condições ambientais adversas podem utilizar outras relações C/N ótimas devendo ser determinada experimentalmente.

### **2.10.3 Reator biológico com biomassa imobilizada**

Reatores com biomassa imobilizada caracterizam-se pelo uso de um material suporte com a finalidade de reter uma grande quantidade de microrganismos em seu interior, tornando o tempo de retenção celular independente do tempo de retenção hidráulica, quando operados em modo de alimentação contínua.

Com relação ao movimento do material suporte, Lazzarova e Manem (1994) classificam os biorreatores como sendo de leito fixo ou de leito móvel. Entre os reatores de leito fixo têm-se os denominados biofiltros aerados submersos e os filtros biológicos. Já entre os reatores de leito móvel, têm-se os reatores de biodiscos e os reatores de leito expandido, em que o movimento do leito pode ser por meio de fluxo ascendente do efluente, agitação mecânica ou injeção de ar.

Nos processos de leito móvel os biorreatores utilizam como recheio, suportes (biomedias) providos de material dotados de alta superfície específica em permanente movimento, o que permite a adesão e o crescimento da biomassa na sua superfície, formando assim um biofilme microbiano ativo.

Nos últimos anos, um tipo específico de reator de leito móvel, denominado MBBR (reatores de biofilme de leito móvel agitado), ganhou destaque no tratamento de efluentes. Desenvolvido na Noruega

no final dos anos 80 e início dos anos 90 (European Patent no. 0,575,314, US Patent no.5,458,779), a tecnologia permitiu manter uma maior quantidade de biomassa por volume de reator, o que possibilitou introduzir um maior aporte de substrato, que resulta em uma maior carga orgânica reduzindo o tempo de retenção hidráulica (TRH) (MINEGATTI, 2008). Porém, o grande destaque desses reatores, além da alta carga compatível com outros reatores utilizados para o mesmo fim, é que o leito permanece livre no meio, evitando o entupimento de biomassa inerente ao crescimento excessivo, característico de processos heterotróficos

Isso culminou em um avanço da tecnologia, obtendo sistemas mais compactos e mais robustos no enfrentamento de picos da variação de carga orgânica e hidráulica. Além disso, foi resolvido o inconveniente de acolmatação, além de suprimir a operação de recirculação de lodo. Essa tecnologia atraiu a atenção comercial, sendo utilizada em mais de 400 plantas de tratamento de água residuárias de grandes escalas em 22 países, sem contar as estações de pequeno porte espalhados pelo mundo ( RUSTEN et al, 2006).

Na literatura, vários autores têm relatado diversas vantagens referentes ao sistema MBBR (JAHREN; RINTALA; ODEGAARD, 2002; RUSTEN et al, 2006; SALVETTI et al, 2006, ØDEGAARD, 2006; CHEN et al, 2007; AYGUN et al, 2008) além daquelas já citadas, tais como:

- Todo o volume útil do reator é eficientemente utilizado para o crescimento do consórcio microbiano;
- Alta área interfacial entre biofilme e os substratos;
- A biomassa aderida pode ser utilizada de uma forma mais especializada;
- Alta resistência a choques de carga;
- Flexibilidade de operação;
- A planta de tratamento requer menos espaço (um fator de custo importante);
- A eficiência do tratamento é pouco dependente das características de separação do lodo, pois a concentração de biomassa a ser separada é pelo menos 10 vezes menor do que a de sistemas convencionais;
- Reciclo de lodo não é necessário para manter a alta concentração de biomassa no reator (alta idade do lodo);
- Estabilidade operacional.

Entretanto, para os processos aeróbios, o reator MBBR apresenta desvantagens, como os custos operacionais relativamente altos em relação ao consumo de energia. Além de ser necessária a utilização de dispositivos de aeração que sejam adequadas, impedindo o aparecimento de zonas mortas dentro do reator, devido à movimentação não eficiente dos suportes (SCHNEIDER, 2010).

Esse tipo de reator pode ser usado em sistemas de nitrificação utilizando injeção de ar para o movimento dos suportes. Já no processo de desnitrificação heterotrófica a tecnologia pode ser aplicada utilizando o fluxo ascendente de água para movimentar os suportes, os quais são menos densos que a água.

Entender a complexidade do biofilme, assim como sua cinética de degradação é essencial para otimização do processo nesses reatores.

No reator de Leito móvel a cinética do processo de nitrificação em função do oxigênio é próxima de uma reação de primeira ordem e não pode ser ajustada pela equação de Monod, indicando uma alta resistência difusional da transferência de massa para dentro do biofilme.

De acordo com Hem et al (1994) a taxa interna de nitrificação dentro de um biorreator MBBR não está somente relacionada com as concentrações das cargas e de substratos, mas também sofre influência do histórico dos microrganismos, ou seja, das condições em que o microrganismos foram aclimatados anteriormente. Estes mesmos autores verificaram que quando o biofilme foi aclimatado com alta carga de nitrogênio amoniacal a taxa de nitrificação obtida no estado estacionário foi aproximadamente duas vezes maior em comparação com a respectiva taxa obtida quando o biofilme tinha sido aclimatado com baixas cargas do mesmo.

Contudo, o uso de suportes adequados que garantam a fixação da biomassa, o uso de dispositivos eficientes para agitação do leito, o conhecimento dos parâmetros clássicos operacionais que influenciam no processo, como da carga orgânica volumétrica, carga hidráulica superficial, somado a estratégia de adaptação prévia dos microrganismos para as condições desejadas, configuram passos importantes para aplicação dessa tecnologia em variados tipos de sistemas de tratamentos de efluentes (RUSTEN *et al*, 1998).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 INÓCULO

Para formação do inoculo de bactérias nitrificantes e desnitrificantes foi coletado lodo de um decantador proveniente de um cultivo de camarão marinho localizado no Laboratório de Camarões Marinho (LCM), pertencente ao Departamento de Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina. O cultivo de camarões utilizava o sistema biofloc, conforme descrito no item 2.3.3.1.

Inicialmente o lodo coletado no LCM foi lavado com água do mar sintética. Nesse procedimento o lodo era decantado e retirava-se o sobrenadante. A porção decantada foi ressuspendido com água do mar e lavado. Essa operação foi repetida 3 (três) vezes.

Foram montados dois reatores com a finalidade de selecionar biomassa de bactérias nitrificantes e desnitrificantes, os quais foram alimentados com meio de cultura específicos para a seleção desses microrganismos durante 60 (sessenta) dias.

Detalhes construtivos e operacionais dos reatores, bem como os meios de cultura utilizados, estão descritos a seguir.

##### 3.1.1 Meio de cultivo para seleção das bactérias

O meio de cultura utilizado foi o descrito por Campos *et al.* (1999), com adaptações. Como meio de alimentação, inicialmente foram utilizados efluentes autotrófico com concentração de 50 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L para o reator nitrificante e heterotrófico com concentração de 50 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L para o reator desnitrificante como mostrado na Tabelas 4 e 5 abaixo:

Tabela 4: Composição de nutrientes do meio nitrificante sintético.

<b>Componentes</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
NH <sub>4</sub> Cl	95,45
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	117,95
MgSO <sub>4</sub>	60
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	250
NaCl	0
NaHCO <sub>3</sub>	593,5
Solução de micronutrientes	0,5 mL L <sup>-1</sup>

Fonte: Adaptado de Campos et al (1999).

Tabela 5: Composição de nutrientes do meio desnitrificante sintético.

<b>Composto</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
NaNO <sub>3</sub>	303,57
MgSO <sub>4</sub>	60
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	250
NaCl	0
Acetato de sódio (CH <sub>3</sub> COONa)	239,85
Solução de micronutrientes	0,5 mL L <sup>-1</sup>

Fonte: Adaptado de Campos et al (1999).

Como solvente dos meios foi utilizada água do mar sintética, cuja formulação descrita Tabela 6 logo abaixo, além de uma complementação nutricional descrita na Tabela 7 em seguida.

Tabela 6: Meio para formulação da água do mar sintética.

<b>Composto</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,088
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4,408
NaCl	24,861
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	9,786
KCl	0,82
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,588
NaHCO <sub>3</sub>	0,198
KBr	0,076
KI	0,013
FeSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	0,025
SrCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,03
Solução de elementos-traço	1 ml

Tabela 7: Solução de elementos traço para água do mar sintética.

<b>Composto</b>	<b>Concentração</b>
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	5
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	10
MnSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	10
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	70
MoO <sub>3</sub>	10
Água destilada	1 L

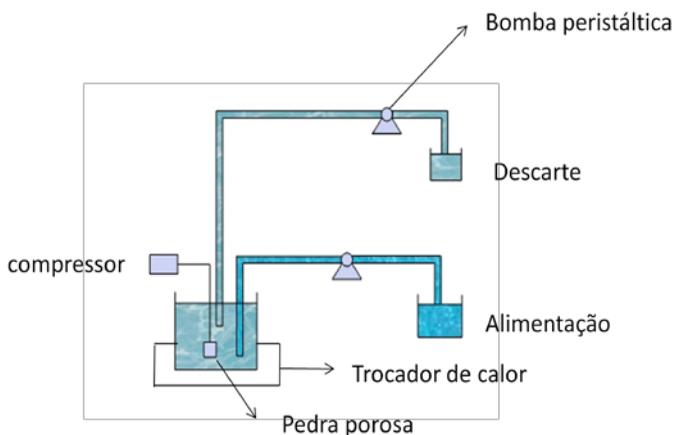
### 3.1.2 Operação dos reatores

Para a seleção dos inóculos foi utilizado dois reatores descontínuos operados em modo de batelada alimentada, com volume útil de 4L; tempo de retenção hidráulica (TRH) igual a 4 d. Para tanto, a aeração era suspensa, aguardava-se ocorrer uma sedimentação do lodo e então removia-se 1L do sobrenadante. Este volume retirado era reposto pelo mesmo volume (1L) de meio de cultura sintético.

O pH era mantido entre 7,8 e 8,1 aferido e ajustado regularmente com NaCl 30% (v/v) e NaOH 2N.

O reator para seleção de bactérias nitrificantes possuía aeração constante através de injeção de ar comprimido (Big Air A420), contendo uma pedra porosa como difusor de microbolhas para transferência de oxigênio e para a promoção da mistura dos microrganismos com o meio. O oxigênio dissolvido foi mantido entre 6 e 7mg/L (wtw – oxy 340). A temperatura foi mantida em torno de 30 °C, por meio de um banho termostatzado, bombeando o líquido em circuito fechado, através de um trocador de calor feito de mangueira de silicone que envolvia o reator. A representação de forma esquemática do sistema utilizado para está apresentada na Figura 12 abaixo.

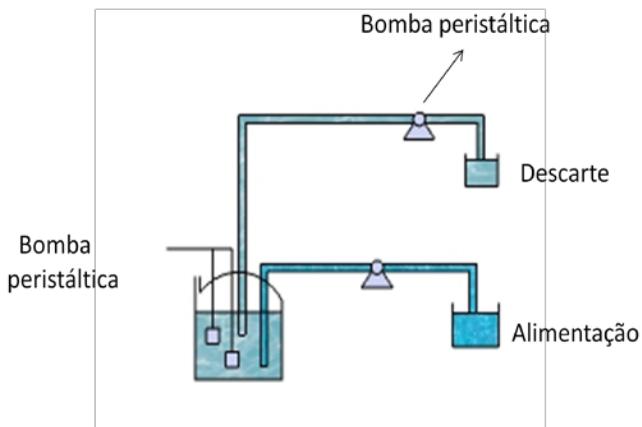
Figura 12: Desenho esquemático do sistema do reator de nitrificação.



O reator para seleção de bactérias desnitrificantes foi mantido em estado de anaerobiose. Dentro do reator foi colocado duas minibombas submersas (Sarlo 180), a fim de promover a mistura

completa das bactérias com o meio. A temperatura foi mantida entre 28 a 30 °C. A representação de forma esquemática do sistema utilizado está apresentada na Figura 13 abaixo.

Figura 13: desenho esquemático do sistema do reator de desnitrificação



Tanto o descarte quanto a reposição dos meios de cultura eram feito através de bombas peristáltica (Milan, BP-200) programadas com temporizadores (timer) como ilustrado nas figuras acima.

No início dessa etapa foram aplicadas nos reatores nitrificante e desnitrificante cargas nitrogenadas volumétricas ( $q_v$ ), respectivamente, de 12,5 mg N –  $\text{NH}_4/\text{Ld}$  e 12,5 mg N –  $\text{NO}_3/\text{Ld}$ . A carga foi dobrada a cada 20 (vinte) dias a partir do meio proposto, chegando ao final dos 60 (sessenta) dias com triplo do valor inicial.

### 3.1.2.1 Acompanhamento do reator

Durante 48 dias os reatores foram acompanhados utilizando uma solução de brucina como indicadora de presença de nitrato (MORITA, 1972).

Nas saídas dos reatores de nitrificação e desnitrificação, eram observadas respectivamente a presença e a ausência de nitrato por meio do indicador de brucina.

Nos últimos 12 dias foram avaliados de forma quantitativa amônia, nitrito e nitrato na saída do reator aeróbio. No reator anaeróbio foram avaliados somente o nitrito e o nitrato.

### 3.2 SISTEMA DE PRODUÇÃO DE CAMARÃO MARINHO DA PRIMEIRA ETAPA DE CULTIVO

O sistema de cultivo de camarão marinho na primeira etapa foi composto de 3 unidades principais sendo elas o tanque de cultivo com reator nitrificante acoplado, o reator de desnitrificação e um decantador.

O tanque de cultivo foi confeccionado em fibra de vidro com formato cilindro-cônico de volume útil de 600 L, com diâmetro 1,2 m, altura total de 0,81m, e altura do cone de 0,11m. Dentro do tanque foi instalado 5 suportes para bactérias, feito de tela de nylon com linha de 0,1 mm de espessura, engrazamento de 3/8” totalizando 1,13 m<sup>2</sup> de tela, além disso os suportes promovem um aumento na área de superfície do tanque diminuindo o estresse do animal no confinamento.

No tanque também foi instalado um reator de nitrificação de leito móvel com formato cilíndrico, de 0,55m de altura, diâmetro de 0,14m, volume útil de 6,73 L, confeccionado de policloreto de vinila (PVC). Como recheio do reator foi utilizado 120 “bio balls” (Cora Life Bio Balls). No topo do reator foi instalada uma bomba de 11 Watts que regulava a vazão do sistema de recirculação, promovendo o fluxo de água em um único sentido.

O reator de desnitrificação foi confeccionado de material de PVC cilíndrico de leito móvel com, altura de 0,83m, 0,19m de diâmetro, volume útil de 20 L e como recheio foi utilizado 263 “bio balls” - o mesmo utilizado no reator de nitrificação.

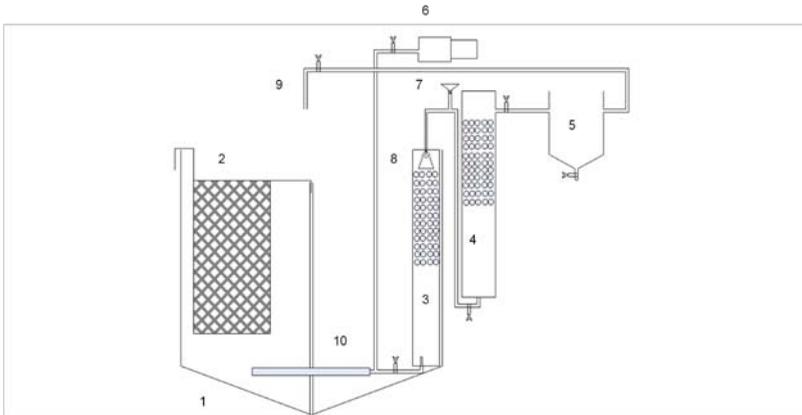
O decantador foi confeccionado em fibra de vidro com formato cilindro-cônico com volume útil de 20 L, diâmetro de 36 cm, altura de 23 cm.

O sistema de aquecimento no tanque era composto por um banho termostatzado e 3 (três) resistências de 250 W de potência para manter a água aquecida. No reator desnitrificante foi feito um trocador de calor, o qual promovia a circulação de água quente por meio de uma mangueira que passava por dentro do reator mantendo-o aquecido.

A aeração do sistema foi derivada de uma linha central que abastece o laboratório, cuja distribuição dentro do tanque foi feita por um difusor do tipo mangueira porosa sendo posteriormente trocado por pedras porosas com ao longo do cultivo vazão de  $(1,68 \pm 0,21 \text{ L Ar/ s})$  na segunda etapa.

A Figura 14 apresenta um desenho esquemático do sistema utilizado na primeira etapa do cultivo evidenciando seus principais elementos.

Figura 14: Desenho Esquemático do Sistema na Primeira Etapa do Cultivo: 1 (tanque); 2 (telas suporte); 3 (reator nitrificante); 4 (reator desnitrificante); 5 (decantador); 6 (aeração); 7 (entrada de acetato); 8 (bomba de recalque); 9 (retorno); 10 (mangueira porosa).



### 3.2.1 Inoculação dos microorganismos no sistema de produção de camarão marinho

A inoculação dos microrganismos foi feita seguindo o seguinte protocolo:

Primeiro o sistema foi completado com água do mar natural, proveniente da praia da Barra da Lagoa, Florianópolis, previamente desinfetada no LCM. Em seguida foi diluída com água da Companhia Catarinense de Água e Saneamento (CASAN) para obter o valor de salinidade de 20000 ppm medido com condutivímetro (YSI 30). As entradas e saídas do tanque de cultivo e do reator de desnitrificação foram fechadas de modo que cada parte ficasse isolada. O sistema de aeração e aquecimento foi ligado. Foram adicionados os sais dos meios de cultura para bactérias nitrificantes e desnitrificante, baseado no meio proposto por Campos et al (1999) com adaptações, utilizando a própria água do sistema como solvente. A concentração final das partes após adição dos sais foi de 2 mgN –  $\text{NH}_4^+$ /L no tanque e 2 mg N- $\text{NO}_3^-$ /L no reator desnitrificante. As quantidades utilizadas dos componentes dos meios nitrificantes e desnitrificante estão descrita nas Tabelas 8 e 9 abaixo.

Tabela 8: Quantidade dos nutrientes adicionado no tanque.

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade (g)</b>
NH <sub>4</sub> Cl	22,92
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5,592
MgSO <sub>4</sub>	0,606
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,676
NaCl	0
NaHCO <sub>3</sub>	14,244
Solução de micronutrientes	0,003 mL L <sup>-1</sup>

Tabela 9: Composição de nutrientes do meio desnitrificante sintético.

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade (g)</b>
NaNO <sub>3</sub>	0,243
MgSO <sub>4</sub>	0,02
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,1
NaCl	0
Acetato de sódio (CH <sub>3</sub> COONa)	0,2
Solução de micronutrientes	0,003 mL L <sup>-1</sup>

Fonte: Adaptado de Campos et al (1999)

Após os componentes serem adicionados, foram introduzidos os microrganismos provenientes da seleção do inóculo.

No tanque de cultivo foi adicionado 4L de microrganismos selecionados do inóculo de nitrificante, contendo 9,82 gSSV/L. No reator de desnitrificante foi adicionado 4L de microrganismos selecionados do inóculo de desnitrificante contendo 4,93 gSSV/L.

### 3.2.1.1 A adaptação dos microrganismos no sistema

A adaptação dos microrganismos foi seguida de mais 4 pulsos de nitrogênio no tanque e 3 pulsos no reator desnitrificante conforme a Tabela 10 abaixo.

Tabela 10: Pulsos de substratos para adaptação dos microrganismos no sistema.

<b>Dias</b>	<b>pulsos</b>	<b>Tanque (NH<sub>4</sub>Cl)</b>	<b>Desnitrificante (NaNO<sub>3</sub>)</b>
<b>2</b>	P1	2 mgN–NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2 mgN–NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<b>4</b>	P2	2 mgN–NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2 mgN–NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<b>6</b>	P3	2 mgN–NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2 mgN–NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<b>8</b>	P4	20 mgN–NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	---

Após o 8º dia a recirculação do sistema foi aberta numa vazão de 6,25 L/h.

### 3.3 PRIMEIRA ETAPA DE CULTIVO

Foram selecionados 200 camarões da espécie *Litopennaeus vannamei* de um cultivo superintensivo realizado em bioflocos no LCM com um peso inicial de  $1,48 \pm 0,31$ g. O camarão foi aclimatado às condições do experimento abaixando a salinidade de 35000 ppm para 20000 ppm. A salinidade foi diminuída em 2000 ppm/ h, à temperatura de 28°C, utilizando água do sistema de recirculação, de modo a adaptar o metabolismo do camarão ao novo ambiente.

Após a adaptação, o camarão foi inserido no tanque de cultivo e alimentado com ração comercial, contendo 35 % de proteína bruta na forma de pelets, utilizando o sistema de bandeja. A densidade de camarões no tanque foi de 333 espécies/m<sup>3</sup>.

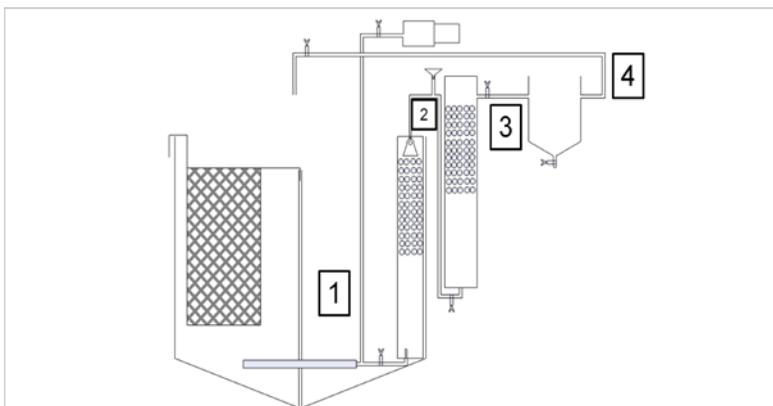
Durante os 50 dias de experimento, os camarões foram alimentados 3 vezes ao dia. A checagem do consumo era feita na bandeja após uma hora e meia a cada alimentação. A quantidade de ração foi baseada no peso de camarão dentro do tanque, realizado por meio de biometria (BARBIERI JR., 2002). Nessa etapa optou-se por alimentar os camarões com 4% do peso total. Os horários definidos para alimentação foram às 8:00hs, às 12:00hs e às 17:00hs. Caso houvesse sobra de ração nas bandejas, esta era devolvida ao tanque para não alterar a quantidade de massa do sistema.

A vazão de recirculação do sistema foi aumentada de 6,25L/h para 12,5 L/h no 1º dia e mantida até o 30º dia de experimento. A partir daí, foi alterada para 48 L/h e mantida até o final da primeira etapa. As alterações de vazão foram realizadas em função da necessidade de melhorar o desempenho do sistema em termos de qualidade da água de cultivo dos camarões.

### 3.3.1 Monitoramentos do cultivo

O acompanhamento do sistema foi realizado mediante análises nas entradas e saídas dos componentes do sistema conforme os pontos de amostragem evidenciados na Figura 15 abaixo.

Figura 15: pontos de coleta no sistema durante a primeira etapa de cultivo: 1 (meio do tanque); 2 (saída do tanque); 3 (saída do reator desnitrificante); 4 (saída do decantador).



As análises efetuadas, bem como a frequência em que as mesmas foram realizadas, estão apresentadas na Tabela 11 abaixo.

Tabela 11: Análises e frequência da primeira etapa de cultivo.

Análises	Frequência
<b>pH (YSI pH 100)</b>	5x semanais
<b>Oxigênio (YSI 55)</b>	5x semanais
<b>Temperatura (YSI 55)</b>	5x semanais
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	3 vezes semanais
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	3 vezes semanais
<b>SST/SSV</b>	Pré estabelecidos
<b>Vibrionáceos</b>	Esporádico
<b>Bactérias Totais</b>	Esporádico

### 3.4 SEGUNDA ETAPA DE CULTIVO

A segunda etapa seguiu-se com algumas modificações no sistema, além da utilização de camarões com um maior tamanho.

#### 3.4.1 Alterações do sistema de produção

Essa etapa foi feita com uma nova configuração no sistema. O decantador foi substituído por um com maior dimensão de volume útil de 84 L, altura de 0,63m, diâmetro 0,49m, e altura do cone de 0,28m para promover um aumento no tempo de retenção hidráulica do efluente do tanque. A posição do decantador também foi modificada ficando este após a saída do tanque e antes da entrada do reator desnitrificante. Além disso, nessa etapa foi inserido um reator de ultravioleta com uma lâmpada de 8W de potência, envolta por um tubo de quartzo, acoplado em linha no sistema, com o intuito de promover o controle de patógenos no cultivo (Figura 16) que possam aparecer por algum tipo de contaminação. A nova configuração está apresentada no fluxograma da Figura 17.

Figura 16: lâmpada ultra violeta 8 Watts de potência.

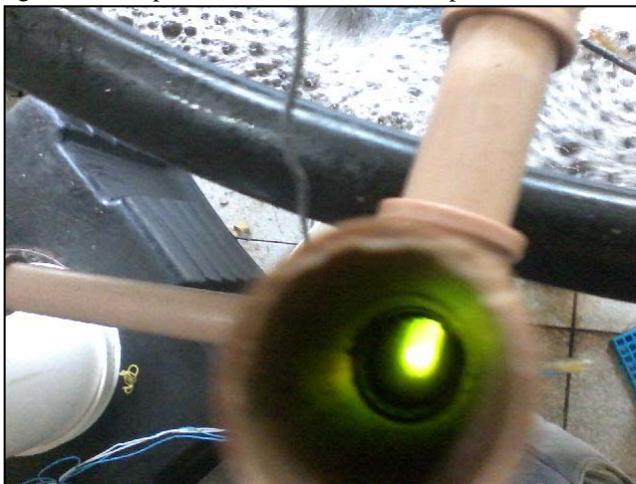
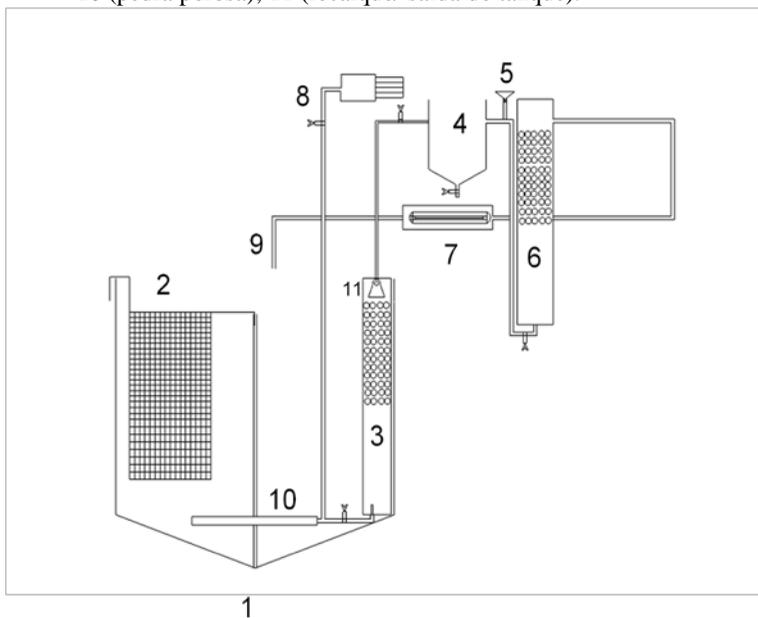


Figura 17: sistema segunda etapa: 1 (tanque); 2 (rede suporte); 3 (reator nitrificante); 4 (decantador); 5 (entrada de acetato); 6 (reator desnitrificante); 7 (ultra violeta); 8 (aeração); 9 (retorno para o tanque); 10 (pedra porosa); 11 (recalque/ saída do tanque).



### 3.4.2 Segunda etapa de produção

Nessa etapa foi utilizada a mesma água do cultivo anterior, sem renovação, porém, foi diluída para 14000 ppm de salinidade. A menor salinidade comparada com a primeira etapa foi feita no sentido de economia de sais, visando uma futura ampliação de escala, diminuindo a dependência de maiores volumes de água do mar.

Foram selecionados camarões da espécie *Litopennaeus vannamei* de um cultivo realizado em bioflocos no LCM com um peso inicial de  $7,1 \pm 0,56g$ . O camarão foi aclimatado às condições do experimento abaixando a salinidade de 35000 ppm para 14000 ppm, da mesma forma como descrito no item 3.3. Após a adaptação, o camarão foi inserido no tanque de cultivo e alimentado com a mesma ração. No entanto, houve uma modificação no manejo da alimentação, descrita no próximo item.

### 3.4.3 Manejo de alimentação para o camarão na segunda etapa

Durante os 36 dias de experimento, os camarões foram alimentados 3 vezes ao dia. A checagem do consumo era feita após uma hora e meia a cada alimentação. A quantidade de ração foi baseada no peso de camarão dentro do tanque. Na primeira semana optou-se em alimentar os camarões com 1,5 % do peso total, no resto dos dias o camarão foi alimentado com 4% do peso total. Caso houvesse sobra de ração nas bandejas essa sobra era devolvida ao tanque para não alterar o a quantidade de massa do sistema. Os horários e as porcentagens usadas no experimento estão descrito na Tabela 12.

Tabela 12: Manejo da ração da segunda etapa

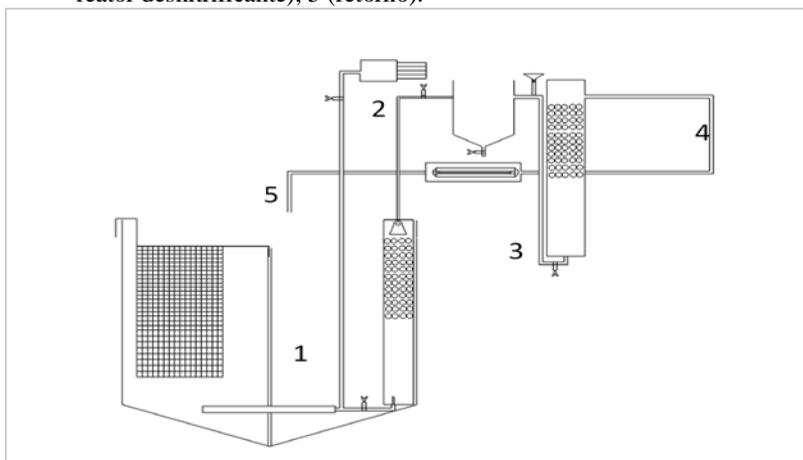
Semanas	Horário Alimentação	% do peso
1	8:00	1,5
1	12:00	1,5
1	18:00	1,5
2,3,4,5	8:00	4
2,3,4,5	12:00	4
2,3,4,5	18:00	4

O ajuste da quantidade de ração foi realizado por meio de biometria periódicas.

### 3.4.4 Monitoramento segunda etapa de cultivo

O acompanhamento do sistema foi realizado mediante análises nas entradas e saídas dos componentes do sistema conforme evidenciado os pontos de amostragem na Figura 18 abaixo.

Figura 18: Pontos de coleta do sistema na segunda etapa do cultivo: 1 (tanque); 2 (saída do reator nitrificante); 3 (saída decantador); 4 (saída reator desnitrificante); 5 (retorno).



As análises efetuadas, bem como a frequência em que as mesmas foram realizadas, estão representadas na Tabela 13 na página seguinte.

Tabela 13: Análises e frequência da segunda etapa de cultivo.

Análises	Frequência
<b>pH (YSI ph 100)</b>	5x semanais
<b>Oxigênio (YSI 55)</b>	5x semanais
<b>Temperatura (YSI 55)</b>	5x semanais
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	3 vezes semanais
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	3 vezes semanais
<b>SST/SSV</b>	Pré estabelecidos
<b>Vibrionáceos</b>	Esporádico
<b>Bactérias Totais</b>	Esporádico
<b>COT / NT</b>	Pré determinado
<b>Alcalinidade</b>	Esporádico

### 3.5 RESPIROMETRIA DO TANQUE DE CULTIVO

O ensaio de respirometria teve como objetivo determinar a velocidade de respiração do tanque através do método proposto por Schmidell (2001) realizado um dia antes da despesca do tanque. Tal método está baseado como se segue, envolvendo as Equações 22 a 27.

Em um biorreator descontínuo aerado e agitado, o balanço de massa para o oxigênio pode ser descrito como:

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_s - C) - Q_{O_2} X \quad \dots(22)$$

onde:

C = concentração de oxigênio no instante t (mgO<sub>2</sub>/L)

C<sub>s</sub> = concentração de oxigênio na saturação (mgO<sub>2</sub>/L)

K<sub>L</sub>a = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (min<sup>-1</sup>)

Q<sub>O<sub>2</sub></sub> = velocidade de consumo de oxigênio (mgO<sub>2</sub>/gcel. min)

X = concentração celular (gcel/L)

t = tempo (min)

Em um biorreator com células em suspensão é possível determinar o valor da concentração celular através da medida de sólidos suspensos voláteis (SSV). Dentro do tanque de cultivo existem microrganismos que estão em suspensão e os que estão aderidos nas estruturas tanque, nos suportes para bactérias do tanque e do reator, além de estarem aderidos no próprio camarão, tornando inviável quantificá-los de forma precisa.

Diante disso a solução usada foi fazer  $X$  ser igual ao total de organismos vivos que consomem oxigênio, além da própria respiração do camarão. Podendo definir a seguinte relação:

$$X_c = X_{\text{microrganismos}} + X_{\text{camarões}} \quad \dots(23)$$

$X_{\text{microrganismos}}$  = concentração de microrganismos (g microrganismos/L)

$X_{\text{camarões}}$  = concentração de camarão (g camarões/L)

$X_c$  = Concentração de Biomassa no tanque (g biomassa/L)

Desse modo,  $Q_{O_2} X_c$  seria igual a velocidade de respiração dos microrganismos somado a velocidade de respiração dos camarões.

$$Q_{O_2} X_c = Q_{O_2} X_{\text{microrganismos}} + Q_{O_2} X_{\text{camarrgani}} \quad \dots(24)$$

Segue as unidades da relação acima:

$$Q_{O_2} X_c = \frac{\text{mg } O_2}{\text{min. gcel}} \cdot \frac{\text{gcel}}{\text{L}} + \frac{\text{mg } O_2}{\text{min. gcamarão}} \cdot \frac{\text{gcamarão}}{\text{L}}$$

$$= \frac{\text{mg } O_2}{\text{min. gbiomassa}} \cdot \frac{\text{gbiomassa}}{\text{L}}$$

A nova equação então pode ser escrita:

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_s - C) - Q_{O_2} X_c \quad \dots(25)$$

Onde:

$C$  = concentração de oxigênio no instante  $t$  (mg  $O_2$ /L)

$C_s$  = concentração de oxigênio na saturação (mg  $O_2$ /L)

$K_L a$  = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ( $\text{min}^{-1}$ )

$Q_{O_2}$  = velocidade de consumo de oxigênio do tanque (mgO<sub>2</sub>/g biomassa.min)

$X_c$  = concentração biomassa (g biomassa/L)

t = tempo (min)

Levando em consideração as condições do experimento, 28°C, salinidade 14000 ppm, e uma pequena área de exposição ao ar, 1,13 m<sup>2</sup> de lâmina da água, a transferência de oxigênio da atmosfera para o sistema faz-se pequena podendo ser desprezada. Desligando a aeração tem-se  $K_L a = 0$  de modo que:

$$\frac{dC}{dt} = 0 \cdot (C_s - C) - Q_{O_2} X_c$$

...(26)

$$\frac{dC}{dt} = - Q_{O_2} X_c$$

$$dC = - Q_{O_2} X_c dt$$

$$\int_{C_0}^C 1 dC = - Q_{O_2} X_c \int_0^t 1 dt$$

$$C - C_0 = - Q_{O_2} X_c t - 0$$

$$C = C_0 - Q_{O_2} X_c t$$

...(27)

Desse modo obtemos uma reta, onde a velocidade de respiração do tanque  $Q_{O_2} X_c$  é o coeficiente angular da reta e  $C_0$  é a concentração de oxigênio inicial. Plotando um gráfico de C x t é possível  $Q_{O_2} X_c$ .

Usando a equação elaborada por Beet (2005), é possível determinar  $Q_{O_2} \cdot X$  camarões, desse modo pode-se calcular  $Q_{O_2} \cdot X$  microorganismos.

### 3.6 METODOLOGIA ANALÍTICA

#### 3.6.1 Amônia (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e Nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

A análise de nitrogênio amoniacal foi realizada pelo método colorimétrico, segundo procedimento descrito no manual de análises de água marinha (STRICKLAND, 1972).

### 3.6.2 Nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

A concentração de nitrato foi determinada por um Kit analítico da empresa Alfacit.

**Reagentes:** Brucina (B) e ácido sulfúrico (A).

O método baseia-se na reação do nitrato com a brucina (um alcalóide) em meio ácido (ácido sulfúrico) produzindo uma solução com coloração amarela. A cor amarela produzida é proporcional à sua concentração na amostra, variando numa faixa de 1,5 á 15 mg N-NO<sub>3</sub>/L. A proporção é uma medida do reagente (B) padronizada pela empresa Alfacit, para 1mL de amostra filtrada. Em seguida é adicionado 4mL do reagente (A). A amostra é homogeneizada tendo um tempo reacional de 10 minutos. A absorbância é lida no espectrofotômetro (HAC DR5000) com comprimento de onda de 420 nm.

### 3.6.3 Sólidos Suspensos Totais (SST) e Voláteis (SSV)

A concentração celular foi realizada através da determinação da quantidade de sólidos suspensos totais, submetendo a amostra durante 15 minutos em microondas na potencia de 180 Watts, segundo a metodologia proposta por Zdradek *et al.* (2006). Para a determinação dos sólidos suspensos voláteis, utilizou-se o método descrito no *Standard Methods for the examination of water and wastewater*, o qual utiliza a queima da biomassa em mufla a 600 °C por 15 minutos (APHA, 2005).

### 3.6.4 Bactérias Totais e Vibrionáceos

Para realizar o processo de contagem de unidades formadoras de colônia de bactérias marinhas heterotróficas ou autotróficas facultativas, foi utilizado a metodologia descrita por APHA, AWWA, WEF (1994), sendo as amostras semeadas em Agar Marine (Difco™, Marine Agar 2216).

Para a quantificação de UFC/mL (Unidades formadoras de colônias viáveis por volume de amostra) de vibrionáceas, foi utilizado a metodologia descrita por APHA, AWWA, WEF (1994), semeadas em TCBS (Difco™, seletivo para vibrio).

### 3.6.5 Carbono orgânico total (COT) e Nitrogênio Total (NT)

A determinação de COT e NT foi realizada através de analisador de infra-vermelho TOC-V CPH/CPN (SHIMADZU), no Laboratório de Energia e Meio Ambiente (LEMA).

### 3.6.6 Alcalinidade total

Para determinação de alcalinidade, utilizou-se o método titulométrico (APHA, 1995).

### 3.6.7 Cálculo do Tempo de Residência Hidráulica (TRH)

Para os cálculos do TRH foi utilizado a seguinte relação da Equação 28.

$$TRH = \frac{V}{F} \text{ (s)} \quad \dots(28)$$

Onde :

V = volume útil (L)

F = Vazão (L/s)

### 3.6.8 biometria e cálculo da razão

A média de peso da população camarões dentro do tanque foi estimada através de amostragem aleatória de com um intervalo de confiança de 95% de certeza para uma população conhecida, através da relação estatística, apresentada na Equação 29.

$$X - e < \mu < X + e$$

$$e = \frac{Z_{0,05} \cdot \sigma}{\sqrt{n}} \cdot \sqrt{\frac{n-1}{N-1}} \quad \dots(29)$$

Onde:

N = população de camarões inicial dentro do tanque

n = número de amostra ( n>5% da população N)

X = média da amostra (g)

$\mu$  = média da população (g)

$\sigma$  = desvio padrão da amostra (g)

$Z_{0,05} = 1,96$  (tabela estatística)

e = erro (g)

O cálculo da ração era feito através da relação apresentada na Equação (30) abaixo.

$$R = (X \cdot N) \cdot a \quad \dots(30)$$

Onde:

R = quantidade de ração a ser dada (g)

X = média da amostra

a = % do peso ( 1,5 % d ou 4 % dependendo da etapa item 3.4.3)

### 3.6.9 Eficiências de conversão e remoção do nitrogênio

Para o cálculo da eficiência de conversão de nitrogênio foram usadas as relações apresentadas nas Equações 31 a 33.

$$\%N - NH_4^+ \text{ convertido} = \left( \frac{[N-NH_4^+]_{entrada} - [N-NH_4^+]_{saída}}{[N-NH_4^+]_{entrada}} \right) \times 100 \quad \dots(31)$$

$$\%N - NO_3^- \text{ convertido} = \left( \frac{[N-NO_3^-]_{entrada} - [N-NO_3^-]_{saída}}{[N-NO_3^-]_{entrada}} \right) \times 100 \quad \dots(32)$$

[ ] = concentração mg/L

$$\% N \text{ removido} = \left( \frac{(N\text{-Amonia aplicado ao tanque}) - (N \text{ retorno})}{N \text{ aplicada ao tanque}} \right) \times 100 \quad \dots(33)$$

Onde :

N-Amônia aplicado ao tanque = R x %p x 0,144 (g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/dia)

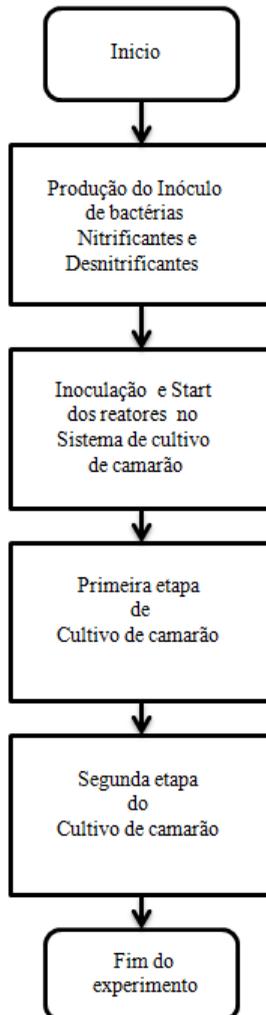
R = quantidade de ração a ser dada (g)

%p= porcentagem de proteína da ração

N retorno= (N decantador (g) + N reator desnitrificante (g) + N retorno (g))

$$N \text{ retorno} = [ ( (N\text{-amônia} + N\text{-nitrito} + N\text{-nitrato}) \times 640 ) / 1000 ] \quad (\text{g})$$

Figura 19: Fluxograma dos principais processos realizados no experimento.

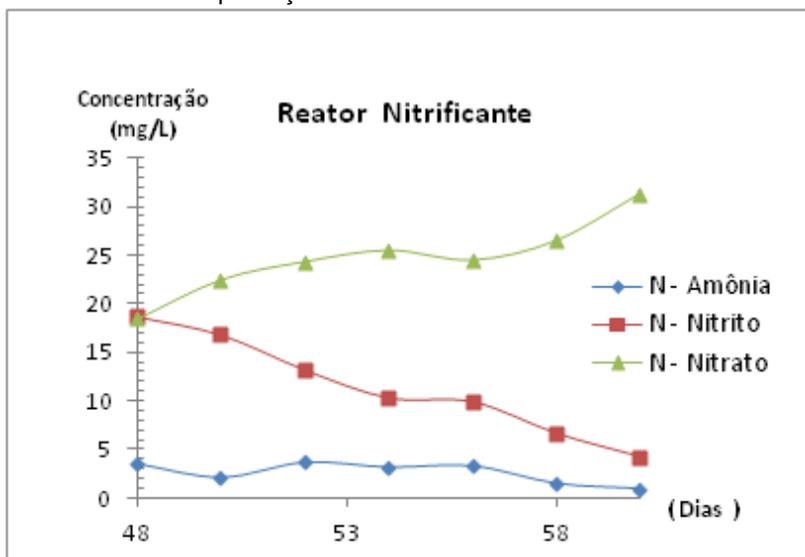


## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 REATOR DE CULTIVO DO INÓCULO DE MICRORGANISMOS NITRIFICANTES

O gráfico de valores das determinações das formas nitrogenadas no reator de cultivo do inóculo das bactérias nitrificantes encontra-se na Figura 20 a seguir. Apresenta-se apenas os valores a partir do 48º dia de operação devido ao estabelecimento das metodologias analíticas com a água do mar.

Figura 20: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato no reator de produção de inóculo nitrificante.

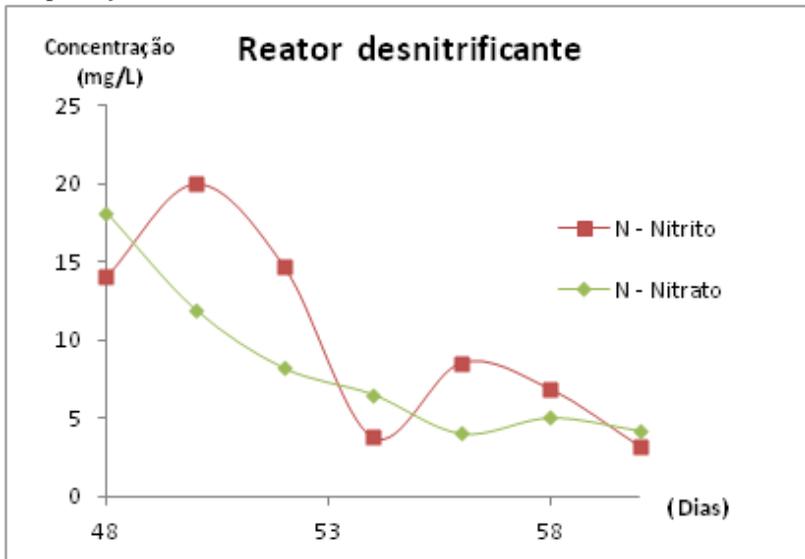


Nesta fase observa-se uma queda acentuada da concentração de nitrito dentro do reator, isto indica que o processo de nitrificação estava ocorrendo por completo. No último dia de operação foi convertido 97,39 % do nitrogênio amoniacal da alimentação.

## 4.2 REATOR DE CULTIVO DO INÓCULO DE MICRORGANISMOS DESNITRIFICANTES

A Figura 21 a seguir mostra o comportamento do nitrato e do nitrito nos doze dias finais do reator desnitrificante devido ao mesmo motivo do item anterior.

Figura 21: Acompanhamento das concentrações do nitrito e nitrato no reator de produção de inoculo desnitrificante.



De acordo com a figura 21 percebe-se uma queda nas formas de nitrogênio indicando que o processo de desnitrificação está ocorrendo. Observa-se uma variação no comportamento do nitrito que pode ser atribuída à diversidade funcional dos grupos selecionados de bactérias desnitrificantes, em usar o nitrato como substrato passando por nitrito até sua conversão final em nitrogênio gasoso, como foi comentado no item 2.10.2.

De forma geral observa-se uma queda do nitrogênio inorgânico ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ) ao longo dos dias. No final do período de seleção foi calculada uma conversão de 88,72% do nitrogênio de nitrato contido na alimentação.

### 4.3 INOCULAÇÃO DO SISTEMA

O gráfico do comportamento das formas nitrogenadas no tanque de cultivo e do reator de desnitrificação durante a fase de inoculação está apresentado nas Figuras 22 e 23, respectivamente.

Figura 22: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato no tanque de cultivo mediante aos pulsos de amônia p1, p2, p3, p4 e p4 durante a inoculação.

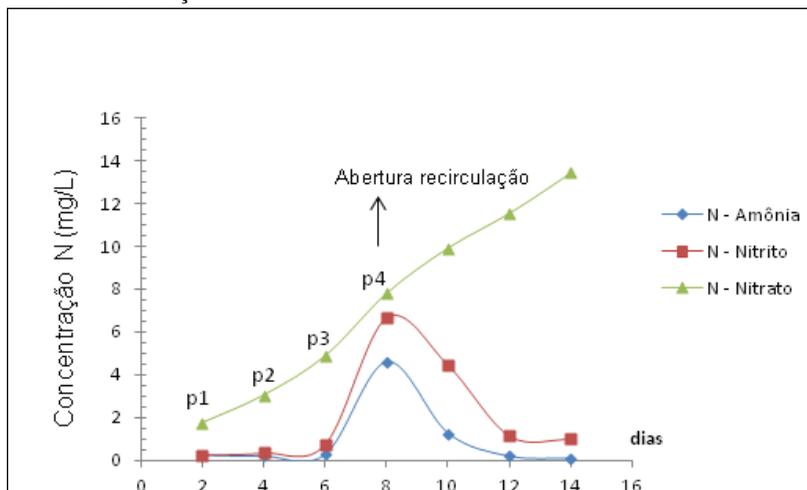
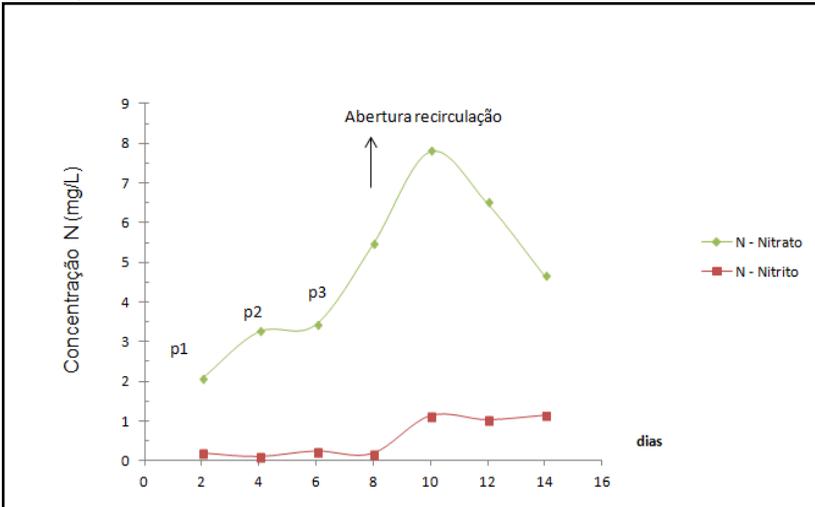


Figura 23: Acompanhamento das concentrações do nitrito e nitrato no reator desnitrificante de mediante aos pulsos de nitrato p1, p2, p3 durante a inoculação.



Durante este período, o pH, oxigênio e a temperatura do tanque tiveram valores de  $8,18 \pm 0,019$ ;  $7,80 \text{ mg/L} \pm 0,13 \text{ mg/L}$ ;  $28,97 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,07 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente. Já para o reator desnitrificante estes valores foram de  $8,19 \pm 0,02$ ;  $0,66 \text{ mg/L} \pm 0,13 \text{ mg/L}$  e  $28,88 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,28 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente.

A análise dos gráficos mostrados anteriormente permite concluir que a adaptação dos microrganismos ocorreu de forma gradativa. Logo nos primeiros dias, observa-se a produção de nitrito e nitrato no tanque de cultivo, mostrando que as bactérias oxidadoras de amônia e nitrito estavam ativas, mesmo depois de abrir a recirculação no oitavo dia, que continuou a produção de nitrito e nitrato indicando que as bactérias continuavam a crescer no tanque.

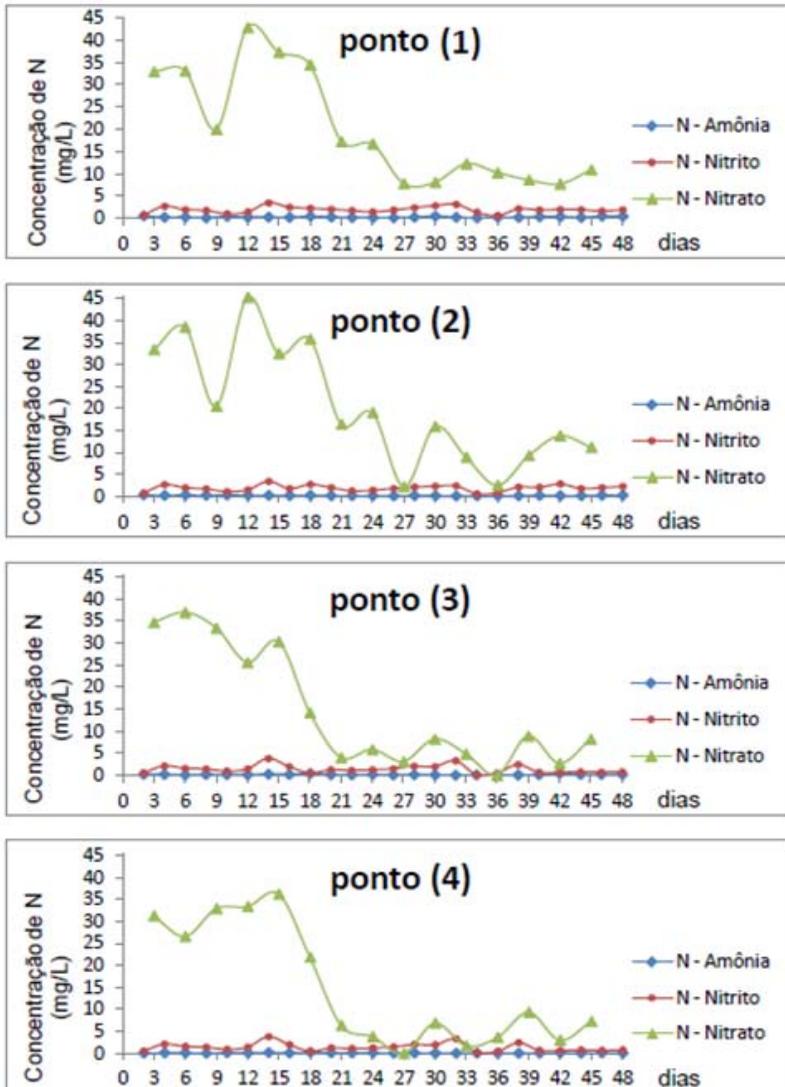
No reator desnitrificante observa nos primeiros dias uma adaptação mais lenta dos microrganismos, no entanto, a partir do 4º dia fica evidente a diminuição do nitrato no reator mostrando que o processo de desnitrificação estava ocorrendo. Após a abertura da recirculação, a desnitrificação continuou a ocorrer e no 14º dia, a diferença de concentração de nitrato na entrada e na saída do reator era de  $8,77 \text{ mg/L}$ , apresentando naquele momento uma remoção de  $65,25 \%$  em relação ao  $\text{N-NO}_3^-$ .

Visto que os processos de nitrificação e desnitrificação estavam ocorrendo e que os parâmetros de água no tanque eram propícios para o camarão, partiu-se para a 1ª etapa de cultivo.

#### 4.4 PRIMEIRA ETAPA DE CULTIVO

A Figura 24 á seguir mostra os gráficos de acompanhamento das concentrações das formas nitrogenadas dos pontos de coleta do sistema. Os valores determinados das concentrações destes compostos que geraram esses gráficos encontram-se no Anexo 1.

Figura 24: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato ao longo da primeira etapa do cultivo: 1(meio do tanque); 2(saída do tanque); 3 (saída reator desnitrificante); 4(saída do sedimentador/retorno).



Analisando a figura 24 anterior, percebe-se um período de adaptação dos microrganismos no sistema. Pode ser verificado que a nitrificação estava ocorrendo observando a presença de nitrato. Contudo nos primeiros dias observa-se uma pequena variação do nitrato ao longo dos pontos de coleta, indicando uma adaptação mais lenta dos organismos desnitrificantes. A partir do dia 21 é possível distinguir duas partes do sistema: uma parte com maior concentração de nitrato, representado pelos pontos 1 e 2; e uma parte com menor concentração de nitrato, representada pelos pontos 3 e 4. Nos últimos 12 dias de cultivo essa diferença são mais evidentes observando os pontos do gráfico como mostrado na Tabela 14.

A análise da Tabela 14 a seguir, permite identificar que em média a concentração de amônia ao longo desse período não atingiu valores tóxicos para o camarão no tanque (1). O valor máximo calculado foi de 0,055 mg N-NH<sub>3</sub>/L, calculado a partir dos dados de amônia, pH e temperatura dispostos no Anexo 1, sendo esse valor 22 vezes menor do que o valor crítico descrito por Lin e Chen (2001) em salinidade de 15000 ppm.

Tabela 14: Média da concentração das formas de nitrogênio amônia (N-NH<sub>4</sub>), nitrogênio de nitrito (N – NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e nitrogênio de nitrato (N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (média ± desvio padrão) nos pontos de coleta calculado ao longo dos 12 últimos dias da primeira etapa de cultivo. Pontos de coleta: 1 (meio do tanque); 2 (saída do tanque); 3 (saída reator desnitrificante); 4 (saída sedimentador/ retorno).

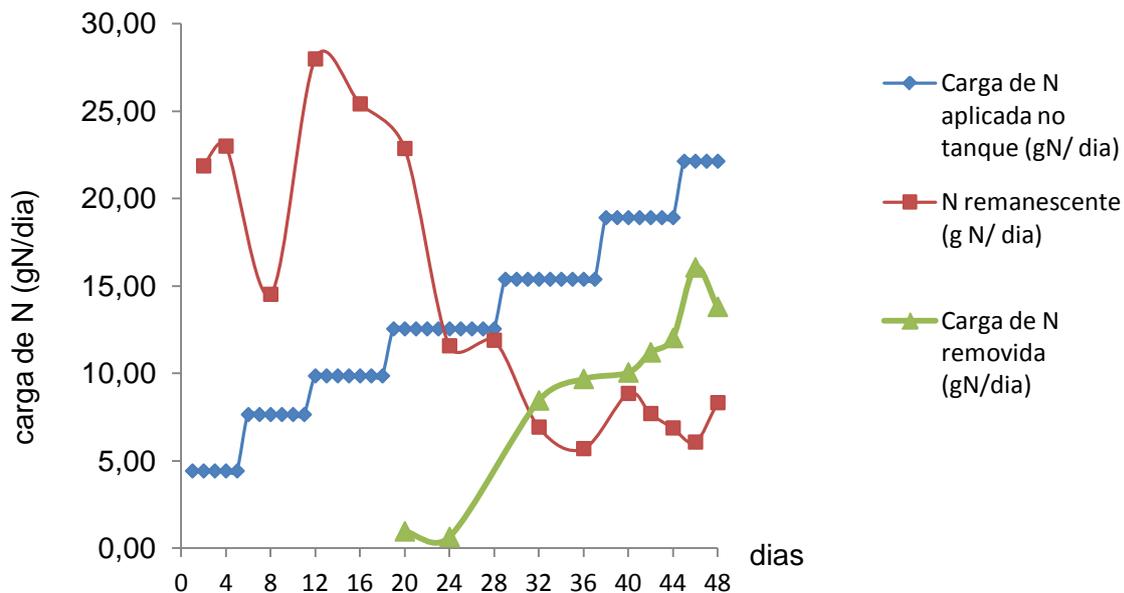
	(mg/ L)	(mg/ L)	(mg/ L)	(mg/ L)
Pontos	1	2	3	4
N – NH <sub>4</sub>	0,34 ± 0,11	0,18 ± 0,06	0,18 ± 0,12	0,06 ± 0,03
N – NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1,74 ± 0,51	1,98 ± 0,6	0,92 ± 0,67	0,95 ± 0,66
N – NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	9,32 ± 1,46	10,74 ± 2,4	4,93 ± 4,32	5,83 ± 3,01

Assim como a amônia, o nitrito esteve abaixo do valor máximo recomendado por Lin e Chen (2003) que compreende a faixa de 6,1 a 15,2 mg N-NO<sub>2</sub>/L para salinidade de 15000 à 25000 ppm. O comportamento do nitrito é preocupante em sistemas de cultivo intensivo com zero renovação de água. Frequentemente o estabelecimento de bactérias oxidadoras de amônia no tanque, causa um acúmulo desse composto podendo gerar altos índices de mortalidade, de 75% do seu berçário cultivado em bioflocos, como foi verificado por Ray, Dillon et al. (2011) em seu experimento, e também observado por Krummenauer (2012), que obteve 100% de mortalidade em um tanque de bioflocos com 0% de renovação de água.

Outro dado observado na tabela 14 anteriormente é que a maior parte do nitrogênio medido se encontrava na forma de nitrato não sendo preocupante no que diz respeito a toxicidade para camarões.

A Figura 25 a seguir, apresenta as cargas nitrogenadas aplicada com a ração, calculado com a fórmula da Equação (1), bem como o computo da carga nitrogenada remanescente no sistema, calculada a partir da concentração do nitrogênio no retorno ao tanque utilizando os dados do ponto (4). Para melhor visualizar, a carga nitrogenada removida, calculada pela diferença das cargas aplicada e remanescente, também é apresentada na figura.

Figura 25: Cargas nitrogenadas aplicada, remanescente e removida no sistema na primeira etapa de cultivo.



Analisando o gráfico anterior é observado que até o 20º dia de operação, a carga remanescente ainda era maior do que a carga removida, isso é devido a quantidade de nitrogênio remanescente das etapas anteriores, principalmente nitrogênio de nitrato como pode ser visto na Figura 24 (pág.78) anteriormente.

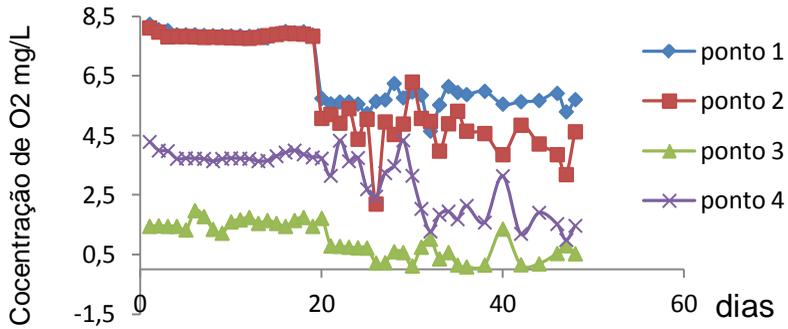
A partir desse dia o sistema começa a operar na sua normalidade removendo somente a carga de nitrogênio provida da entrada da ração. A partir do 30º dia de operação a vazão do sistema foi aumentada de 12,5 para 48 L/h. Isso porque nesse dia foi medido no tanque uma concentração de 0,25 g SSV/L, elevando a turbidez da água e podendo influir no resultado da conversão alimentar do camarão, uma vez que eles se alimentam de flocos microbianos além de ração. Esta operação permitiu que boa parte os sólidos sedimentáveis presentes no tanque migrassem para o sedimentador removendo-os do mesmo.

O aumento da vazão diminuiu os tempos de retenção hidráulica dos componentes do sistema. O reator de desnitrificação passou a operar com um TRH de 25 min, apresentando um comportamento oscilatório ao longo dos dias conforme a carga de nitrogênio era aumentada, no entanto, pode-se perceber no gráfico anterior (Figura 25) um aumento da remoção de nitrogênio mesmo depois de diminuir o TRH do sistema.

Com o aumento da recirculação, não precisou ser alterado a quantidade de acetato de sódio adicionado para a desnitrificação, mantendo uma vazão constante de 840 mg  $\text{CH}_3\text{COONa/h}$  do início ao fim do experimento. Através do aumento da recirculação foi verificada a diminuição da concentração de sólidos no tanque, de 0,25 para 0,12 g SSV/L. Contudo a eficiência média diária de remoção de nitrogênio N no sistema entre os dias 40 e 48 foi de  $62,2 \% \pm 7\%$ .

A seguir é mostrado na Figura 26, o gráfico dos valores de concentração de oxigênio ao longo do tempo e a Tabela 15 com dados médios dos parâmetros físico-químicos avaliados ao longo da primeira etapa.

Figura 26: Valores da concentração de oxigênio ao longo da primeira etapa de cultivo nos pontos de coleta.



Na Tabela 15 á seguir, é mostrado os valores médios nos 14 dias finais do experimento com relação à concentração de oxigênio dissolvido, pH e temperatura nos pontos de amostragem.

Tabela 15: Valores médios do acompanhamento das concentrações de oxigênio dissolvido, pH e temperatura (média  $\pm$  desvio padrão) nos pontos de coleta do sistema calculado nos últimos 14 dias. (1) (meio do tanque); (2) (saída do tanque); (3) (saída reator desnitrificante); (4) (saída sedimentador/ retorno).

	(1)	(2)	(3)	(4)
O <sub>2</sub> (mg/L)	5,69 $\pm$ 0,25	4,41 $\pm$ 0,63	0,45 $\pm$ 0,40	1,76 $\pm$ 0,60
pH	8,26 $\pm$ 0,07	8,24 $\pm$ 0,03	8,21 $\pm$ 0,05	8,21 $\pm$ 0,07
T (°C)	28,40 $\pm$ 0,22	27,31 $\pm$ 1,03	28,04 $\pm$ 0,96	27,03 $\pm$ 1,62

Na tabela anterior é observado que, em média, o oxigênio dissolvido no tanque (1), quando o processo estava estabilizado, permaneceu na zona de conforto para o cultivo de camarões, acima de 5mg/L, conforme descrito por Zhang (2006). (Naturalmente o oxigênio dissolvido foi diminuindo ao longo do cultivo como pode ser visto na Figura 26 (pág. 84), devido ao aumento da biomassa no sistema).

Observa-se que a média do oxigênio no efluente do reator de desnitrificação se manteve em níveis que são considerados inibitórios ao processo. No entanto, as condições de trabalho não permitiam medir o oxigênio dissolvido dentro do floco bacteriano aderido no suporte, local onde provavelmente as condições de oxigênio eram propícias para que acontecesse a desnitrificação.

Observa-se na Tabela 15 anteriormente, que o pH se manteve entre valores que permitem a realização dos processos de nitrificação e a desnitrificação de acordo com Schmidell e Reginato (2005), além de manter o sistema com baixa porcentagem de amônia tóxica como foi exemplificado na Figura 7 (pág.36).

A temperatura se manteve próximo a 28 °C no tanque e no reator desnitrificante com pequenos desvios como pode ser visto na Tabela 15 anteriormente. Esse valor se encontra dentro da faixa indicada para os processos de nitrificação e desnitrificação descrito por Schmidell e Reginato (2005). Poli et. al (2004) indicam que nessa temperatura o camarão mantém seu metabolismo ativo com pré-disposição para comer a ração ofertada.

No 50° dia de operação uma queda de luz no laboratório fez com que fosse desligada a aeração do sistema. Assim que o gerador de energia foi acionado a mangueira de aeração se rompeu, fazendo com o que a troca de oxigênio para o meio líquido fosse muito pequena levando os camarões a óbito por hipoxia.

Dez dias antes, a biometria feita no tanque revelou um peso médio de 7,41g. No período de 39 dias os camarões engordaram 5,93g, aumentando seu peso em média 1,06 g/ semana, valor semelhante ao encontrado por Samocha et al (2007).

Nesse período foi repostado 100,2 L de água perdido por evaporação e em nenhum momento houve renovação de água.

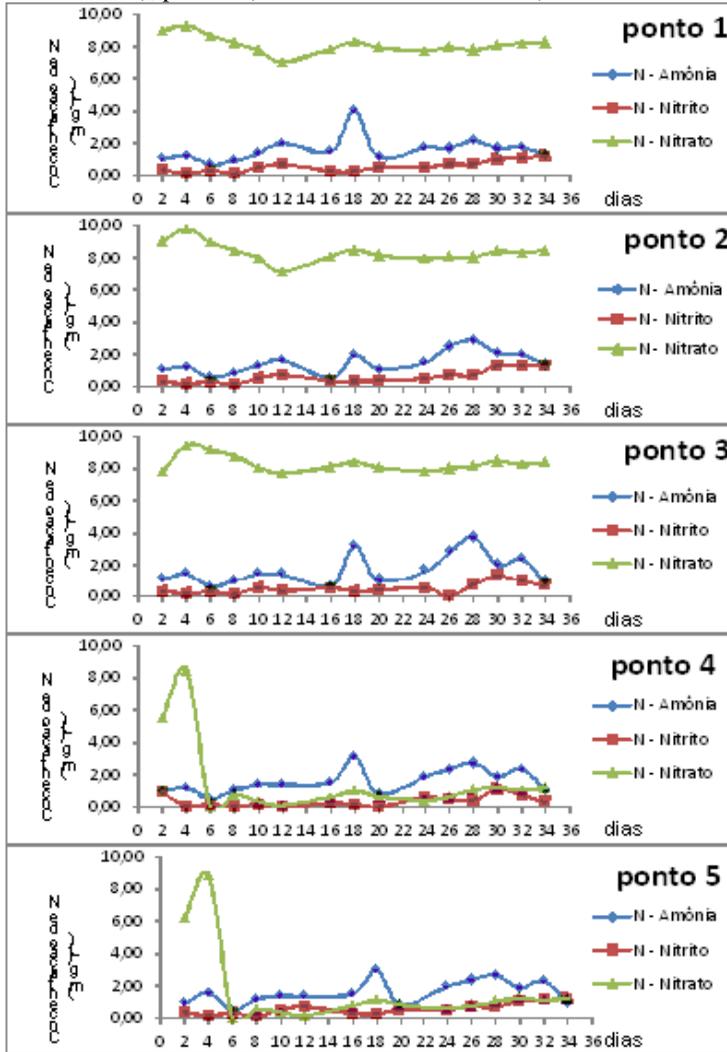
#### 4.5 SEGUNDA ETAPA DO CULTIVO

Devido ao óbito dos camarões antes que estes atingissem um peso considerado comercial, decidiu-se promover um novo cultivo com camarões de tamanho aproximadamente igual ao do termino da primeira

etapa (7 g) e prosseguir até que atingissem o tamanho comercial (13 g). Cumpre lembrar, como descrito no item 3.2.1 que a água utilizada para a segunda etapa do cultivo foi a mesma utilizada na primeira etapa, adicionados os 100,2 L de reposição da água evaporada, mantendo o mesmo volume de água no tanque da etapa anterior. Não houve qualquer descarte de água do sistema a menos daquela contida no decantador e no reator de desnitrificação, para efeitos do computo dos sólidos gerados durante o cultivo.

A seguir são mostrados na Figura 27 os gráficos do acompanhamento do comportamento nitrogênio no sistema ao longo do tempo na segunda etapa do cultivo. Os valores experimentais das concentrações desses compostos que geraram estes gráficos encontram-se no Anexo 2.

Figura 27: Acompanhamento das concentrações da amônia, nitrito e nitrato ao longo da segunda etapa do cultivo: ponto 1 (tanque de cultivo); ponto 2 (saída do tanque); ponto 3 (saída do decantador); ponto 4 (saída reator desnitrificante); ponto 5 (saída do reator ultra violeta).



Analisando a figura anterior é possível identificar claramente duas áreas distintas no sistema: Uma área de nitrificação representado pelos pontos 1, 2 e 3, em que é possível verificar uma maior

concentração de nitrato, e uma área de desnitrificação representada pelos pontos 4 e 5, onde é apresentada uma baixa concentração de nitrato.

Abaixo é mostrado a Tabela 16 com a média dos compostos nitrogenados a partir do 10º dia de cultivo.

Tabela 16: Média de compostos nitrogenados, nitrogênio de amônia (N-Amônia), nitrogênio de nitrito (N-Nitrito) e nitrogênio de nitrato (N-Nitrato) (média  $\pm$  desvio padrão) calculado a partir do 10º dia nos pontos de coleta do sistema de cultivo da segunda etapa: 1(meio do tanque); 2(saída do tanque); 3 (saída decantador); 4( saída desnitrificante); 5( saída u.v/ retorno).

pontos	N-Amônia (mg/L)	N-Nitrito (mg/L)	N-Nitrato (mg/L)
1	1,86 $\pm$ 0,78	0,69 $\pm$ 0,1	7,88 $\pm$ 0,34
2	1,71 $\pm$ 0,66	0,76 $\pm$ 0,38	8,07 $\pm$ 0,37
3	1,92 $\pm$ 0,99	0,58 $\pm$ 0,35	8,13 $\pm$ 0,24
4	1,85 $\pm$ 0,71	0,69 $\pm$ 0,34	0,76 $\pm$ 0,38
5	1,84 $\pm$ 0,69	0,69 $\pm$ 0,32	0,84 $\pm$ 0,36

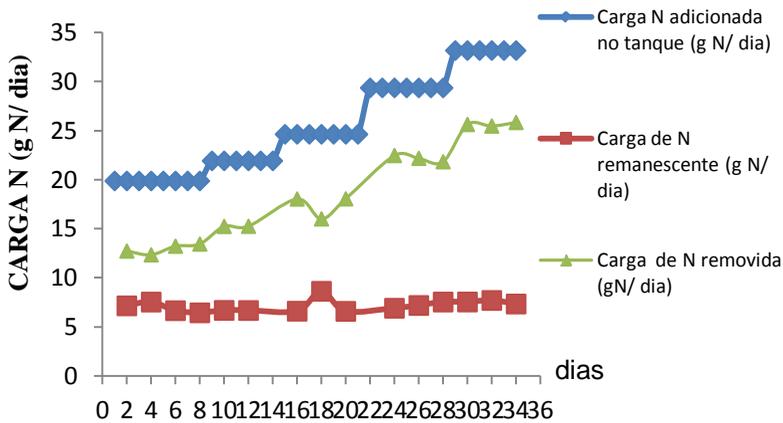
Analisando a tabela acima verifica-se que amônia se manteve em níveis seguros de sobrevivência para o camarão, a concentração máxima medida no tanque foi de 0,09 mgN-NH<sub>3</sub>/L, calculado a partir dos dados de amônia, pH e temperatura dispostos no Anexo 2, sendo 13,3 vezes menor que o nível recomendado por Lin e Chen (2001).

O nitrito não apresentou nível tóxico para o camarão, e também não foi verificado nenhum pico desse composto foi verificado ao longo do cultivo, sendo isso uma vantagem em sistemas de cultivo intensivo, como visto anteriormente no item 4.4, o acúmulo desse composto pode alcançar índices de 100% de mortalidade no tanque.

Da mesma forma apresentada na Figura 25 (pág. 76) para o a primeira etapa do cultivo, a Figura 28 a seguir apresenta as cargas nitrogenadas aplicada ao sistema em função da ração, bem como o computo da carga nitrogenada remanescente no sistema e a carga nitrogenada removida.

Percebe-se que o processo de remoção do nitrogênio ocorreu em todo o tempo do cultivo. A partir do 4º dia verificou-se uma estabilidade na remoção do nitrogênio com uma eficiência média de 71,28  $\pm$  5,28%, mostrando rapidez na recuperação da estabilidade do sistema.

Figura 28: Cargas nitrogenadas aplicada, remanescente e removida no sistema na segunda etapa de cultivo.



Essa rápida recuperação é devido ao uso da mesma água do cultivo anterior e da atividade dos microrganismos nitrificantes e desnitrificantes já estabelecidos no sistema. Isso mostra que além de economizar água e energia para um novo cultivo, o período de estabilização do processo de remoção de nitrogênio é quase instantâneo diminuindo o tempo de posta em marcha do sistema, aumentando a produtividade anual de cultivo de camarões. Na fase de preparação do tanque para um cultivo em sistema de bioflocos é adicionado microalgas, meio de cultura e uma fonte de carbono orgânico para estimular bactérias heterotróficas, em um período de 7 e 15 dias para então receber o camarão como descrito nos trabalhos de Vilani (2011) e Arantes (2007).

A seguir é mostrado na Tabela 17 as médias do oxigênio, temperatura e pH a partir do 11º dia de cultivo.

Tabela 17: Valores médios do acompanhamento das concentrações de oxigênio dissolvido, pH e temperatura (média  $\pm$  desvio padrão) nos pontos de coleta do sistema a partir do 11º dia de cultivo da segunda etapa: 1(meio do tanque); 2(saída do tanque); 3 (saída decantador); 4( saída desnitrificante); 5( saída u.v/ retorno).

Ponto	O <sub>2</sub> (mg/L)	pH	Temperatura (°C)
1	5,98 $\pm$ 0,38	8,27 $\pm$ 0,1	28,95 $\pm$ 0,41
2	5,05 $\pm$ 0,49	8,25 $\pm$ 0,1	28,55 $\pm$ 0,85
3	3,10 $\pm$ 0,60	8,26 $\pm$ 0,1	28,41 $\pm$ 1,24
4	0,51 $\pm$ 0,41	8,25 $\pm$ 0,1	29,03 $\pm$ 1,23
5	1,38 $\pm$ 0,54	8,27 $\pm$ 0,1	28,71 $\pm$ 1,65

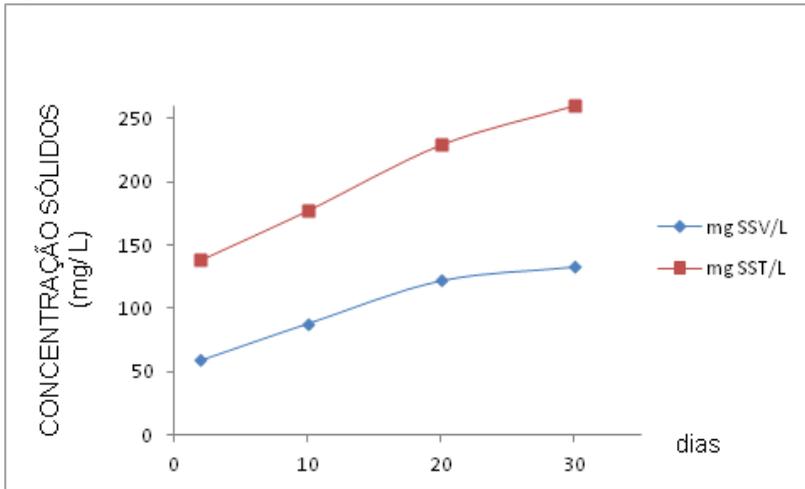
Na tabela anterior é observado que o oxigênio no tanque (1) continuou em níveis de conforto para o camarão (Zhang, 2006). O pH apresentou um pequeno aumento em todos os pontos em relação ao cultivo anterior, devido a maior remoção de nitrogênio nessa etapa houve um aumento da eficiência de desnitrificação, a qual devolve metade da alcalinidade gasta pelo processo de nitrificação como visto na Equação (21). No presente trabalho não foi necessário corrigir a alcalinidade que se manteve no tanque na média de  $232 \pm 16,65$  mg CaCO<sub>3</sub>/ L durante todo o experimento, diferente de outros cultivos que necessitam dessa correção (SCHVEITZER 2012).

No 18º dia foi feita uma purga no decantador de 30 litros como forma de manejo. O lodo continha  $11,51 \text{ g} \pm 0,5 \text{ gSST/L}$  e  $5,56 \pm 0,05 \text{ gSSV/L}$ .

#### 4.5.1 Acompanhamento da produção de Sólidos do sistema

A seguir, é mostrado na Figura 29 o comportamento dos sólidos no tanque de cultivo.

Figura 29: Comportamento do sólidos no tanque de cultivo ao longo da segunda etapa do cultivo.



Analisando o gráfico anterior é possível perceber um aumento gradativo da concentração de sólidos no tanque, que pode ser justificada devido ao aumento da quantidade ração e o crescimento do camarão. A média de sólidos no tanque calculada ao longo do cultivo foi de  $100 \pm 33,65$  mg SSV/L e  $201 \pm 54,19$  mgSST/L. Esta concentração de sólidos é uma resultante do crescimento celular das bactérias nitrificantes e desnitrificantes, dos resíduos de ração não ingerida pelos camarões e das fezes produzidas pelos mesmos, em conjunto com os sólidos retidos no decantador.

Para computar os sólidos retidos no decantador, fez-se a drenagem do mesmo ao final do experimento. Até então, não houve qualquer outro descarte de sólidos do sistema. A quantidade de sólidos retida do sistema no decantador durante o cultivo pode ser vista na Tabela 18 a seguir.

Tabela 18: Contabilização de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) medidos na purga do decantador na segunda etapa do cultivo (média  $\pm$  desvio padrão) realizada no 18º dia e ao final do cultivo.

	Purga 18º	Final do cultivo
Volume drenado (L)	30	84
SST mg/L	11,5 $\pm$ 0,48	2,41 $\pm$ 0,38
SSV mg/L	5,56 $\pm$ 0,053	1,13 $\pm$ 0,042

A remoção de sólidos em relação ao volume do tanque durante as duas etapas de cultivo, no total de 12,3 semanas, foi de 575 g SST/m<sup>3</sup>, levando 355 camarões/m<sup>3</sup> de 1,37 g a 13,1 g. Um experimento muito semelhante conduzido por Ray (2010), trabalhando com sedimentador em bioflocos, cultivando camarão de 1,31 até 12 gramas, produzindo em média 328  $\pm$  39 camarões/m<sup>3</sup>, no total de 12 semanas, removeu 926 gSST/m<sup>3</sup>. Isto mostra que a quantidade de resíduos gerados no sistema utilizando o processo de nitrificação e desnitrificação gerou uma quantidade de resíduos 38% menor comparado com o cultivo em bioflocos.

A turbidez não pode ser avaliada no segundo cultivo, pois o aparelho se encontrava com defeito naquele momento. No entanto a transparência da água foi avaliada através de do disco de Secchi às 10 horas da manhã. A média dos últimos 10 dias mostra uma transparência no tanque de 65  $\pm$  3,2 cm de profundidade. Sendo o tanque utilizado de 81 cm de profundidade, foi possível observar os camarões em quase a totalidade do tanque durante toda a fase de crescimento. A Figura 30 a seguir, apresenta uma fotografia do tanque de cultivo onde se observa a elevada transparência da água.

Figura 30: Foto do tanque de cultivo mostrando a transparência da água.



Essa transparência da água é uma característica positiva desse sistema, que permite o tratador enxergar o camarão no tanque e avaliar o seu comportamento visualmente, melhorando o domínio das intempéries advindas da prática da carcinicultura. O cultivo foi realizado totalmente sem renovação de água, somente a água que foi perdida por evaporação foi reposta totalizando um volume de 100 L em todo o experimento, ou seja 1/6 do volume do tanque

#### **4.5.2 Controle de bactérias patogênicas aos camarões**

Na primeira etapa do cultivo não foi detectada a presença de microrganismos patogênicos aos camarões e, portanto, não houve a necessidade do uso do reator UV. No entanto, quando o sistema se manteve em recirculação no interstício entre o primeiro e o segundo cultivo o sistema foi infectado e detectou-se a presença de vîbrios, microrganismos patogênicos tipicamente encontrados na carcinicultura. Antes de introduzir os camarões no tanque para início do segundo cultivo ligou-se o reator UV para controle desses microrganismos.

Os resultados do controle das bactérias totais e dos vîbrios do sistema encontram-se na Tabela 19 e 20, respectivamente.

Tabela19: controle de bactérias totais (UFC/ml) no tanque durante a segunda etapa de cultivo realizados nos pontos de coleta do sistema utilizando agar marine como meio padrão de inoculação nos pontos, Pt 1(meio do tanque);Pt 2(saída do tanque); Pt 3 (saída decantador); Pt 4( saída desnitrificante);Pt 5( saída u.v/ retorno), com o reator u.v em funcionamento 24horas até o dia 10. Com o reator u.v desligado entre os dias 10 e 16. E com o reator u.v ligado novamente entre os dias 16 e 33.

Marine	dia 0 (L)	dia 10 (L)	dia 16 (D)	dia 33 (L)
Pt 1	∞	∞	∞	$7,5 \cdot 10^4$
Pt 2	∞	∞	∞	∞
Pt 3	∞	$1,32 \cdot 10^6$	$9,0 \cdot 10^3$	$7,3 \cdot 10^4$
Pt 4	∞	$1,08 \cdot 10^5$	∞	∞
Pt 5	ñ cresceu	$1,28 \cdot 10^5$	∞	$6,1 \cdot 10^4$

∞ ( inviável de contar); L (u.v ligado) ; D (u.v desligado); Pt ( pontos de coleta); ñ cresceu ( não foi observado crescimento)

Tabela 20: : controle de vibrio (UFC/ml) no tanque durante a segunda etapa de cultivo realizados nos pontos de coleta do sistema utilizando agar marine como meio padrão de inoculação nos pontos, Pt 1(meio do tanque);Pt 2(saída do tanque); Pt 3 (saída decantador); Pt 4( saída desnitrificante);Pt 5( saída u.v/ retorno), com o reator u.v em funcionamento 24horas até o dia 10. Com o reator u.v desligado entre os dias 10 e 16. E com o reator u.v ligado novamente entre os dias 16 e 33.

TCBS	dia 0 (L)	dia 10 (L)	dia 16 (D)	dia 33 (L)
Pt 1	$\infty$	$\infty$	$\infty$ v	<b><math>1,05*10^3</math> v</b>
Pt 2	$1,5*10^2$	$\infty$	$\infty$ v	$\infty$ v
Pt 3	$\infty$	$\infty$	$\infty$ v	<b><math>1,27*10^3</math> v</b>
Pt 4	$\infty$	$1,24*10^3$	$\infty$ v	<b><math>2,5*10^2</math> v</b>
Pt 5	ñ cresceu	$1,78*10^3$	$\infty$ v	ñ cresceu

V (presença de vibrio);  $\infty$  (inviável de contar); L (u.v ligado); D (u.v desligado); Pt ( pontos de coleta) ; ñ cresceu ( não foi observado crescimento)

Analisando as tabelas percebe-se que no início do experimento não foi detectada a presença de bactérias no retorno após a passagem pelo reator de ultra violeta (U.V.). No 10<sup>o</sup> dia, apesar de ter sido identificada a presença de bactérias totais em todos os pontos nos dois meios de cultura, não havia a presença de colônia de vibrio. Entre os dias 10 e 16 o u.v. foi desligado, a quantidade bactérias totais aumentou e também foi verificado uma grande quantidade de vibrio em todos os pontos . A partir desse momento o u.v foi religado, a quantidade de bactérias totais diminuiu. O vibrio esteve presente em quase todos os pontos do sistema, menos no retorno (Pt 5), indicando que o ultra violeta é um método que serve para controle do vibrio que é o principal patógeno de peneídeos.

Como pode ser observado, o uso de ultra violeta consegue controlar esse patógeno no sistema sendo interessante sua aplicação em recirculação, uma vez que o uso de antibióticos acabaria prejudicando todo processo de remoção de nitrogênio. De qualquer forma, a potencia do reator de UV deve ser melhor dimensionada para que garanta a qualidade da água desejada.

Cumprе ressaltar que a utilização deste processo de oxidação avançada, com radiações UV, só foi possível devido à baixa turbidez da água no sistema.

### 4.5.3 Desempenho zootécnico

Para melhor caracterização do sistema de cultivo utilizado foram computados os índices zootécnicos obtidos na segunda etapa do cultivo. A Tabela 21 apresenta os índices zootécnicos do camarão neste experimento.

Tabela 21: Índices Zootécnicos da segunda etapa de cultivo. Coluna da esquerda mostrando os parâmetros avaliados seguido da unidade entre parênteses e a coluna da direita mostrando o valor (média  $\pm$  desvio padrão) de cada índice avaliado.

#### Parâmetros zootécnicos

Total de ração (g)	2479
peso inicial (g)	7,1 $\pm$ 0,56
peso final (g)	13,1 $\pm$ 1,44
ganho de peso/ semanal (g/ semana)	1,23
sobrevivência (%)	92,86
conversão alimentar ( g ração/ g camarão)	2,38 $\pm$ 0,04
produtividade (kg camarão/m <sup>3</sup> )	3,38

Observando a tabela acima é visto que a sobrevivência foi de 92,86%. Schweitzer (2012), trabalhando com suportes dentro tanque num cultivo de bioflocos, obteve valor médio de 93,9% e no tratamento sem suporte obteve 42,5  $\pm$  35,9 % de sobrevivência. Ray (2010), em seu cultivo de bioflocos trabalhando sem suporte obteve valor de 71 % indicando que de alguma forma, o substrato oferece uma zona de conforto para o camarão aumentando sua sobrevivência.

A conversão alimentar depende em grande parte do manejo da ração em cada alimentação. Os baixos valores de conversão que são reportados em alguns trabalhos, sugerem técnicas avançadas de manejo para a alimentação e nesses trabalhos a quantidade de ração é ajustada a cada alimentação de forma a não sobrar nada na bandeja. Ray (2010), propondo um ajuste de ração em função da biometria, semelhante ao usado neste trabalho, obteve em média nos seus tratamentos uma conversão de 2,43  $\pm$  0,32 g ração/ g camarão. No presente trabalho a quantidade da ração foi fixada em 4% do peso medido na biometria, não se importando com a sobra de ração, a qual era devolvida para dentro do tanque. Um manejo da ração em cada alimentação certamente diminuiria

esse valor, podendo influenciar até na geração de sólidos no sistema. Certamente esta é uma variável que deve ser otimizada para um melhor desempenho do sistema utilizado.

O ganho de peso semanal nessa etapa (1,23g/ semana) foi superior ao da primeira etapa (1.02g/ semana), devido ao fato de que na faixa de 6 à 12 g o camarão apresenta um crescimento mais acelerado. Mesmo assim nas duas fases o camarão apresentou um bom crescimento, conforme comentado por Poli (2004), o qual descreve que valores acima de um 1g/sema é considerado um índice muito bom para o cultivo, levando em consideração que esse valor é referente ao cultivo semi-intensivo, o qual naturalmente o camarão tem um melhor desempenho, pois sendo estocado numa menor densidade ele tem mais espaço para crescer.

Apenas para efeitos de ilustração, a Figura 31 mostra uma fotografia dos camarões durante a biometria.

Figura 31: Foto ilustrativa durante a despesa do tanque de cultivo.



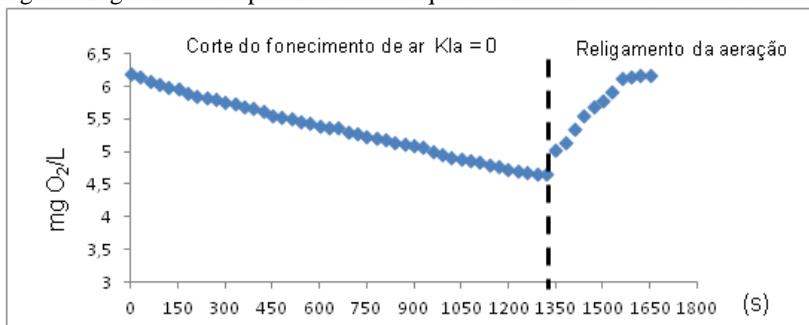
#### 4.5.4 Avaliação da velocidade de consumo de oxigênio do tanque de cultivo.

Como, além do bombeamento de água, a injeção de oxigênio, característica de um cultivo intensivo, é um fator importante na matriz energética do sistema, é importante caracterizar o mesmo em termos de

consumo de oxigênio. Este parâmetro, inerente ao cultivo de camarões, é importante para ampliação de escala do sistema utilizado.

Na Figura 32 a seguir é mostrado o gráfico do comportamento do oxigênio na respirometria realizada no tanque de cultivo no 35º dia de cultivo.

Figura 32: gráfico da respirometria do tanque realizado no 35º dia de cultivo.



A partir do gráfico é possível calcular a respiração do tanque proposto no item 3.5. Os cálculos assim como os dados estão disponível no Anexo 3.

A velocidade de respiração do tanque ( $Q_{O_2}X_c$ ) foi de 0,0012 mg O<sub>2</sub>/ s. A partir desse valor foi calculado a velocidade de respiração da biomassa do tanque, sendo essa igual 0,72 mgO<sub>2</sub>/s. A velocidade de respiração do camarão foi calculada através da relação proposta por Beet (2005), encontrando o valor de 0,24 mgO<sub>2</sub>/s.

A diferença entre os valores da velocidade de respiração da biomassa do tanque e do camarão é igual a 0,48 mgO<sub>2</sub>/s, o que representa a respiração dos microrganismos do tanque. Esse valor indica que os microrganismos respiram numa velocidade duas vezes maior que a dos camarões.

A partir dos dados apresentados verifica-se que a transferência de oxigênio é um fator decisivo para a sobrevivência dos camarões no sistema. Através da respirometria foi verificado que nesse estágio do cultivo (camarão com 13 g), 45 minutos sem o fornecimento de oxigênio é o suficiente para mata-lo por hipoxia.

Estes dados por si não são suficientes para chegar ao cálculo do volume de oxigênio a ser injetado no tanque, necessitando de outras medias para completar as informações para uma ampliação de escala e cálculos de consumo energético.

## 5. CONCLUSÃO

- É possível selecionar em meio sintético microrganismos nitrificantes e desnitrificantes proveniente do cultivo superintensivo de camarão marinho.
- Utilizando esse inóculo é possível dar o start e colocar em operação um sistema de cultivo de camarão marinho de alta densidade em circuito fechado sem renovação de água, utilizando o processo de nitrificação/desnitrificação para promover a retirada das formas nitrogenadas do sistema.
- A aplicação da luz ultra violeta se mostrou eficaz no controle de organismos patogênicos inerentes ao sistema.
- O ensaio respirométrico mostrou que os microrganismos dentro do tanque respiram duas vezes mais que o camarão.
- Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o desempenho zootécnico do camarão no sistema proposto foi semelhante aos sistemas existentes no mercado, deste modo o presente trabalho torna-se uma alternativa para cultivo superintensivo de camarão marinho.

## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O presente trabalho abre uma nova linha de pesquisa fazendo com que haja inúmeras possibilidades de investigação. Algumas possibilidades de estudos dentro da mesma linha de pesquisa seriam:

- Caracterizar melhor os microrganismos nitrificantes e desnitrificantes do cultivo de camarão marinho, fazendo a determinação dos parâmetros cinéticos, identificando os microrganismos através de técnicas biomoleculares, de forma a manter uma cultura que possa ser utilizada em experimentos futuros.
- Avaliar melhor as estratégias de manipulação e tratamento do lodo para otimizar o processo de desnitrificação e promover o tratamento adequado do único resíduo advindo deste sistema.
- Otimizar o manejo da ração de forma diária afim de otimizar a conversão alimentar e a geração de sólidos.
- Determinar o coeficiente de transferência de oxigênio( $K_La$ ) no tanque e obter índices para ampliação de escala e cálculos de consumo energético do sistema.
- Fazer uma avaliação econômica e determinar o custo de produção do camarão neste sistema.

## REFERÊNCIAS

ABREU, L. M. Aspectos microbiológicos de lo processo de nitrificación desnitrificación, In: III Taller Y Seminario Latino Americano: Tratamiento Anaerobio de Águas Residuales, p. 55-64. Montevideu, Uruguai. 1994.

APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21h. **American Public Health Association**. Washington, 2005.

ARANTES, R. **O efeito da relação Carbono-Nitrogênio sobre a comunidade microbiana no cultivo super-intensivo de *L. vannamei* sem renovação**. Dissertação de Mestrado do Curso de Aqüicultura. Florianopolis: UFSC, 2007.

AYGUN, A.; NAS, B.; BERKTAY, A. Influence of high organic loading rates on COD removal and sludge production in moving bed biofilm reactor, **Environmental Engineering Science**, v. 25, n. 9, 2008. pp. 1311-1316.

BARNES. D.; BLISS, P. J. Biological control nitrogen in wastewater treatment. **E. & F. N. Spon**, Cambridge, Great Britain, 1983.

BITTON, G. Wastewater microbiology. **John Wiley & Sons, inc. Publication**. 1994.

BOYD, C.E. Pond water aerations systems. Aquaculture engineering. 18. P. 9-40, 1998.

CAMPBELL, J. Nitrogen excretion. In: C.L. Prosser, ed. Comparative Animal Physiology. W. B. Saunders, Philadelphia. 1973. p. 279 – 316.

CHEN, S. Aquacultural waste management. *Aquaculture Magazine*, v.24, p.63-69, 1998.

CHEN, S.; SUN, D.; CHUNG, J. Treatment of pesticide wastewater by movingbed biofilm reactor combined with fenton-coagulation pretreatment, **Journal of Hazardous Materials**, v. 144, 2007. pp. 577-584.

COLT, J.; ARMSTRONG, D. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks. In: L, Allen and E. Kinney, eds. *Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture*. Fish Culture Section of the American Fisheries Society, Bethesda, Mariland, USA. 1981. 34 – 47.

COLT, J.; TCHOBANOGLOUS, G. Evaluation of the short-term toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 1976. 8(3): 209 – 224.

COSTA, F. S. *et al.* **Fundação técnica quanto à utilização de tilápias em águas salobras**. Congresso Latino Americano de Ciências do Mar. COLACMAR, 2007. Florianópolis/SC.

CUERVO-LÓPEZ, F. et al Principles of denitrifying processes. In: *Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principle and Engineering*. **IWA Publishing**. London, 2009.

DE SCHRYVER, P. *et al.*, The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture, **Aquaculture** 277, 125–137, 2008.

DRYSDALE, G. D., KASAN, H.C.; BUX, F. Assessment of denitrification by the ordinary heterotrophic organisms in an NDBEPR activated sludge system. **Wat. Sci. Tech.** n. 43, v.1, 2001, pp. 147-154.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 257, n. 1-4, p. 346-358, Jun 30. 2006.

EPA – U.S. Environmental Protection Agency – **Technology Transfer. Process design manual for nitrogen control.** Washington, 1975.

\_\_\_\_\_. Nitrogen Control EPA/625/R-93/010. 1993

FERREIRA, E. S. Cinética química e fundamentos dos processos de Nitrificação e desnitrificação biológica. **27º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental.** 2000 Las Américas y la Acción por el Medio Ambiente en el Milenio, ABES.

FERRETI, E. C. **Remoção de nitrogênio via nitrito de efluentes com elevadas concentrações de nitrogênio e baixas relações dqi/n em reator operado na forma de bateladas sequenciais (SBR).** Tese de Doutorado. Florianópolis: UFSC, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) 2013. **Fishery Information, Data and Statistics Unit.** FishStat plus: universal software for fishery statistical time series. Rome. Disponível <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>. Acesso em: 12 jan. 2013.

GONÇALVES, R.F. et al. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios.** Capítulo 4 – Pós-Tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. PROSAB 2, p.171-278, 2001.

HAMMOUDA, O.; GABER, A.; ADBEL-HAMMED, M.S. Assessment of the effectiveness of treatment of waste-water-contaminated aquatic systems with *Lemna gibba*. **Enz. Microb. Technol.**, v.17, p.317-323, 1995

HARGREAVES, J. A. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. **Aquaculture**, v. 166, n. 3-4, p. 181-212, Jul. 1998.

HENZE, M.; et al. Wastewater treatment – Biological and chemical process. **Springer Verlag**. 2ed. Alemanha: 1997.

HEM, L.J., RUSTEN, B., ØDEGAARD, H. 1994, Nitrification in a moving bed biofilm reactor. **Water Research**, v. 28, n. 6, pp. 1425-1433.

INLAND CARCINICULTURA MARINHA NOS EUA. **Fish-journal**. Disponível em: <http://www.fish-journal.com/2011/03/inland-marine-shrimp-farming-in-usa.html>. acesso em: 8 jan. 2013.

JAHREN, S, J; RINTALA, J, A; ODEGAARD, H. Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions. **Water Research**, Vol 36, 2002. pp 1067-1075

JETTEN, M.S.M.; et al. (1999). The anaerobic oxidation of ammonium. **FEMS Microbiology Reviews**, v.22, pp. 421-43.

KINNE, P. N. et al. Characterization of intensive shrimp pond effluent and preliminary studies on biofiltration. **North American Journal of Aquaculture**, v. 63, n. 1, p. 25-33, Jan. 2001.

KORMANIK, G.; CAMERON, J. Ammonia excretion in animals that breathe water: a review. *Mar. Biol. Lett.* 1981. 2:11-23.

KRUMMENAUER, D. et al. Cultivo de camarões marinhos em sistema de bioflocos: análise da reutilização da água. **Atlântica**: Rio Grande, v. 34, n.2. 2012.

LAZAROVA, V.; MANEM, J. Advances in biofilm aerobic reactors ensuring effective biofilm activity control. **Water Science and Technology**, v.29 n°10-11, p.319-327, 1994.

LEITE, D. C. **Remoção conjunta de carbono e nitrogênio de dejetos desuínos pelo processo de nitrificação e desnitrificação**. Dissertação de Mestrado. UFSC: Florianópolis, 2007.

LIN, Y.C., CHEN, J.C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of experimental Marine Biology and Ecology**. n. 259. p. 109–119. 2001.

LIN, Y & J CHEN. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224: 193-201

LUCENA, J.P. O mar de dentro (2011). Disponível em: <http://www.wvagencia.com.br/comunidade/blog/home/id/85/idCat/111>. Acesso em: 8 jan. 2013.

MADIGAN, T.M.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. Brock biology of microorganism. 8 ed. New York: Prentice Hall, 1997.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2010.

MATEJU, V., et al. Biological water denitrification review. **Enzyme and Microbial Technology**. n.14, pp170-183, 1992.

MARTIN, M.A **Eliminación de nutrientes mediante proceso de biopelícula empleando ciclos de aeración** : Lechos fluidizados y lechos móviles. Tesis. Universidad de Valladolid, 2007. 273p.

METCALF, EDDY . **Wastewater Engineering: Treatment, disposal and reuse.** 4 ed. New York: McGraw Hill, 2003.

MINEGATTI, D. V. O. **Caracterização dos Parâmetros de Controle e Avaliação de Desempenho de um Reator Biológico com Leito Móvel.** (MBBR). XII, 91p. COPPE/UFRJ, 2008.

MINISTERIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). 2010. Produção Pesqueira e Aquícola 2008 e 2009. **Ministério da Pesca e Aquicultura,** Governo Federal, Brasil.

MOHEDANO, R. A. Tratamento de efluentes e produção de alimento, em cultivo de tilápias (*Oreochromis niloticus*), através da macrófita aquática *Lemna valdiviana* (Lemnaceae). 2004. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)–Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MORALES, J C. *Acuicultura marina animal.* 3ª edição, Ed. Edgard Blucher, São Paulo, 196p. 1991.

NOVOZYMES BIOLOGICALS, INC., SALEM, VA; **Consortium of nitrifying bacteria,** No: US 7407793 B2; AGO. 05/ 2008

OAS. **Fazenda de Camarão Valença.** Disponível em:  
Acesso em: 15 jan. 2013.

ØDEGAARD, H. Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process. **Wat. Sci. Technol.** Vol 53 (9), 2006. pp. 17-33.

ORON, G.; WILDSCHUT, L. R.; PORATH, D. Waste water recycling by duckweed for protein production, and effluent renovation. *Water Science and Technology*, Oxford, v. 17, p. 803-817, 1984.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S.. “Microbiologia”. V. 2. Ed. McGraw Hill, São Paulo. 1981.

POLI, C. R. et al. **Aquicultura**: experiencias brasileiras. Florianopolis: Multitarefa, 2004.

RAY, A. J. et al. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. **Aquaculture**, v. 299, n. 1-4, p. 89-98, Feb. 2010.

RAY, A. J., K. S. Dillon, et al. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. **Aquacultural Engineering** **45**: 127-136. 2011.

RUSTEN, B. et al. “Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors”, *Aquacultural Engineering*, v. 34, n. 3, 2006. pp. 322-331.

SALVETTI, R.; AZZELLINO, A.; CANZIANI, R.; BONOMO, L. Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors, **Water Research**, v. 40, n. 15, 2006. pp. 2981-2993

SAMOCHA, T. M., S. Patnaik, et al. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering** **36**. p. 184-191. 2007..

SCHMIDELL, W. Agitação e Aeração em Biorreatores. In: SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**, v. 2, Edgard Blücher.,pp. 277-331, 2001.

SCHMIDELL, W.; SPILLER, V. R. **Processos de Eliminação de Nitrogênio, V Curso de Tratamento Biológico de Resíduos**, Florianópolis, 2005.

SCHMIDELL, W.; REGINATTO, V. Processos de Eliminação de Nitrogênio. In: SCHMIDELL, W; et al. **Tratamento Biológico de Resíduos**. Florianópolis: 2007.p. 449-508.

SCHNEIDER, E. E. **Avaliação de um reator de leito móvel com biofilme para tratamento de efluente da indústria do petróleo, com posterior ozonização acoplada a carvão ativado granular com biofilme**. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2010.

SCHUUR, A. M. Evaluation of biosecurity applications for intensive shrimp farming. **Aquacultural Engineering**, v. 28, n. 1-2, p. 3-20, Jun. 2003.

SCHVEITZER, R., R. Arantes, et al. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquacultural Engineering**. 2012.

SEIFFERT, W. Q. et al. Enfermidades, uma oportunidade para repensar o cultivo de camarões. **Revista Panorama da Aquicultura**. n. 97. P 32. 2006.

SILVEIRA, F. et al. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina 2007**. Florianópolis, EPAGRI, 2008.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. 1995 Limnologia Aplicada à Aqüicultura. **Boletim Técnico** número1, FUNEP, Jaboticabal, SP. 70p.

TACON, A. G. J.; PHILLIPS, M. J.; BARG, U. C. Aquaculture Feeds and the Environment - the Asian Experience. **Water Science and Technology**, v. 31, n. 10, p. 41-59, 1995.

UNIVERSITY OF MARYLAND BALTIMORE COUNTY; **Methods for conversion of fish wast from aquaculture systems to methane via a modiefied uasb reactor**; fev. 2011.

VALDERRAMA, L. T. et al. Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalgae *Chlorella vulgaris* and the macrophite *Lemna minuscula*. **Water Research**, v. 36, n. 17, p. 4.185-4.192, oct. 2002.

Von SPERLING, M. **Princípio do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Lodos Ativados**. v. 4. 2ª edição. Belo Horizonte: FCO, 1996.

WHITFIELD, M. The hydrolysis of ammonium íons in seawater, a theoretical study. *J. Mar. Biol. Ass. UK*, 54, 1974. p. 565-80

WIESMMAN, U. Biological nitrogen removal from wastewater. In: Fletcher, A..**Ed Advances in biochemical engineering**. Berlin Springer Verlag. v.51, pp.113-154.1994.

WOLFF, D. B., J. C. Ochoa, et al. Nitrification in hybrid reactor with a recycled plastic support material. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 243-248. 2005.

YUAN, L. et al. Identification of a WSSV neutralizing scFv antibody by phage display technology and in vitro screening. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 72, n. 2, p. 93-99, Oct 17. 2006.

ZDRADECK, Cristiane Pereira. **Seleção de linhagens oxidadoras de amônio e remoção de nitrogênio via nitrito em reator descontínuo alimentado (SB), sob condições de limitação de oxigênio.** Florianópolis 2005. p.197.

## ANEXO 1

Tabela de concentrações de N – NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nos pontos de coleta primeira etapa de cultivo

dias	1 (mg/L)	2 (mg/L)	3 (mg/L)	4 (mg/L)
2	0,56	0,36	0,22	0,07
4	0,24	0,23	0,21	0,10
6	0,28	0,32	0,07	0,13
8	0,14	0,23	0,19	0,03
10	0,44	0,33	0,17	0,16
12	0,28	0,24	0,11	0,10
14	0,27	0,21	0,26	0,17
16	0,24	0,19	0,19	0,10
18	0,44	0,25	0,39	0,20
20	0,31	0,17	0,17	0,15
22	0,18	0,12	0,10	0,09
24	0,16	0,16	0,14	0,12
26	0,15	0,11	0,09	0,05
28	0,27	0,17	0,13	0,10
30	0,50	0,15	0,08	0,03
32	0,25	0,09	0,02	0,02
34	0,12	0,12	0,09	0,07
36	0,25	0,14	0,09	0,05
38	0,23	0,13	0,07	0,03
40	0,35	0,20	0,15	0,04
42	0,40	0,15	0,43	0,10
44	0,22	0,13	0,19	0,06
46	0,49	0,27	0,18	0,09
48	0,47	0,27	0,18	0,04

Tabela de concentrações de N – NO<sub>2</sub><sup>-</sup> nos pontos de coleta primeira etapa de cultivo

dias	1 (mg/L)	2 (mg/L)	3 (mg/L)	4 (mg/L)
2	0,70	0,71	0,53	0,53
4	2,71	2,67	2,10	1,88
6	1,95	1,95	1,56	1,60
8	1,78	1,69	1,42	1,43
10	1,05	1,08	0,94	0,98
12	1,46	1,49	1,43	1,44
14	3,49	3,42	3,80	3,35
16	2,49	1,77	1,96	0,97
18	2,28	2,72	0,51	0,93
20	2,03	1,99	1,23	0,88
22	1,75	1,23	1,10	0,65
24	1,46	1,40	1,23	0,93
26	1,87	1,79	1,47	0,93
28	2,40	2,11	2,05	1,77
30	2,84	2,30	1,95	1,30
32	3,15	2,38	3,29	3,75
34	1,37	0,56	0,18	1,44
36	0,63	0,85	0,46	0,40
38	2,15	2,10	2,42	2,39
40	1,88	2,05	0,68	0,58
42	1,99	2,82	0,65	0,83
44	1,95	1,77	0,78	0,7345
46	1,66	1,98	0,69	0,9234
48	1,93	2,26	0,76	0,81254

Tabela de concentrações de N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos pontos de coleta primeira etapa de cultivo

dias	1 (mg/L)	2 (mg/L)	3 (mg/L)	4 (mg/L)
2	32,94	33,40	34,67	31,31
4	33,12	38,48	36,93	26,59
8	19,97	20,51	33,40	32,94
12	42,83	45,28	25,59	33,40
16	37,30	32,49	30,31	36,21
20	34,48	35,75	14,16	21,87
24	17,25	16,43	4,00	6,36
28	16,70	19,06	5,82	3,82
32	7,81	2,19	3,09	nd
36	8,08	15,89	8,18	6,90
40	12,26	8,90	4,82	1,73
42	10,26	8,72	nd	3,64
44	8,63	9,26	8,90	9,35
46	7,72	13,80	2,64	3,00
48	10,90	11,17	8,18	7,27

Tabela de concentrações de Oxigênio dissolvido (mgO<sub>2</sub>/ L ) nos pontos de coleta primeira etapa de cultivo

dias	ponto 1	ponto 2	ponto 3	ponto 4
1	8,24	8,12	1,45	4,29
2	8,06	7,98	1,47	4
3	8,03	7,82	1,45	3,98
4	7,89	7,83	1,45	3,72
5	7,89	7,83	1,33	3,74
6	7,89	7,82	1,98	3,73
7	7,87	7,8	1,78	3,72
8	7,86	7,81	1,35	3,64
9	7,86	7,8	1,22	3,72
10	7,85	7,79	1,6	3,74
11	7,85	7,78	1,67	3,73
12	7,84	7,77	1,75	3,72
13	7,86	7,8	1,55	3,64
14	7,78	7,86	1,65	3,66
15	7,93	7,9	1,55	3,81
16	8	7,94	1,45	3,93
17	7,96	7,93	1,65	4
18	7,99	7,91	1,75	3,87
19	7,88	7,84	1,45	3,77
20	5,75	5,08	1,72	3,73
21	5,57	5,21	0,79	3,15
22	5,63	4,92	0,78	4,33
23	5,63	5,41	0,75	3,64
24	5,56	4,38	0,73	3,75
25	5,24	5,05	0,72	2,7
26	5,65	2,2	0,22	2,45
27	5,7	4,96	0,23	3,24
28	6,25	4,54	0,6	3,48
29	5,77	4,89	0,57	4,34
30	5,97	6,3	0,12	3,15
31	5,86	5,08	0,75	2,04
32	4,65	4,98	1,02	1,28

33	5,53	3,98	0,36	1,84
34	6,15	4,9	0,57	1,95
35	5,95	5,32	0,15	1,69
36	5,88	4,65	0,09	2,14
38	5,99	4,57	0,15	1,58
40	5,56	3,86	1,36	3,14
42	5,64	4,85	0,16	1,2
44	5,68	4,22	0,19	1,91
46	5,92	3,86	0,54	1,53
47	5,3	3,19	0,8	0,99
48	5,71	4,63	0,53	1,47

Tabela valores de pH primeiro cultivo

<b>dias</b>	ponto 1	ponto 2	ponto 3	ponto 4
<b>1</b>	8,14	7,85	-	-
<b>2</b>	8,06	7,85	7,97	8
<b>3</b>	7,88	7,85	7,83	7,77
<b>4</b>	7,89	7,83	7,74	7,75
<b>5</b>	7,84	7,83	7,74	7,72
<b>6</b>	7,86	7,83	7,73	7,78
<b>7</b>	7,83	7,83	7,73	7,73
<b>8</b>	7,84	7,83	7,72	7,74
<b>9</b>	7,86	7,81	7,71	7,71
<b>10</b>	7,84	7,81	7,72	7,73
<b>11</b>	7,85	7,78	7,7	7,73
<b>12</b>	7,84	7,77	7,67	7,72
<b>13</b>	7,86	7,8	7,74	7,64
<b>14</b>	7,78	7,81	7,81	7,77
<b>15</b>	7,93	7,9	7,8	7,81
<b>16</b>	8	7,94	7,89	7,93
<b>17</b>	7,96	7,93	7,86	7,9
<b>18</b>	7,99	7,91	7,85	7,87
<b>19</b>	7,88	7,84	7,75	7,77
<b>20</b>	7,94	7,81	7,76	7,79

<b>21</b>	7,94	7,87	7,88	7,9
<b>22</b>	7,94	7,86	7,8	7,82
<b>23</b>	7,85	7,77	7,74	7,77
<b>24</b>	7,95	7,78	8,04	7,8
<b>25</b>	7,94	7,71	8,24	8,28
<b>26</b>	8,14	7,9	8,07	8,11
<b>27</b>	8,06	7,82	7,92	7,95
<b>28</b>	8,18	7,81	7,87	7,9
<b>29</b>	8,01	7,8	7,81	7,84
<b>30</b>	8,03	7,72	7,95	7,86
<b>31</b>	8,14	8,18	8,12	8,09
<b>32</b>	8	8,1	8,23	8,23
<b>33</b>	8,07	8,06	7,98	7,99
<b>34</b>	8,3	8,28	8,28	8,28
<b>35</b>	8,25	8,28	8,27	8,25
<b>36</b>	8,2	8,19	8,15	8,12
<b>38</b>	8,36	8,26	8,27	8,26
<b>40</b>	8,32	8,23	8,29	8,3
<b>42</b>	8,39	8,34	8,4	8,38
<b>44</b>	8,43	8,35	8,32	8,33
<b>45</b>	8,4	8,33	8,32	8,33
<b>46</b>	8,35	8,33	8,28	8,3
<b>47</b>	8,22	8,25	8,24	8,26
<b>48</b>	8,26	8,26	8,19	8,19

**ANEXO 2**

Tabela: nitrogênio ponto 1 (mg/L).

dias	N - Amônia	N - Nitrito	N - Nitrato
2	1,04	0,35	8,99
4	1,24	0,16	9,28
6	0,70	0,30	8,66
8	0,95	0,12	8,21
10	1,41	0,49	7,77
12	2,01	0,71	7,03
16	1,51	0,28	7,83
18	4,03	0,27	8,27
20	1,17	0,51	7,92
24	1,75	0,53	7,73
26	1,71	0,70	7,94
28	2,16	0,71	7,78
30	1,71	1,02	8,05
32	1,76	1,12	8,18
34	1,26	1,24	8,23

Tabela: nitrogênio ponto 2 (mg/L).

dias	N - Amônia	N - Nitrito	N - Nitrato
2	1,05	0,34	9,03
4	1,24	0,21	9,77
6	0,57	0,30	8,97
8	0,89	0,17	8,45
10	1,31	0,55	7,94
12	1,62	0,74	7,13
16	0,53	0,36	8,08
18	1,94	0,37	8,48
20	1,11	0,39	8,11
24	1,50	0,53	7,92
26	2,51	0,74	8,02
28	2,88	0,73	7,99
30	2,11	1,33	8,38
32	1,98	1,33	8,29
34	1,33	1,28	8,45

Tabela: nitrogênio ponto 3 (mg/L).

dias	N - Amônia	N - Nitrito	N - Nitrato
2	1,06	0,33	7,78
4	1,43	0,19	9,47
6	0,58	0,28	9,17
8	0,97	0,13	8,78
10	1,43	0,54	8,07
12	1,37	0,34	7,69
16	0,67	0,51	8,12
18	3,19	0,32	8,42
20	1,01	0,40	8,05
24	1,59	0,53	7,84
26	2,76	0,00	8,01
28	3,75	0,73	8,15
30	1,99	1,30	8,45
32	2,36	0,99	8,26
34	0,98	0,68	8,38

Tabela: nitrogênio ponto 4 (mg/L).

dias	N - Amônia	N - Nitrito	N - Nitrato
2	1,00	0,95	5,54
4	1,17	0,05	8,43
6	0,49	0,17	0
8	1,04	0,05	0,78
10	1,37	0,16	0,32
12	1,37	0,01	0,12
16	1,51	0,24	0,62
18	3,10	0,17	1,02
20	0,82	0,00	0,65
24	1,87	0,60	0,43
26	2,32	0,46	0,63
28	2,72	0,43	1,07
30	1,88	1,12	1,22
32	2,34	0,77	1,07
34	1,08	0,34	1,19

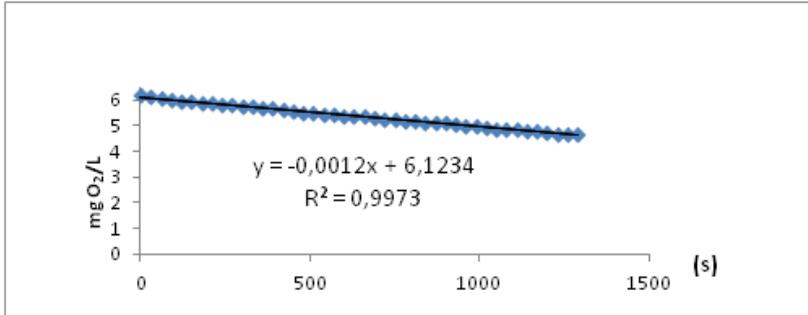
Tabela: nitrogênio ponto 5 (mg/L).

dias	N - Amônia	N - Nitrito	N - Nitrato
2	0,93	0,35	6,22
4	1,57	0,16	8,82
6	0,50	0,30	0
8	1,18	0,12	0,56
10	1,39	0,49	0,37
12	1,37	0,71	0,16
16	1,51	0,28	0,77
18	2,96	0,27	1,13
20	0,83	0,51	0,83
24	1,95	0,53	0,61
26	2,35	0,70	0,78
28	2,69	0,71	1,02
30	1,90	1,02	1,26
32	2,30	1,12	1,12
34	0,98	1,24	1,22

**ANEXO 3**

Tabela: Consumo de oxigênio em função do tempo

tempos (s)	O <sub>2</sub> mg(L)	tempos (s)	O <sub>2</sub> mg(L)
0	6,2	840	5,13
30	6,15	870	5,12
60	6,09	900	5,09
90	6,03	930	5,06
120	5,98	960	5
150	5,96	990	4,96
180	5,9	1020	4,91
210	5,86	1050	4,89
240	5,82	1080	4,86
270	5,81	1110	4,84
300	5,75	1140	4,8
330	5,73	1170	4,78
360	5,7	1200	4,73
390	5,67	1230	4,7
420	5,63	1260	4,68
450	5,56	1290	4,65
480	5,53	1320	4,65
510	5,51	1350	5,03
540	5,46	1380	5,13
570	5,43	1410	5,35
600	5,4	1440	5,55
630	5,37	1470	5,68
660	5,36	1500	5,78
690	5,3	1530	5,92
720	5,27	1560	6,12
750	5,24	1590	6,15
780	5,21	1620	6,17
810	5,18	1650	6,16

Figura 1: gráfico concentração de O<sub>2</sub> vs Tempo

$$Q_{O_2} X_c = 0,0012 \text{ mg O}_2 / \text{L s}$$

$$\text{Respiração do tanque} = Q_{O_2} X_c = 0,0012 \frac{\text{mgO}_2}{\text{L}} \cdot \text{s} \times 600 \text{ L} = 0,72 \frac{\text{mgO}_2}{\text{s}}$$

$$\text{Respiração do camarão} = -0,0281 + 0,01358 \cdot T - 0,0019 \cdot S - 0,0007 \cdot P \text{ mg O}_2/\text{gh}$$

Unidades para uso na fórmula

T = temperatura (°C) = 29,9 °C

S = salinidade (ppm) = 14000 ppm

P = peso médio do camarão = 13,1 gramas

Respiração do camarão = 0,34 mg O<sub>2</sub>/gh

Total de camarão = 195 \* 13,1 gramas = 2535 g

Respiração do total de camarões

= 0,34 mg O<sub>2</sub>/g3600s x 2535 g = 0,24 mg O<sub>2</sub>/gs

$$\text{Respiração dos microrganismos} = 0,72 - 0,24 = 0,48 \frac{\text{mgO}_2}{\text{s}}$$



