



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

A faint, stylized background illustration of a shrimp in a biofloc system. The shrimp is orange and is positioned inside a blue oval. The oval is surrounded by a grey, curved line that represents a biofloc. Below the oval, there are several vertical grey lines that represent the biofloc structure. The entire illustration is in a light, faded color.

ESTRATÉGIAS PARA OTIMIZAÇÃO DA DESNITRIFICAÇÃO
ANAERÓBICA DURANTE O CULTIVO DE *Penaeus vannamei* EM
SISTEMA DE BIOFLOCOS

Maria de Fátima Gomes Silva

Rio Grande - RS

2025

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG INSTITUTO DE
OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**ESTRATÉGIAS PARA OTIMIZAÇÃO DA DESNITRIFICAÇÃO ANAERÓBICA
DURANTE O CULTIVO DE *Penaeus vannamei* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

Discente: Maria de Fátima Gomes Silva

Orientador: Dr. Wilson Wasielesky Junior

Coorientador: Dr. Hellyjunyor Brandrão

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura na Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande

2025

Ficha Catalográfica

S586e Silva, Maria de Fátima Gomes.
Estratégias para otimização da desnitrificação anaeróbica durante o cultivo de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos / Maria de Fátima Gomes Silva. – 2025.
100 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2025.
Orientador: Dr. Wilson Wasielesky Junior.
Coorientador: Dr. Hellyjunyor Brandrão.

1. Bioflocos 2. Camarão 3. Desnitrificação 4. Nitrificação
5. Nitrato I. Wasielesky Junior, Wilson II. Brandrão, Hellyjunyor
III. Título.

CDU 639.512

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344



ATA 02/2025

ATA DE DEFESA DA 246ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia dezenove de fevereiro de dois mil e vinte e cinco, às quatorze horas e trinta minutos, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, de **MARIA DE FÁTIMA GOMES SILVA**, orientada pelo Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior (Orientador – IO/FURG), Prof. Dr. Hellyjúnior Brandão Pereira (Coorientador – Universidade Estadual Vale Do Acaraú/UEVA), Profa. Dra. Gabriele Rodrigues de Lara (Pontifícia Universidad Católica de Valparaíso/Chile) e Prof. Dr. Geraldo Kipper Fôes (IO/FURG). Título da Dissertação: “**ESTRATÉGIAS PARA OTIMIZAÇÃO DA DESNITRIFICAÇÃO ANAERÓBICA DURANTE O CULTIVO DE *Penaeus vannamei* EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**”. Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior, que na qualidade de orientador, passou a palavra para a candidata apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e a candidata, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da Dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. A candidata **MARIA DE FÁTIMA GOMES SILVA** foi considerada **APROVADA**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pela candidata e pelo Coordenador do PPGAq.

Documento assinado digitalmente

gov.br WILSON FRANCISCO BRITTO WASIELESKY JUNIOR
Data: 20/02/2025 17:43:26-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. WILSON WASIELESKY JUNIOR (ORIENTADOR – IO/FURG)

Documento assinado digitalmente

gov.br HELLYJUNIOR BRANDAO PEREIRA
Data: 23/02/2025 12:36:10-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. HELLYJÚNIOR BRANDÃO PEREIRA (CO-ORIENTADOR – UEVA)

Powered by
ecert Fima electrónica avanzada
GABRIELE RODRIGUES DE LARA
2025.03.03 10:25:52 -0300

PROF. DR. GABRIELE RODRIGUES DE LARA (PUCV/CHILE)

Documento assinado digitalmente

gov.br GERALDO KIPPER FOES
Data: 20/02/2025 17:48:23-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. GERALDO KIPPER FÔES (IO/FURG)

Documento assinado digitalmente

gov.br MARIA DE FATIMA GOMES SILVA
Data: 25/02/2025 08:31:28-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

MARIA DE FÁTIMA GOMES SILVA

Documento assinado digitalmente

gov.br RICARDO VIEIRA RODRIGUES
Data: 20/02/2025 17:22:45-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado à minha mãe, meu pai e meu irmão, os elementos fundamentais da minha existência. Expresso minha sincera gratidão pela constante provisão de amor, apoio e inspiração. Cada vitória alcançada é também uma vitória compartilhada convosco, e é com o coração pleno de reconhecimento que dedico este trabalho a todos vocês, que sempre estiveram presentes em todos os momentos, me incentivando a sonhar e alcançar o inalcançável. Meu amor por vocês é imensurável.

AGRADECIMENTOS

Ao universo pelo momento extraordinário da sinfonia das partículas que, por meio de um vasto abraço energético e uma explosão de amor cósmico, disseminou átomos de luz e calor por todo o espectro, gerando a origem das galáxias, estrelas, planetas e todas as complexidades maravilhosas do cosmos, fundamentando todo o arcabouço científico e filosófico que permeia minha dissertação de mestrado. Que a magnitude e a beleza descomunal do universo continuem a nutrir e a orientar meus estudos, capacitando-me a decifrar os enigmas que ainda estão por desvelar. Obrigada, universo, por sua imensa grandiosidade e por servir de cenário para minha jornada acadêmica. Obrigada, universo, por toda a sua grandiosidade e por ser o palco de minha jornada acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), expresso meus sinceros agradecimentos pela concessão da bolsa e pelos recursos disponibilizados, os quais foram fundamentais para viabilizar a realização do meu trabalho. Reconheço e agradeço profundamente pelo apoio e pelo compromisso contínuo com a pesquisa e a educação em nosso país.

Ao meu orientador, professor Dr. Wilson Wasielesky, Gostaria de expressar meus agradecimentos, pela orientação competente e comprometida durante o desenvolvimento desta dissertação. Seu conhecimento especializado, orientações precisas e valiosas contribuições foram fundamentais para a elaboração deste trabalho. Agradeço também pela disponibilidade em discutir ideias, pela orientação técnica e científica fornecida ao longo deste processo. Obrigada pela dedicação e confiança em meu potencial acadêmico.

Ao meu co-orientador, professor Dr. Hellyjunyor Brandão, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos, pela contribuição significativa e pela orientação valiosa ao longo desta trajetória. Sua paciência, sugestões pertinentes e apoio contínuo foram essenciais para o progresso e a qualidade deste trabalho. Agradeço também pela disponibilidade em discutir ideias, pelo auxílio na resolução de desafios e pelo incentivo constante durante esta jornada acadêmica. Este trabalho beneficia-se grandemente da sua colaboração e conhecimento.

À minha mãe Carmem Lúcia, pilar da minha formação como ser humano, ao meu irmão Luís Guilherme e ao meu pai Gilson Luís meu mais profundo agradecimento. O apoio e incentivo de vocês, especialmente durante o período em que decidi embarcar em meu mestrado em uma cidade distante, foram verdadeiramente inestimáveis. Mãe, sua compreensão, seu amor incondicional e seu encorajamento constante foram os suportes que me sustentaram, permitindo-me seguir em frente e alcançar meus

objetivos. Sou eternamente grata pelo seu amor inabalável e pela força que você me transmite para superar desafios e perseverar na busca pelos meus sonhos. Você é minha inspiração e meu maior exemplo de dedicação e carinho. Esta conquista também é de vocês.

Aos meus amigos, fonte constante de apoio emocional, expresso a minha profunda gratidão. Suas palavras, gestos e presença foram fundamentais para enfrentar desafios, superar momentos difíceis e celebrar conquistas, tornando esta trajetória mais significativa. Sou profundamente grata por tê-los ao meu lado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da FURG e a todo o corpo docente.

Aos integrantes do Projeto Camarão e a todos os colegas do PPGAq, agradeço pelas trocas de conhecimento e ajuda mútua. Juntos conseguimos ultrapassar todos os obstáculos.

Muita, muita gratidão!

INDICE

LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
AGRADECIMENTOS.....	12
RESUMO GERAL.....	13
GENERAL ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO GERAL	16
Sistema de Bioflocos.....	16
Nitrato	18
Desnitrificação anaeróbica.....	20
Sólidos suspensos totais.....	21
pH	21
OBJETIVOS	24
OBJETIVOGERAL	24
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO I	33
Aplicação do processo de desnitrificação para remoção do nitrato concomitante ao cultivo de <i>Penaeus vannamei</i> em sistema de bioflocos	33
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	36
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E MÉTODOS I.....	38
2.1 Condições experimentais	38
2.2 Delineamento Experimental	38
2.3 Reatores de desnitrificação.....	37
2.4 Monitoramento da qualidade de água	39
2.5 Desempenho zootécnico	39
2.6 Manejo alimentar.....	39
2.7 Análises histopatológicas.....	39
2.8 Análise de dados	40
3.RESULTADOS I	40
3.1.Qualidade de água	40

3.2 Desempenho zootécnico	44
3.3 Histopatologia.....	45
4. DISCUSSÃO I	46
4.1 Qualidade de água	46
4.2 Desempenho zootécnico	50
4.3 Histopatologia	50
5. CONCLUSÃO I.....	50
6. MATERIAL E MÉTODOS II	52
6.1 Condições experimentais	52
6.2 Separação dos sólidos	52
6.3 Delineamento experimental	52
6.4 Desnitrificação	52
6.5 Monitoramento da qualidade de água	52
6.6 Análises de dados	53
7. RESULTADOS II	53
7.1 Qualidade de água	53
7.2 Influência da concentração de sólidos no tempo da remoção do nitrato	58
8 DISCUSSÃO II	59
9 CONCLUSÃO II	60
10 CONCLUSÃO GERAL	61
11 REFERÊNCIAS.....	62
CAPÍTULO II	70
Determinação da Dosagem Ótima e Estratégias de Adição de Solução de Hidróxido de Sódio para Estabilização do pH no Processo de Desnitrificação Biológica em Água de Cultivo de <i>Penaeus vannamei</i> em Sistema de Bioflocos.....	70
RESUMO.....	71
ABSTRACT.....	72
1. INTRODUÇÃO	73
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1 Delineamento experimental – Experimento I.....	75
2.2 Delineamento experimental – Experimento II	75
2.3 Monitoramento da qualidade da água.....	76
2.4 Análise de dados.....	76
3. RESULTADOS.....	77

4. DISCUSSÃO	84
5.CONCLUSÃO	88
6. REFERÊNCIAS.....	89
CONCLUSÕES GERAIS.....	90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água do cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos com remoção concomitante de nitrato por desnitrificação anaeróbica em reatores de diferentes volumes.....	40
Tabela 2. Índices de desempenho zootécnico (média $\pm$ desvio padrão) de juvenis de <i>P. vannamei</i> cultivados em sistema de bioflocos com água submetida a processo biológico de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.....	43
Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água proveniente de um cultivo de <i>P. vannamei</i> submetida a desnitrificação com adição de diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.....	52

CAPÍTULO II

Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água nos reatores de desnitrificação, utilizando água proveniente de um cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos.....	78
Tabela 5. Valores relacionados a quantidade de solução de hidróxido de sódio utilizada para estabilizar o pH no processo de desnitrificação anaeróbica, em água proveniente do cultivo de <i>P. vannamei</i>	79
Tabela 6. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água proveniente do cultivo de camarões <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a desnitrificação anaeróbica usando diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio.....	80

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. - Variação do pH durante os 55 dias do cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.....	41
Figura 2. Variação da amônia durante os 55 dias do cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.....	43
Figura 3. Variação do nitrito durante os 55 dias do cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.....	43
Figura 4. - Variação do Nitrato durante os 55 dias do cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.....	44
Figura 5 - Variação da Alcalinidade durante os 55 dias do cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.....	44
Figura 6. Micrografias histológicas ilustrando alterações nos tecidos de <i>P. vannamei</i> coletados no último dia do experimento, representando os tratamentos 50% e controle.....	45
Figura 7 - Variação da Alcalinidade durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.....	56
Figura 8 - Variação da Amônia durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.....	57
Figura 9 - Variação do nitrito durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.....	57
Figura 10 - Variação do nitrato durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.....	58

CAPÍTULO II

Figura 11. - Variação do oxigênio dissolvido durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.....	81
---	----

Figura 12. - Variação do pH durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.....	81
Figura 13. - Variação da amônia durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de <i>P. Vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.....	82
Figura 14. - Variação do nitrito durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de <i>P. Vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.....	83
Figura 15 - Variação do nitrato durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de <i>P. Vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.....	83
Figura 16. - Variação da alcalinidade durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de <i>P. vannamei</i> em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.....	85

RESUMO GERAL

A desnitrificação anaeróbica consiste na conversão microbiana do nitrato e do nitrito em nitrogênio molecular ou óxido nitroso, promovendo a remoção desses compostos de ambientes aquáticos. Na aquicultura, este processo melhora a qualidade da água, previne a eutrofização e reduz a dependência de insumos químicos, favorecendo a sustentabilidade. Este trabalho teve o objetivo de testar diferentes estratégias para otimizar a desnitrificação anaeróbica em sistemas de bioflocos durante o cultivo de *Penaeus vannamei*, avaliando diferentes volumes de desnitrificação, diferentes concentrações de sólidos suspensos e metodologias de controle do pH. O trabalho é composto por dois capítulos. No primeiro capítulo, avaliou-se a eficiência da remoção de nitrato considerando diferentes volumes de água destinados à desnitrificação durante o cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos e a influência de distintas concentrações de sólidos suspensos totais no processo de desnitrificação anaeróbica. O primeiro experimento, foi realizado ao longo de 55 dias em tanques de 500 L contendo juvenis de *P. vannamei* (400 camarões/m³, peso médio de $0,94 \pm 0,44$ g), cada tanque experimental foi composto por um reator de volume equivalente ao determinado para cada tratamento, sendo 5%, 25% e 50%, com a desnitrificação ativada pela adição de açúcar comum sempre que a concentração de nitrato ultrapassava 75 mg/L. O pH foi mantido entre 8 e 9 por meio da adição de NaOH, e os camarões foram alimentados duas vezes ao dia com ração balanceada, além de serem submetidos a biometrias semanais. No segundo experimento, com duração de 4 dias, analisou-se a influência da concentração de sólidos suspensos na eficiência e velocidade da desnitrificação. Para isso, tanques de 60 L contendo 25 L de água foram submetidos a seis tratamentos, correspondentes a diferentes concentrações de sólidos suspensos (500, 550, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/L), sendo abastecidos com água proveniente do cultivo de *P. vannamei* em bioflocos. O segundo capítulo, composto por dois experimentos, teve por objetivo determinar a dosagem ideal de NaOH para manter o pH acima de 8 na etapa inicial da desnitrificação anaeróbica e avaliar diferentes estratégias de adição desse alcalinizante. No primeiro experimento, realizado por 4 dias, quantificou-se a necessidade total de NaOH para garantir a estabilidade do pH entre 8 e 9. No segundo, de igual duração, compararam-se seis metodologias de adição de NaOH: O controle (TC) consistiu na adição de 50 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) sempre que o pH caía abaixo de 8, até sua estabilização. Nos tratamentos experimentais (TD0, TD, TD2, TD3 e TGOT), diferentes estratégias de adição do NaOH foram testadas. No tratamento TD0, o volume total de NaOH, previamente determinado, foi adicionado somente quando o oxigênio dissolvido atingiu cerca de 0 mg/L. O tratamento TD consistiu na adição inicial de todo o volume de NaOH, logo após a introdução do carbono orgânico, antes que o oxigênio se esgotasse. O TD2 dividiu o volume em duas adições: uma no início e outra quando o oxigênio dissolvido se aproximou de 0 mg/L. No TD3, três adições foram feitas ao longo do experimento: no início do experimento, quando o oxigênio dissolvido atingiu níveis próximos de 0 mg/L com queda acentuada do

pH, e seis horas após a segunda para compensar novas quedas no pH. No tratamento TGOT, NaOH foi gotejado continuamente durante a uma taxa de 0,53 mL/min durante as primeiras 12 horas do experimento. Em ambos os capítulos, monitoraram-se diariamente pH, alcalinidade, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, nitrogênio amoniacal total, nitrito, nitrato, sólidos suspensos totais e sedimentáveis. Nos reatores, o pH foi aferido a cada hora até sua estabilização, enquanto demais parâmetros foram analisados três vezes ao dia. Os resultados do primeiro capítulo evidenciaram que o tratamento com 50% de volume vou mais eficaz, se tratando de redução do nitrato e proporcionou a maior taxa de sobrevivência (85,2%). No segundo experimento, concentrações superiores de sólidos suspensos (superiores a 550 mg/L) reduziram significativamente o tempo de remoção das concentrações de nitrato, de 45 para 24 horas. No segundo capítulo, determinou-se que a dosagem ideal de NaOH foi de 14 mL/L para manter o pH entre 8 e 9. Todos os tratamentos resultaram em concentrações finais de nitrato e nitrito próximas a 0 mg/L, confirmando a eficácia da desnitrificação. Contudo, diferenças significativas foram observadas nos níveis de oxigênio dissolvido, alcalinidade, fosfato e sólidos suspensos totais. O pH apresentou decréscimo nas primeiras horas devido à liberação de hidróxidos durante as reações microbianas, estabilizando-se posteriormente. Esses resultados corroboram a relevância da desnitrificação biológica para a manutenção da qualidade da água e confirmam que a implementação de técnicas otimizadas do processo pode contribuir para a sustentabilidade e o crescimento saudável de *P. vannamei* na aquicultura intensiva.

Palavras-chave: bioflocos, camarão, desnitrificação, nitrificação, nitrato.

GENERAL ABSTRACT

Anaerobic denitrification consists of the microbial conversion of nitrate and nitrite into molecular nitrogen or nitrous oxide, promoting the removal of these compounds from aquatic environments. In aquaculture, this process improves water quality, prevents eutrophication and reduces dependence on chemical inputs, thus promoting sustainability. This work aimed to test different strategies to optimize anaerobic denitrification in biofloc systems during the cultivation of *Penaeus vannamei*, evaluating different denitrification volumes, different concentrations of suspended solids and pH control methodologies. The work consists of two chapters. In the first chapter, the efficiency of nitrate removal was evaluated considering different volumes of water destined for denitrification during the cultivation of *P. vannamei* in a biofloc system and the influence of different concentrations of total suspended solids on the anaerobic denitrification process. The first experiment was carried out over 55 days in 500 L tanks containing *P. vannamei* juveniles (400 shrimp/m³, average weight 0.94 ± 0.44 g). Each experimental tank consisted of a reactor with a volume equivalent to that determined for each treatment, 5%, 25% and 50%, with denitrification activated by the addition of common sugar whenever the nitrate concentration exceeded 75 mg/L. The pH was kept between 8 and 9 by adding NaOH, and the shrimp were fed twice a day with balanced feed, as well as being subjected to weekly biometrics. In the second experiment, which lasted 4 days, the influence of the concentration of suspended solids on the efficiency and speed of denitrification was analyzed. For this purpose, 60 L tanks containing 25 L of water were subjected to six treatments, corresponding to different concentrations of suspended solids (500, 550, 1000, 1500, 2000 and 2500 mg/L), being supplied with water from the cultivation of *P. vannamei* in bioflocculation. The second chapter, consisting of two experiments, aimed to determine the ideal dosage of NaOH to keep the pH above 8 in the initial stage of anaerobic denitrification and to evaluate different strategies for adding this alkalizing agent. In the first experiment, carried out over 4 days, the total need for NaOH to ensure pH stability between 8 and 9 was quantified. In the second, which lasted the same length of time, six methodologies for adding NaOH were compared: The control (TC) consisted of adding 50 mL of sodium hydroxide solution (NaOH) whenever the pH dropped below 8, until it stabilized. In the experimental treatments (TD0, TD, TD2, TD3 and TGOT), different NaOH addition strategies were tested. In the TD0 treatment, the total volume of NaOH, previously determined, was added only when the dissolved oxygen reached around 0.0 mg/L. The TD treatment consisted of the initial addition of the entire volume of NaOH, immediately after the introduction of organic carbon, before the oxygen was exhausted. TD2 divided the volume into two additions: one at the start and another when the dissolved oxygen approached 0 mg/L. In TD3, three additions were made over the course of the experiment: at the start of the experiment, when the dissolved oxygen reached levels close to 0 mg/L with a sharp drop in the dissolved oxygen, pH, and six hours after the second to compensate for further drops in pH. In the TGOT treatment,

NaOH was dripped continuously at a rate of 0.53 mL/min during the first 12 hours of the experiment. In both chapters, pH, alkalinity, temperature, salinity, dissolved oxygen, total ammonia nitrogen, nitrite, nitrate, total suspended solids and settleable solids were monitored daily. In the reactors, pH was measured every hour until it stabilized, while the other parameters were analysed three times a day. The results of the first chapter showed that the treatment with 50% volume was the most effective in terms of nitrate reduction and provided the highest survival rate (85.2%). In the second experiment, higher concentrations of suspended solids (greater than 550 mg/L) significantly reduced the time taken to remove nitrate concentrations, from 45 to 24 hours. In the second chapter, it was determined that the ideal dosage of NaOH was 14 mL/L to maintain the pH between 8 and 9. All the treatments resulted in final nitrate and nitrite concentrations close to 0 mg/L, confirming the effectiveness of denitrification. However, significant differences were observed in the levels of dissolved oxygen, alkalinity, phosphate and total suspended solids. The pH decreased in the first few hours due to the release of hydroxides during the microbial reactions, and then stabilized. These results corroborate the relevance of biological denitrification for maintaining water quality and confirm that implementing optimized process techniques can contribute to the sustainability and healthy growth of *P. vannamei* in intensive aquaculture.

Keywords: bioflocs, shrimp, denitrification, nitrification, nitrate.

INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura tem apresentado grande importância para a população mundial no que se refere a produção de alimento saudável bem como na diminuição dos impactos causados ao meio ambiente através da exploração excessiva dos recursos naturais (FAO, 2016b). Conforme o relatório State of World Fisheries and Aquaculture - SOFIA (FAO, 2024), a produção global de pescados atingiu 223,2 milhões de toneladas em 2022, com a aquicultura contribuindo com 130,9 milhões (51%), superando a pesca extrativa, o que reforça seu papel como fonte sustentável de alimento. Entretanto, quando realizada de maneira negligente, pode resultar em sérios danos aos ecossistemas aquáticos. A liberação descontrolada de efluentes em corpos hídricos, por exemplo, é um dos principais fatores que contribuem para a deterioração da qualidade da água, desencadeando efeitos negativos, como a proliferação desmedida de matéria orgânica, levando à redução dos níveis de oxigênio dissolvido, prejudicando a fauna aquática e promovendo a eutrofização, um processo que compromete a biodiversidade local e altera o equilíbrio natural dos ecossistemas, além disso, a introdução de substâncias químicas, antibióticos e outros contaminantes utilizados na atividade podem impactar a saúde dos organismos aquáticos e, potencialmente, comprometer a qualidade dos produtos pesqueiros e a segurança alimentar (Zacarias e Souza, 2019), tornando necessário que as práticas aquáticas sejam conduzidas com rigor técnico e responsabilidade ambiental para mitigar esses efeitos adversos e promover a sustentabilidade do setor.

Desse modo, a aquicultura vem trabalhando no desenvolvimento de técnicas e manejo eficazes na produção de pescado, visando a redução dos possíveis impactos, enfatizando a intensificação da produção de organismos aquáticos em ambientes controlados, a melhoria da eficiência nutricional e a diminuição no de recursos, como água e de terra.

Sistema de bioflocos

O sistema de bioflocos (BFT - Biofloc Technology) representa uma abordagem relativamente inovadora e sustentável para a aquicultura, visando a otimização do cultivo de organismos aquáticos com a manutenção da qualidade da água e a minimização da necessidade de renovação constante da água das unidades de cultivo. Este sistema se baseia na utilização de uma comunidade microbiana diversificada que desempenha funções cruciais para o controle da qualidade da água, além de servir como uma fonte suplementar de alimentação e contribuir para a saúde dos organismos cultivados (El-Sayed, 2021; Krummenauer et al., 2020; Reis et al., 2019). A interação entre as bactérias heterotróficas e as bactérias nitrificantes é fundamental para a eficiência do processo, em que se destaca a reciclagem da amônia, um dos principais compostos nitrogenados gerados pela excreção dos organismos cultivados e pela decomposição da matéria orgânica.

A amônia, em sua forma tóxica, origina-se principalmente da decomposição de fezes, urina,

organismos mortos, ração não consumida e da biomassa bacteriana gerada no sistema. Estes resíduos são predominantemente compostos por amônia e representam uma fonte significativa dessa substância no ambiente aquático, com implicações diretas para a qualidade da água e o equilíbrio ecológico (Rocha et al., 2014). Para mitigar os impactos negativos dessa substância, o sistema de bioflocos emprega duas vias principais para a remoção do excesso de amônia, sendo mediadas por comunidades bacterianas especializadas, com a via heterotrófica dominando em alguns sistemas e a quimioautotrófica em outros, dependendo das condições específicas do cultivo (Brandão et al., 2021).

Na via heterotrófica, a amônia é rapidamente assimilada por bactérias aeróbicas que, após a adição de uma fonte suplementar de carbono orgânico, imobilizam a amônia, transformando-a em biomassa bacteriana. Embora esse processo seja eficiente, ele resulta em maior demanda por oxigênio e aumento na produção de dióxido de carbono, o que pode exigir controle rigoroso da qualidade da água, com a necessidade de manter o oxigênio dissolvido a níveis adequados (Ebeling et al., 2006). Além disso, a adição constante de carbono orgânico, como melão, é crucial para garantir a continuidade do processo de assimilação da amônia pelas bactérias heterotróficas. Por outro lado, a via quimioautotrófica, que se baseia na nitrificação, envolve a oxidação da amônia em duas etapas: primeiro, as bactérias amônia-oxidantes convertem a amônia em nitrito, que é ainda tóxico para os organismos cultivados; em seguida, as bactérias nitrito-oxidantes oxidam o nitrito a nitrato, que é menos tóxico e pode ser utilizado pelas plantas e outros organismos do sistema (Oliveira, 2012). Dentro dessa dinâmica, é relevante destacar a presença de dois grupos bacterianos responsáveis pela nitrificação: as bactérias oxidadoras de amônia (AOB) e as nitrito-oxidadoras (NOB). Entre os gêneros que compõem o grupo AOB, os mais destacados são *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* (Hagopian & Riley, 1998), sendo o gênero *Nitrosomonas* o mais comumente encontrado em estações de tratamento de esgoto (Schmidt et al., 2005; Ahn, 2006). A nitrificação apresenta a vantagem de gerar menos biomassa microbiana em comparação à via heterotrófica, mas exige maior tempo para se estabelecer e a suplementação de carbono inorgânico para manter os níveis adequados de alcalinidade e pH (Tobias e Neubauer, 2018).

A escolha da via de remoção de amônia em sistemas de bioflocos (BFT) depende das características específicas de cada sistema de cultivo, podendo ser predominantemente heterotrófica ou quimioautotrófica. Em sistemas predominantemente heterotróficos, a amônia gerada pelos organismos aquáticos é rapidamente assimilada por bactérias heterotróficas aeróbicas. No entanto, essa via apresenta a desvantagem de gerar grande quantidade de biomassa bacteriana, o que contribui para o aumento dos sólidos suspensos totais (SST) no sistema. Para garantir o funcionamento ideal do sistema BFT, a concentração de SST deve ser mantida entre 100 e 300 mg L⁻¹ (Gaona et al., 2017). Além disso, a conversão da amônia em biomassa bacteriana exige um consumo significativo de oxigênio dissolvido,

alcalinidade e carboidratos, enquanto gera dióxido de carbono como subproduto (Ebeling et al., 2006). Esse acúmulo de biomassa pode, por sua vez, aumentar a demanda por oxigênio, o que pode impactar negativamente a eficiência do sistema se não for cuidadosamente monitorado e controlado. Em contraste, a via quimioautotrófica de remoção de amônia ocorre por meio da nitrificação, um processo de oxidação da amônia em duas etapas: primeiro, a amônia é convertida em nitrito e, em seguida, o nitrito é oxidado a nitrato (Tobias & Neubauer, 2018). Embora a nitrificação gere menos biomassa microbiana, ela apresenta a desvantagem de exigir mais tempo para se estabelecer completamente no sistema. Além disso, um sistema predominantemente quimioautotrófico necessita de suplementação de carbono inorgânico para manter os níveis de alcalinidade e pH, uma vez que a nitrificação consome alcalinidade para realizar o processo de oxidação (Ebeling et al., 2006).

Apesar de ser mais eficiente em termos de formação de biomassa, a nitrificação também pode resultar no acúmulo de nitrato no sistema. Esse acúmulo, se não controlado, pode representar um risco significativo para a saúde dos organismos cultivados, já que altas concentrações de nitrato podem comprometer o desempenho zootécnico e o crescimento dos animais, especialmente em sistemas de baixa salinidade, onde os nitratos podem afetar os processos metabólicos e fisiológicos, como a respiração e a absorção de nutrientes (Valencia-Castañeda et al., 2018).

Nitrato

O nitrato é a forma mais oxidada de nitrogênio, sendo o produto final do processo de nitrificação (Texeira, 2006). Em sistemas de bioflocos, o nitrato tende a se acumular na água de cultivo devido à baixa renovação de água característica desses sistemas, que operam com recirculação contínua dos mesmos ciclos de produção (Luo et al., 2020). As concentrações aumentam progressivamente ao longo do ciclo de cultivo, podendo ultrapassar níveis de 400 mg/L e até 450 mg/L (Kuhn et al., 2010; Samocha et al., 2010).

Embora o nitrato seja considerado menos tóxico em baixas concentrações, especialmente em comparação com outros compostos nitrogenados, sua acumulação pode acarretar sérios problemas à saúde dos organismos cultivados, podendo interferir nos processos fisiológicos dos animais, comprometendo a síntese de esteróides e prejudicando a reprodução, podendo, ainda, induzir alterações histopatológicas nas brânquias dos peixes, causando impacto diretamente à saúde dos organismos aquáticos (Campos et al., 2012; Kellock et al., 2018; Dutra et al., 2019). Estudos sobre os efeitos do nitrato no desempenho zootécnico de crustáceos são limitados, com a maioria focada em juvenis de *P. vannamei* em estágios larvais progressivos. Khun et al. (2010) apontam que concentrações de nitrato variando entre 440 e 910 mg/L comprometem substancialmente o crescimento e a sobrevivência de *P. vannamei* cultivados em salinidades elevadas, sendo que o estresse osmorregatório induzido por esses níveis aumenta significativamente a demanda energética dos organismos, além de prejuízos no

crescimento dos animais expostos a concentrações de nitrato de 435 mg/L ao longo de um período de seis semanas, além do surgimento de lesões no hepatopâncreas de indivíduos submetidos a níveis superiores a 220 mg/L. Além disso, o trabalho mostra que quando os camarões ficam expostos a essas concentrações por períodos prolongados, como a partir da sexta semana, começam a apresentar incrustações nas brânquias compostas por excesso de detritos e bactérias, com o hepatopâncreas mostrando sinais de armazenamento excessivo e respostas lipídicas reduzidas. Furtado et al. (2014) indicam que concentrações de nitrato até 177 mg/L são consideradas aceitáveis para a criação de *P. vannamei*, mas que valores superiores a esse podem prejudicar o desempenho dos animais durante o cultivo. Monsees et al. (2017) observam que exposições prolongadas a concentrações de 1.000 mg/L de nitrato resultam na redução do crescimento e comprometimento da saúde de tilápias cultivadas em sistemas de recirculação.

O efeito deletério do nitrato é mais pronunciado em sistemas de aquicultura fechados e com baixa salinidade, uma vez que a toxicidade do nitrato se intensifica com a diminuição da salinidade da água (Valencia-Castañeda et al., 2018). O impacto do nitrato no organismo é, portanto, multifatorial, sendo influenciado por outros fatores ambientais como salinidade, espécie, fase de vida dos organismos, entre outros. Assim, diferentes sistemas de cultivo apresentam níveis variados de tolerância ao nitrato, exigindo uma gestão cuidadosa de sua concentração.

Além de seus efeitos prejudiciais sobre a produtividade zootécnica, o excesso de nitrato na água representa uma ameaça ambiental significativa. O acúmulo de nitrato pode resultar na liberação de efluentes com alta concentração desse composto ao ambiente, afetando a qualidade dos ecossistemas aquáticos e até a saúde humana. O aporte excessivo de nitrogênio em corpos aquáticos pode induzir a eutrofização, deterioração da qualidade da água, alteração da biodiversidade, tanto de organismos microscópicos quanto de organismos superiores, além de comprometer os recursos hídricos potáveis (Hanley, 1990; Lunau et al., 2013). Em virtude desses problemas, diversas estratégias de remoção de nitrato têm sido desenvolvidas para mitigar seus impactos em sistemas de aquicultura, abordando processos químicos, físicos e biológicos.

Os processos físicos e químicos incluem técnicas de separação, como filtração e adsorção, além do uso de nanofiltração (Hurtado et al., 2016), osmose reversa e reatores eletrodialíticos (Virikutyte e Jegatheesan, 2009). Por outro lado, os processos biológicos mais comumente empregados envolvem a utilização dos efluentes da aquicultura como subprodutos no cultivo de organismos consumidores inorgânicos, como microalgas e macroalgas, os quais não apenas geram biomassa, mas também auxiliam na remoção de nutrientes inorgânicos, atuando como biorremediadores dos efluentes (Legarda et al., 2019; Aníbal et al., 2014; Ansari et al., 2017). Outra abordagem promissora é a integração da aquicultura com a produção de plantas, no modelo de aquaponia, que também permite a remoção de nutrientes

gerados nos sistemas de aquicultura, incluindo amônia, nitrito e nitrato (Colt et al., 2022; Doncato e Costa, 2021; Endut et al., 2011). Recentemente, a aquicultura multitrófica integrada tem se mostrado uma alternativa eficiente, otimizando o uso de nutrientes no sistema e reduzindo a carga inorgânica por meio da produção de diversos organismos de diferentes níveis tróficos (Boyd et al., 2020; Silfiana et al., 2018). Apesar da eficácia das estratégias apresentadas para a remoção de nitrato, muitas delas enfrentam desafios relacionados à viabilidade econômica, como custos operacionais elevados, a necessidade de mão de obra especializada ou exigências de mais espaço para suportar as estruturas necessárias. Esses obstáculos ainda limitam a aplicação em larga escala dessas soluções nos sistemas aquícolas.

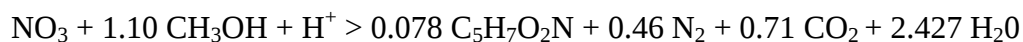
Desnitrificação anaeróbica

O processo de desnitrificação anaeróbica desempenha um papel essencial na remoção de compostos nitrogenados, em particular o nitrato, em ambientes aquáticos. Esse fenômeno ocorre sob condições anóxicas, nas quais microrganismos específicos utilizam o nitrato como aceptor final de elétrons, substituindo o oxigênio. Como consequência, o nitrato é reduzido a nitrogênio molecular (N_2), que é então liberado na atmosfera, sem acarretar impactos ambientais adversos (Beg, 1980; Abreu, 1994).

A desnitrificação pode ser realizada por diversos gêneros bacterianos, entre os quais Rittman e Langeland (1985) destacam: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Hyphomicrobium*, *Chromobacterium*, *Halobacterium*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Azospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Thiobacillus*, *Vibrio*, *Xanthomonas* e *Klebsiella*. Muitas dessas bactérias heterotróficas, que oxidam a matéria orgânica de forma anaeróbica utilizando o nitrato como receptor terminal de elétrons, atuam como facultativas desnitrificantes. Essas bactérias, quando em presença de oxigênio molecular, competem com o nitrato para atuar como receptores de elétrons (Bueno, 2016). Portanto, a desnitrificação ocorre unicamente na ausência de oxigênio e na presença de nitrato, em ambientes anóxicos. De acordo com Tiedje (1988), citado por Akunna et al. (1994), os microrganismos responsáveis pela desnitrificação são geralmente aeróbios, mas possuem a capacidade de reduzir nitrato quando o oxigênio é limitado, o que permite que as bactérias desnitrificantes prosperem em ambientes com baixa concentração de oxigênio. Isso indica que essas bactérias não exigem condições anaeróbicas estritas para realizar a desnitrificação. Outros estudos (Kuroda et al., 1988; Hanaki & Polprasert, 1989) sugerem que esses microrganismos podem até se adaptar a sistemas anaeróbios severos, produzindo metano como subproduto.

A desnitrificação pode ser dividida em duas formas de redução: assimilatória e dissimilatória. A redução assimilatória envolve a conversão do nitrato a nitrito, e deste, a amônia, que é utilizada pela célula para a síntese de compostos nitrogenados. Este processo é observado principalmente em sistemas onde o nitrato é a única fonte de nitrogênio, sendo realizado por diversos organismos, tais como plantas, fungos, algas e algumas bactérias facultativas (Drtil, 1995). Por outro lado, a desnitrificação

dissimilatória, ocorre em condições anóxicas, nas quais o nitrato é gradualmente reduzido a compostos gasosos. A equação estequiométrica para este processo de desnitrificação, conforme proposta por Timmermans (1983) resume as proporções e os produtos envolvidos nas reações biológicas que acontecem durante esse processo:



Inicialmente, o nitrato é transformado em nitrito, que é então convertido em dióxido de nitrogênio. Este, por sua vez, é reduzido a óxido nítrico, que segue para a conversão em óxido nitroso. Finalmente, o óxido nitroso é reduzido a nitrogênio molecular (N_2), o qual é liberado para a atmosfera (Metcalf & Eddy, 1991; 1992; Drtl, 1995; Bernet & Moletta, 1998; Philippot, 2002). A sequência das transformações químicas descritas culmina na formação de nitrogênio gasoso, que se difunde no ambiente. O doador de elétrons necessário para esse processo pode ser obtido de fontes externas, como o metanol, ou pode ser proveniente do próprio carbono presente no efluente em tratamento (Akunna et al., 1992).

Sólidos suspensos totais

Os sólidos suspensos totais (SST) representam partículas orgânicas e inorgânicas, incluindo resíduos de ração, excretas e microrganismos, que são fundamentais para processos biológicos em sistemas aquáticos. Sua relevância na desnitrificação anaeróbica está intrinsecamente ligada ao lodo ativado e ao biofilme. O lodo ativado, um processo biológico de tratamento de efluentes, utiliza microrganismos aeróbios para metabolizar matéria orgânica, promovendo sua conversão em biomassa e gases. Ele facilita a respiração anóxica, permitindo a redução de nitrato e nitrito a nitrogênio gasoso (Tolfo, 1998). Já o biofilme, formado por comunidades microbianas imobilizadas em superfícies, tais como bactérias, fungos e matriz extracelular, cria microambientes anóxicos internos, possibilitando a redução parcial das concentrações de nitrato, mesmo em condições aeróbias, com eficiência de até 30% (Fujii, 2013; Ferreira, 2000).

Para manter a eficácia, os SST devem permanecer entre 1.000 e 3.000 mg/L; valores fora desse intervalo comprometem a floculação ou dificultam a operação devido à formação de espuma aderente ao suporte do biofilme. Dessa forma, os SST promovem equilíbrio microbiológico e eficiência no tratamento de águas (Ferreira, 2000). Segundo Ferreira 2000, concentrações adequadas de SST (geralmente acima de 1.000 mg/L) são essenciais para a densidade microbiológica necessária à desnitrificação, enquanto níveis extremos comprometem a eficiência e a estabilidade do sistema, uma vez que, a superfície dos SST serve como substrato para a adesão de microrganismos, facilitando a formação de biofilmes e aumentando a taxa de desnitrificação. Entretanto, a alta concentração de sólidos pode criar zonas anaeróbicas locais, essenciais para o processo, pois, a presença de SST em concentrações elevadas também pode criar nichos ecológicos que afetam a competição entre microrganismos, influenciando a eficiência da desnitrificação.

pH

A eficiência do processo de desnitrificação está diretamente relacionada ao pH do ambiente. O aumento da alcalinidade durante a conversão do nitrato a gás nitrogênio resulta em um aumento do pH, que é favorável à continuidade do processo. Em geral, o pH ideal para a desnitrificação situa-se entre 7 e 8, sendo que a temperatura também desempenha um papel relevante, influenciando tanto a taxa de remoção do nitrato quanto o crescimento microbiano (Metcalf & Eddy, 1991; Akunna et al., 1994).

O pH adequado desempenha um papel crucial na otimização da atividade das bactérias desnitrificantes, visto que valores inferiores a 6 podem comprometer substancialmente o processo, alterando a dinâmica microbiana e prejudicando a eficiência do processo (Saleh-Lakha et al., 2009). A acidificação excessiva pode resultar na formação de óxidos de nitrogênio, como o óxido nítrico e o óxido nitroso, ao invés do desejado gás nitrogênio, produzindo substâncias poluentes que reduzem a eficácia da desnitrificação. A regulação do pH, geralmente por meio da adição de NaOH, torna-se, portanto, uma prática essencial para assegurar a eficiência do processo (Blum et al., 2018). Segundo Henze et al. (1997), o pH ideal para a desnitrificação situa-se entre 7,0 e 9,0, com Van Haandel e Marais (1999) afirmando que a faixa ótima varia entre 7,0 e 7,5, sendo que valores abaixo de 6,0 ou acima de 8,5 podem reduzir drasticamente a taxa de desnitrificação. Adicionalmente, a redução do nitrato a nitrito libera uma base forte, que pode ocasionar a acidificação da água, tornando o controle do pH ainda mais imprescindível para o sucesso do processo.

A literatura sugere que a faixa de pH mais eficiente para a atividade microbiana desnitrificante abrange valores entre 7,5 e 9,5 (Albina et al., 2019), com valores inferiores a 6,0 inibindo as enzimas responsáveis pela desnitrificação e alterando a dinâmica da comunidade microbiana (Saleh-Lakha et al., 2009). Manter o pH dentro dessa faixa não apenas maximiza a taxa de desnitrificação, mas também assegura que o produto final seja o gás nitrogênio, evitando a formação de compostos poluentes.

Sendo assim, o controle do pH é fundamental, não apenas para garantir a eficiência do processo de desnitrificação, mas também para a sustentabilidade do sistema, a minimização dos impactos ambientais e a promoção da reciclagem de nutrientes, além de reduzir a carga de efluentes. A regulação do pH, frequentemente realizada por adição controlada de NaOH, constitui uma estratégia essencial para a otimização dos processos biológicos em sistemas de aquicultura, criando um ambiente equilibrado e saudável.

Este processo biológico tem grande aplicação em estações de tratamento de águas residuais, com o objetivo de remover o nitrato da água (Xu et al., 2018). Além disso, em sistemas aquáticos de cultivo, como os sistemas de recirculação (RAS) e os de bioflocos, a desnitrificação pode ser uma ferramenta importante para controlar a concentração de nitrato. No contexto de bioflocos, a desnitrificação ajuda não apenas a reduzir as concentrações de nitrato, mas também a diminuir a matéria orgânica solúvel no

sistema, o que pode ser vantajoso para a manutenção da qualidade da água e para a redução da necessidade de renovação frequente. Adicionalmente, ao reduzir a concentração de nitrato, o processo facilita o reuso da água em ciclos de cultivo subsequentes, ao mesmo tempo em que estabiliza a alcalinidade da água, minimizando a necessidade de correções constantes e promovendo a eficiência do sistema (Melo Filho et al., 2020).

Embora a aplicação da desnitrificação em sistemas de bioflocos ainda seja um campo de estudo em desenvolvimento, com poucos estudos dedicados a sua avaliação (Melo Filho et al., 2020; Liu et al., 2019), a pesquisa sobre sua viabilidade e eficiência nesses sistemas é de extrema importância. A implementação bem-sucedida deste processo pode representar um avanço significativo para a sustentabilidade dos sistemas de cultivo aquático, contribuindo para a redução da carga de nitrato e permitindo um controle mais eficiente das condições ambientais nesses sistemas.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a eficiência do processo de desnitrificação na remoção de nitrato e na manutenção da qualidade da água durante o cultivo de *P. vannamei* em sistemas de bioflocos, otimizando o processo de desnitrificação anaeróbica e melhorando o desempenho zootécnico.

Objetivos específicos

- Avaliar a eficiência do processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes de água (5,0%, 25% e 50%) na remoção de nitrato durante o cultivo de *P. vannamei* em sistemas de bioflocos;
- Analisar o desempenho zootécnico de *P. vannamei* cultivado em sistemas de bioflocos com reatores desnitrificantes contínuos, avaliando a eficácia da desnitrificação no crescimento dos camarões;
- Investigar o impacto da redução de nitrato, por meio da desnitrificação anaeróbica concomitante ao cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, nos tecidos branquiais e hepatopancreáticos dos animais;
- Examinar a influência de diferentes concentrações de sólidos suspensos na velocidade do processo de desnitrificação anaeróbica em água proveniente do cultivo de *P. vannamei* em sistemas de bioflocos;
- Determinar a dosagem ideal de solução de hidróxido de sódio para manter o pH do sistema de cultivo acima de 8, garantindo a estabilidade ambiental e a eficiência do processo de desnitrificação anaeróbica na primeira etapa do cultivo;
- Avaliar a eficácia de diferentes métodos de adição de solução de hidróxido de sódio na manutenção do pH, analisando seu impacto na remoção do nitrato e na qualidade da água em sistemas de cultivo intensivo de *P. vannamei*;
- Identificar estratégias de manejo de pH que otimizem o funcionamento dos sistemas de bioflocos, garantindo simplicidade operacional, eficácia na redução de nitratos e sustentabilidade no cultivo de *P. vannamei*.

REFERÊNCIAS

- Abreu, L.M. (1994). Aspectos microbiológicos de los procesos de nitrificación-denitrificación. In: *3ºTaller y Seminario Latino-Americano de Tratamiento Anaeróbico de Águas Residuales*, Montevideo, Uruguay, pp. 55–63.
- Albina, S.D., Troeger, C., & Davis, D.A. (2019). Impacts of carbon dioxide and water hardness on nitrite toxicity to juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 504, 211–218.
- Akunna, J.C., Bizeau, C., & Moletta, R. (1992). Denitrification in anaerobic digesters: Possibilities and influence of wastewater COD/N-NOX ratio. *Environmental Technology*, 13(9), 825–836.
- Akunna, J.C., Bizeau, C., & Moletta, R. (1994). Nitrate reduction by anaerobic sludge using glucose at various nitrate concentrations: Ammonification, denitrification and methanogenic activities. *Environmental Technology*, 15(1), 41–49.
- Aminot, A., & Chaussepied, M. (1983). *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest: CNEXO, Paris.
- Aníbal, J., Madeira, H.T., Carvalho, L.F., Esteves, E., Veiga-Pires, C., & Rocha, C. (2014). Macroalgae mitigation potential for fish aquaculture effluents: An approach coupling nitrogen uptake and metabolic pathways using *Ulva rigida* and *Enteromorpha clathrata*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 13324–13334. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2427-x>
- Ansari, F.A., Singh, P., Guldhe, A., & Bux, F. (2017). Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: Integrated biomass generation and nutrient remediation. *Algal Research*, 21, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.015>
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- APHA-AWWA-WEF. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (20th ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>
- Beg, S.A., Siddiqi, R.H., & Ilias, S. (1980). Effect of toxicants on biological nitrification for treatment of fertilizer industry wastewater. In: *35th Industrial Waste Conference*, Illinois, Purdue University. Proceedings. Ann Arbor Science, pp. 826–834.
- Bernet, N., & Moletta, R. (1998). Anaerobic digestion and nitrogen removal from wastewaters. In: *IV Seminario-Taller Latinoamericano sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales*, Mar del Plata, pp. 495–506.
- Blum, J.M., Su, Q., Ma, Y., Valverde-Pérez, B., Domingo-Félez, C., Jensen, M.M., & Smets, B.F. (2018).

- The pH dependency of N-converting enzymatic processes, pathways and microbes: Effect on net N₂O production. *Environmental Microbiology*, 20, 1623–1640. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14063>
- Boyd, C.E., McNevin, A.A., Davis, R.P., Godumala, R., Tinh, H.Q., & Whaley, D.M. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578–633.
- Brandão, H. (2023). Aplicação do processo de desnitrificação heterotrófica anaeróbica para remoção do nitrato da água de cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistemas de bioflocos. Universidade Federal do Rio Grande.
- Brandão, H., Xavier, Í.V., Santana, G.K.K., Santana, H.J.K., Krummenauer, D., & Wasielesky, W. (2021). Heterotrophic versus mixed BFT system: Impacts on water use, suspended solids production, and growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Engineering*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2021.102194>
- Bueno, R. D. F. (2016). *Avaliação na nitrificação e desnitrificação simultânea em estação de tratamento de esgoto em escala real* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Campos, B.R.D.E., Campos, K., Filho, M., Incao, F.D., Poersch, L., & Wasielesky, W. (2012). Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica*, 34, 75–81. <https://doi.org/10.5088/atl.2012.34.1.75>
- Colt, J., Schuur, A.M., Weaver, D., & Semmens, K. (2022). Engineering design of aquaponics systems. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 30, 33–80.
- Doncato, K.B., & Costa, C.S.B. (2021). Micronutrient supplementation needs for halophytes in saline aquaponics with BFT system water. *Aquaculture*, 531, 735815. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735815>
- Drtíl, M., Hrnčíř, P., & Fuka, P. (1995). Acidobasic balances in the course of heterotrophic denitrification. *Water Research*, 29(5), 1353–1360.
- Dutra, F.M., Cidemar Alab, J.H., Costa Gomes, M.K., Furtado, P.S., Valenti, W.C., & Cupertino Ballester, E.L. (2020). Nitrate acute toxicity to post larvae and juveniles of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). *Chemosphere*, 242, 125229. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125229>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., & Bisogni, J.J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., & Bisogni, J.J. (2006b). Engineering analysis of the stoichiometry of

- photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- El-Sayed, A.F.M. (2021). Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: A comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Reviews in Aquaculture*, 13, 676–705. <https://doi.org/10.1111/raq.12494>
- Endut, A., Jusoh, A., Ali, N., & Nik, W.B.W. (2011). Nutrient removal from aquaculture wastewater by vegetable production in aquaponics recirculation system. *Desalination and Water Treatment*, 32, 422–430. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.2761>
- Ferreira, E.S. (2000). I-121-Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e denitrificação biológica. In *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental* (No. 1, pp.1-25).
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016b). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: Contributing to food security and nutrition for all. Rome, 200 pp.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2024). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome, 200 pp. <https://doi.org/10.4060/cd0683>
- Gaona, C.A.C., de Melo Filho, A.A., da Silva, D.C., & Coelho, A.A. (2017). Concentrações ótimas de sólidos suspensos totais (SST) no cultivo de camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) em sistema de bioflocos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(3), 410-421.
- Furtado, P.S., Gaona, C.A.P., Poersch, L.H., & Wasielesky, W. (2014). Application of different doses of calcium hydroxide in the farming of shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*, 22, 1009–1023 <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9723-9>
- Fujii, F.Y., Piveli, R.P., Campos, F., Bueno, R.F., & Sobrinho, P.A. (2013). Desempenho de reator integrado de lodo ativado com biofilme em leito móvel. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 18, 349-358.
- Henze, M., Harremoës, P., Jansen, J.L.C., & Arvin, E. (1997). *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Process*. 2nd ed. Berlin: Springer.
- Hänel, K. (1988). Biological treatment of sewage by the activated sludge process. *Ellis Horwood Series in Water and Wastewater Technology*. New York: Ellis Horwood Limited.
- Hanley, N. (1990). The economics of nitrate pollution. *European Review of Agricultural Economics*, 17, 129–151. <https://doi.org/10.1093/erae/17.2.129>
- Hurtado, C.F., Cancino-Madariaga, B., Torrejón, C., & Villegas, P.P. (2016). Separation of nitrite and nitrate from water in aquaculture by nanofiltration membrane. *Desalination and Water Treatment*,

- 57, 26050–26062. <https://doi.org/10.1080/19443994.2016.1160440>
- Kellock, K.A., Moore, A.P., & Bringolf, R.B. (2018). Chronic nitrate exposure alters reproductive physiology in fathead minnows. *Environmental Pollution*, 232, 322–328.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.004>
- Krummenauer, D., Abreu, P.C., Poersch, L., et al. (2020). The relationship between shrimp (*Litopenaeus vannamei*) size and biofloc consumption determined by the stable isotope technique. *Aquaculture*, 529, 735635. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735635>
- Kuhn, D.D., Smith, S.A., Boardman, G.D., Angier, M.W., Marsh, L., & Flick, G.J. (2010). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309, 109–114.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>
- Kuhn, D.D., Smith, S.A., Boardman, G.D., Angier, M.W., Marsh, L., & Flick, G.J. (2010a). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309, 109–114.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>
- Kuhn, D.D., Smith, S.A., Boardman, G.D., Angier, M.W., Marsh, L., & Flick, G.J. (2010b). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309, 109–114.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>
- Kuroda, M., Shima, H., & Sakakibara, Y. (1988). A study on simultaneous treatment of organic matter and nitrate with a biofilm consisting of methane fermentative bacteria and denitrifying bacteria. *Proceedings of Environmental Sanitary Engineering Research*, 24, 231–239.
- Hanaki, K., & Polprasert, C. (1989). Contribution of methanogenesis to denitrification with an upflow filter. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 61, 1604–1611.
- El-Sayed, A.F.M., 2021. Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Rev. Aquac.* 13, 676–705. <https://doi.org/10.1111/raq.12494>
- Endut, A., Jusoh, A., Ali, N., Nik, W.B.W., 2011. Nutrient removal from aquaculture wastewater by vegetable production in aquaponics recirculation system. *Desalin. Water Treat.* 32, 422–430. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.2761>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J., 2006b. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome, 200 pp.

<https://doi.org/10.4060/cd0683>

- Ferreira, E. S., 2000. I-121-Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e denitrificação biológica. In XXVII Congresso interamericano de engenharia sanitária e ambiental (No. 1, pp. 1-25).
- Furtado, P.S., Gaona, C.A.P., Poersch, L.H., Wasielesky, W., 2014. Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). *Aquaculture International* 22:1009–1023. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9723-9>
- Fujii, F.Y., Piveli, R.P., Campos, F., Bueno, R.F., & Sobrinho, P.A., 2013. Desempenho de reator integrado de lodo ativado com biofilme em leito móvel. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 18, 349-358.
- Gaona, C.A.C., de Melo Filho, A.A., da Silva, D.C., & Coelho, A.A., 2017. Concentrações ótimas de sólidos suspensos totais (SST) no cultivo de camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) em sistema de bioflocos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(3), 410-421
- Hanley, N., 1990. The economics of nitrate pollution. *Eur. Rev. Agric. Econ.* 17, 129–151. <https://doi.org/10.1093/erae/17.2.129>
- Hagopian, D.S; Riley, J.G. A closer look at the bacteriology of nitrification. *Aquacultural Engineering*, v.18. p.223-244, 1998
- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*. v.41, p. 1709-1721. 2006
- Hurtado, C.F., Cancino-Madariaga, B., Torrejón, C., Villegas, P.P., 2016. Separation of nitrite and nitrate from water in aquaculture by nanofiltration membrane. *Desalin. Water Treat.* 57, 26050–26062. <https://doi.org/10.1080/19443994.2016.1160440>
- Kellock, K.A., Moore, A.P., Bringolf, R.B., 2018. Chronic nitrate exposure alters reproductive physiology in fathead minnows. *Environ. Pollut.* 232, 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.004>
- Krummenauer, D., Abreu, P.C., Poersch, L., et al., 2020. The relationship between shrimp (*Litopenaeus vannamei*) size and biofloc consumption determined by the stable isotope technique. *Aquaculture*, 529, 735635. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735635>
- Kuhn, D.D., Smith, S.A., Boardman, G.D., Angier, M.W., Marsh, L., Flick, G.J., 2010. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture* 309, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>
- Luo, G., Xu, J., Meng, H., 2020. Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734675>

- Melo Filho, M.E.S., Owatari, M.S., Mouriño, J.L.P., Lapa, K.R., Soares, H.M., 2020. Application of nitrification and denitrification processes in a direct water reuse system for pacific white shrimp farmed in biofloc system. *Aquac. Eng.* 88. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102043>
- Monsees, H., Klatt, L., Kloas, W., Wuertz, S., 2017. Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. *Aquac. Res.* 48, 3482–3492. <https://doi.org/10.1111/are.13174>
- Oliveira, L. D. D. (2012). *Avaliação do processo de nitrificação em um filtro biológico aerado submerso. alimentado com efluente de RALF* (Master's thesis, Universidade Estadual de Maringá).
- Philippot, L., 2002. Denitrifying genes in bacterial and Archaeal genomes. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Struct. Expr.* 1577, 355–376. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(02\)00420-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(02)00420-7)
- Reis, W.G., Wasielesky, W., Abreu, P.C., Brandão, H., Krummenauer, D., 2022. The influence of different light wavelengths in the culture of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in BFT using LED lights. *Aquaculture* 738924. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738924>
- Reis, W.G., Wasielesky, W., Abreu, P.C., Brandão, H., Krummenauer, D., 2019. Rearing of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in BFT system with different photoperiods: Effects on the microbial community, water quality and zootechnical performance. *Aquaculture* 508, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.067>
- Rittmann, B.E., & Langeland, W.E., 1985. Simultaneous denitrification with nitrification in single channel oxidation ditches. *Journal Water Pollution Control Federation* Washington, v.45, n.2, p.249–260
- Rocha, A. F. da, Favreto, R., & Cavalli, L. S. (2014). *Produção de alimentos em aquaponia de pequena escala - Cultivo integrado de peixes e plantas* (A. F. da Rocha, R. Favreto, & L. S. Cavalli, Trans.). Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação do Rio Grande do Sul (SEAPI).
- Saleh-Lakha, S., Shannon, K.E., Henderson, S.L., Goyer, C., Trevors, J.T., Zebarth, B.J., Burton, D.L., 2009. Effect of pH and temperature on denitrification gene expression and activity in *Pseudomonas mandelii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 3903–3911. <https://doi.org/10.1128/AEM.00080-09>
- Samocha, T.M., Wilkenfeld, J.S., Morris, T.C., Correia, E.S., Hanson, T., 2010. Rações intensivas sem troca de água analisadas para cultivo de camarão branco. *Global Aquac. Advocate* 13:22–24
- Silfiana, Widowati, Putro, S.P., Udjiani, T., 2018. Modeling of nitrogen transformation in an integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *J. Phys. Conf. Ser.* 983. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/983/1/012122>

- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 2011. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological, 4th ed. ed. W.H Freeman & Company
- Teixeira, R. M. (2006). *Remoção de nitrogênio de efluentes da indústria frigorífica através da aplicação dos processos de nitrificação e desnitrificação em biorreatores utilizados em um sistema de lagoas de tratamento* (Doctoral dissertation, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.).
- Tiedje, J.M., 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. A.J.B. Zehnder (Ed.), *Biology of Anaerobic Microorganisms*, Wiley, New York (1988), pp. 179-244
- Timmermans, P., Van, H. A., 1983. Fundamental study of the growth and denitrification capacity of *Hyphomicrobium* sp. *Water Res.* 17(10), 1249-1255.
- Tolfo, A. M., Silva, F. P. D., Silva, R. P. D., Rodriguez, M. T. R., 1998. Teste de tratabilidade para o processo de lodo ativado em equipamento de bancada. *Salão de Iniciação Científica* (10. Porto Alegre, 1998). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS.
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espéricueta, M. G., Vanegas-Pérez, R. C., Pérez-Ramírez, J. A., Chávez-Sánchez, M. C., Páez-Osuna, F., 2018. Acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae in low-salinity water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 101, 229–234. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>
- Schmidt et al. New concepts of microbial treatment process for the nitrogen removal in wastewater. *FEMS Microbiology.* v. 27, p. 481-492, 2003.
- Virkutyte, J., Jegatheesan, V., 2009. Electro-Fenton, hydrogenotrophic and Fe²⁺ ions mediated TOC and nitrate removal from aquaculture system: Different experimental strategies. *Bioresour. Technol.* 100, 2189–2197. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.050>
- Von Ahnen, M., Dalsgaard, J., Pedersen, P. B., 2021. Effect of different C/N ratios and hydraulic retention times on denitrification in saline, recirculating aquaculture system effluents. *Aquac. Eng.* 94, 102170. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2021.102170>
- Van Haandel, A., Marais, G.O., 1999. Comportamento do sistema de lodos ativados. *Campina Grande: EPGRAF.*
- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. *Manuals and Guides* 12. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, France.
- Tobias, C., Neubauer, S. C., 2018. Salt marsh biogeochemistry—An overview. In: *Coastal Wetlands: An Integrated Ecosystem Approach*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63893-9.00016-2>
- Zacarias, A. J., Souza, M. N., 2019. Recuperação de área degradada de monocultura intensiva no estado do Espírito Santo. *Revista Univap*, 1(87), 234–242.
- Zhang, L., Zhang, Y., Zhu, G., Wu, L., Wang, J., Li, S., Liu, X., 2014. Nitrogen removal from wastewater

- using denitrification: A review. J. Clean. Prod. 89, 1-.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C. L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 258, 396–403.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>
- Xavier, M., Wasielesky Júnior, W., Hostins, B., Bequé, E., Krummenauer, D., 2022. The use of a flocculant additive and its effect on biofloc formation, nitrification, and zootechnical performance during the culture of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) in a BFT system. Lat. Am. J. Aquat. Res. 50, 181–196. <https://doi.org/10.3856/vol50-issue2-fulltext-2777>
- Xu, Z., Dai, X., Chai, X., 2018. Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes. Sci. Total Environ. 634, 195–204.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.348>

CAPÍTULO I

Aplicação do processo de desnitrificação para remoção do nitrato concomitante ao cultivo de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos

Artigo a ser submetido para o periódico Aquacultural Engineering

RESUMO

A desnitrificação é um processo biológico que remove o nitrato, formado no cultivo pela nitrificação, conduzido por bactérias heterotróficas em condições anóxicas, convertendo nitrito em nitrogênio gasoso. Este estudo aplicou a desnitrificação para remover as concentrações de nitrato durante o cultivo de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos, avaliando três volumes de tanques de desnitrificação: tratamentos (5,0%, 25% e 50%) e o impacto de diferentes concentrações de sólidos suspensos na duração do processo. O experimento teve duração de 64 dias e foi dividido em duas fases: (1) teste de diferentes volumes de desnitrificação e (2) teste de concentrações de sólidos. Na primeira fase, camarões juvenis foram estocados em tanques de 500 litros (400 camarões/m³, peso médio de 0,94 g). A desnitrificação foi ativada quando o nitrato ultrapassou 75 mg/L, com a adição de açúcar como fonte de carbono orgânico. Para estabilizar o pH entre 8 e 9, utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio, e o processo foi finalizado quando as concentrações de nitrato caía para 0 mg/L. A qualidade da água foi monitorada diariamente, e a biometria dos camarões realizada semanalmente, com alimentação diária com ração extrusada. Na segunda fase, diferentes concentrações de sólidos suspensos (550, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 mg/L) foram testadas para acelerar a desnitrificação. O tratamento de 50% resultou na maior biomassa (1,55 kg) e maior taxa de sobrevivência (85,20%), enquanto o tratamento com 5% apresentou um desempenho superior em termos de ganho de peso semanal (0,99 g) e conversão alimentar aparente (1,73). Esses dados indicam que o tratamento de 5% favoreceu o crescimento individual dos camarões. As concentrações maiores de sólidos suspensos reduziram o tempo de desnitrificação para até 24 horas, enquanto a concentração de 550 mg/L levou 45 horas. Isso confirma a eficácia da desnitrificação biológica para melhorar a qualidade da água e a sustentabilidade na aquicultura em sistemas de bioflocos.

Palavras-chaves: biofloco, nitrato, desnitrificação, camarão, aquicultura.

ABSTRACT

Denitrification is a biological process that removes nitrate, formed in the culture by nitrification, conducted by heterotrophic bacteria under anoxic conditions, converting nitrite into gaseous nitrogen. This study applied denitrification to remove nitrate concentrations during the cultivation of *Penaeus vannamei* in a biofloc system, evaluating three volumes of denitrification tanks: treatments (5%, 25% and 50%) and the impact of different concentrations of suspended solids on the duration of the process. The experiment lasted 64 days and was divided into two phases: (1) testing different denitrification volumes and (2) testing solids concentrations. In the first phase, juvenile shrimp were stocked in 500-liter tanks (400 shrimp/m³, average weight 0.94 g). Denitrification was activated when nitrate exceeded 75 mg/L, with the addition of sugar as a source of organic carbon. A sodium hydroxide solution was used to stabilize the pH between 8 and 9, and the process was terminated when the nitrate concentration fell to 0 mg/L. Water quality was monitored daily and shrimp biometry was carried out weekly, with daily feeding of extruded feed. In the second phase, different concentrations of suspended solids (550, 1000, 1500, 2000 and 2500 mg/L) were tested to accelerate denitrification. The 50% treatment resulted in the highest biomass (1.55 kg) and survival rate (85.20%), while the 5% treatment showed superior performance in terms of weekly weight gain (0.99 g) and apparent feed conversion (1.73). These data indicate that the 5% treatment favored individual shrimp growth. The higher concentrations of suspended solids reduced denitrification time to up to 24 hours, while the 550 mg/L concentration took 45 hours. This confirms the effectiveness of biological denitrification in improving water quality and sustainability in aquaculture in biofloc systems.

Keywords: biofloc, nitrate, denitrification, shrimp, aquaculture.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura desempenha um papel indispensável na promoção da segurança alimentar global, consolidando-se como uma alternativa estratégica para a produção de alimentos saudáveis e a mitigação dos impactos ambientais decorrentes da exploração excessiva dos recursos naturais (FAO, 2016b). Segundo a FAO (2024), a produção global de pescados alcançou um recorde histórico em 2022, totalizando 223,2 milhões de toneladas. Deste total, a aquicultura respondeu por 130,9 milhões de toneladas, superando, pela primeira vez, a captura pesqueira e representando 51% da produção global. Esse marco evidencia o papel central da aquicultura como uma fonte sustentável de alimentos em um cenário marcado pela sobrepesca e pela degradação dos ecossistemas marinhos.

Entre os setores mais destacados da aquicultura global, a carcinicultura se sobressai, especialmente o cultivo de camarões marinhos, com ênfase na espécie *Penaeus vannamei*. A produção dessa espécie atingiu 5,2 milhões de toneladas em 2022, representando cerca de 80% da produção global de camarões cultivados (FAO, 2024). Contudo, apesar dos avanços substanciais e da relevância econômica e ambiental da aquicultura, a atividade pode causar impactos severos aos ecossistemas aquáticos, como a liberação de efluentes orgânicos e a pressão sobre os recursos naturais (Zacarias e Souza, 2019; Boyd, 2003; Naylor et al., 2009). Diante desses desafios, é essencial o desenvolvimento de tecnologias inovadoras e práticas de manejo sustentáveis para equilibrar o crescimento produtivo com a preservação ambiental.

O sistema de bioflocos (BFT) é uma tecnologia avançada de cultivo de organismos aquáticos, projetada para preservar a qualidade da água e reduzir a taxa de renovação, por meio da diminuição dos níveis de amônia e nitrito durante o ciclo de cultivo. Essa abordagem se baseia na utilização de uma comunidade microbiana diversificada, que desempenha um papel fundamental na manutenção da qualidade da água, além de servir como uma fonte suplementar de alimento e contribuir para a saúde dos organismos cultivados (El-Sayed, 2021; Krummenauer et al., 2020; Reis et al., 2019). O controle da amônia é mediado pela ação de bactérias heterotróficas e quimioautotróficas, sendo a nitrificação a principal via de imobilização da amônia em sistemas dominados por bactérias quimioautotróficas, resultando em um acúmulo significativo de nitrato (Brandão et al., 2021). Nos sistemas predominantemente heterotróficos, a amônia é rapidamente assimilada por bactérias aeróbicas, gerando biomassa e aumentando a demanda por oxigênio e CO₂, além de exigir uma fonte contínua de carbono orgânico (Ebeling et al., 2006). Em contraste, nos sistemas quimioautotróficos, a nitrificação converte amônia em nitrato, porém, requer um tempo mais prolongado para estabilização e suplementação de carbono inorgânico, essencial para o controle do pH e da alcalinidade, podendo resultar em acúmulo significativo de nitrato (Tobias & Neubauer, 2018; Ebeling et al., 2006).

O nitrato é uma substância que, de acordo com alguns pesquisadores, apresenta baixo potencial tóxico. No entanto, por ser o produto final do processo de nitrificação, ele pode se acumular em grandes concentrações, especialmente em sistemas de cultivo fechados (Thurston et al., 1978). De acordo com Alves Neto et al. (2019), a salinidade do ambiente de cultivo desempenha um papel crucial na toxicidade do composto, uma vez que, a concentração letal média (LC_{50}) para juvenis de *Penaeus vannamei* é substancialmente menor em salinidades de 5 g.L^{-1} ($60,05 \text{ mg.L}^{-1}$) em comparação com 10 g.L^{-1} ($127,61 \text{ mg.L}^{-1}$), evidenciando o aumento da toxicidade do nitrato em condições de menor salinidade. Além disso, o nitrato pode causar efeitos tanto letais quanto subletais em uma ampla variedade de organismos, sendo, ainda, capaz de interagir de forma sinérgica com outras formas de nitrogênio, o que intensifica seus impactos tóxicos. Diante disso, torna-se imprescindível a realização de estudos aprofundados sobre os efeitos da substância em diferentes espécies (Santos et al., 1993). A forma mais oxidada do nitrogênio, o nitrato, tem uma tendência a acumular-se em sistemas de bioflocos, caracterizados por baixa renovação hídrica, com concentrações frequentemente superiores a 400 mg/L (Kuhn et al., 2010). Esse acúmulo exacerbado pode comprometer a saúde dos organismos presentes, tornando a monitoramento e o controle da substância fatores determinantes para a sustentabilidade desses sistemas. Embora seja menos tóxico que a amônia e o nitrito em concentrações moderadas, níveis elevados de nitrato causam efeitos deletérios significativos sobre organismos aquáticos, comprometendo o crescimento, a sobrevivência e a reprodução, além de induzir alterações histopatológicas graves, como lesões em brânquias e no hepatopâncreas de camarões, especialmente em exposições superiores a 220 mg/L (Kuhn et al., 2010; Dutra et al., 2019; Kellock et al., 2018). Ainda que níveis letais sejam comumente apontados como superiores a 450 mg/L (Kubitza, 2017; Kuhn et al., 2010; Samocha et al., 2010), Furtado et al. (2014) indicam que concentrações acima de 177 mg/L já comprometem o desempenho zootécnico. Concentrações entre 440 e 910 mg/L agravam o estresse osmorregulatório, intensificando lesões fisiológicas e reduzindo drasticamente a sobrevivência de *P. vannamei* após seis semanas de exposição (Kuhn et al., 2010; Samocha et al., 2010; Alves Neto et al., 2019). A toxicidade do nitrato varia em função de fatores como salinidade, espécie e estágio ontogenético, o que reforça a necessidade urgente de estratégias eficazes para mitigar seus impactos nos sistemas de cultivo intensivo (Poersch et al., 2007; Furtado et al., 2014).

A desnitrificação apresenta-se como uma estratégia eficaz para a remoção biológica de nitrato, transformando-o em nitrogênio gasoso (Metcalf & Eddy, 2003). Trata-se de um processo respiratório anaeróbico, realizado por bactérias heterotróficas, que converte o nitrato em nitrogênio gasoso por meio de reações enzimáticas sequenciais que envolvem a redução do nitrato a dióxido de nitrogênio (NO_2), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e, finalmente, nitrogênio molecular (N_2), utilizando enzimas como nitrato redutase e óxido nitroso redutase (Philippot, 2002). Microrganismos como *Bacillus* e

Pseudomonas, anaeróbios facultativos, realizam este processo gerando energia pela fosforilação de transporte de elétrons na ausência de oxigênio, utilizando o nitrato comoceptor terminal (Holmes et al., 2019; Zhu-Barker and Steenwerth, 2018). Embora amplamente utilizada em estações de tratamento, a desnitrificação em sistemas de bioflocos é pouco explorada, com estudos limitados indicando sua eficiência na redução do nitrato, na diminuição da matéria orgânica solúvel e na estabilização da alcalinidade, favorecendo o reuso da água e reduzindo a necessidade de renovação hídrica (Melo Filho et al., 2020; Liu et al., 2019; Schreier e Zohar, 2006).

Levando em consideração que, atualmente, o processo de desnitrificação anaeróbica, que desempenha um papel fundamental na remoção das concentrações de nitrato, ocorre apenas na fase final do ciclo de cultivo, quando a água do sistema é tratada e, posteriormente, reutilizada. Tal abordagem, embora eficaz em sua função, não incorpora o processo de desnitrificação de forma contínua ao longo do ciclo produtivo, o que propicia o acúmulo progressivo das concentrações de nitrato durante o cultivo. Este acúmulo excessivo, por sua vez, compromete a qualidade da água, fator crítico para a manutenção da saúde dos organismos aquáticos e a sustentabilidade do sistema de cultivo

Nesse contexto, o presente estudo visa avaliar a eficiência da remoção de nitrato através do processo de desnitrificação durante o cultivo de *P. vannamei* em sistemas de bioflocos. Além disso, busca-se investigar como diferentes concentrações de sólidos suspensos podem influenciar a taxa desse processo, com o objetivo de otimizar a desnitrificação e garantir a qualidade da água, um fator essencial para o sucesso da aquicultura.

2. MATERIAL E MÉTODOS I

2.1 Condições experimentais

O trabalho foi realizado no Laboratório de Carcinocultura da Estação Marinha de Aquacultura (EMA-FURG) em Rio Grande-RS, Brasil. As pós-larvas de *P. vannamei* foram adquiridas em Canguaretama-RN e trazidas para a EMA-FURG, onde passaram pela fase de berçário antes de serem utilizadas no experimento. O experimento foi conduzido ao longo de um período de 55 dias.

2.2 Delineamento experimental

Foram estabelecidos quatro tratamentos, cada um com três repetições, totalizando 12 unidades experimentais. Os tratamentos consistiram em um tratamento controle (TC), no qual não se implementou o processo de desnitrificação, e três tratamentos em que a desnitrificação ocorreu em reatores com diferentes proporções de volume (5,0%, 25% e 50%) em relação aos tanques de cultivo. Em cada unidade experimental foi integrado um reator com capacidades de 25, 125 e 250 litros ao sistema de desnitrificação, correspondendo a 5,0%, 25% e 50% do volume total dos tanques de cultivo, sendo os reatores desprovidos de aeração.

Para o cultivo, utilizaram-se tanques redondos de polietileno de fundo plano, com capacidade total de 500 litros, sendo o volume útil de 500 litros. Antes do início do experimento, os tanques foram inoculados com bioflocos oriundos de um cultivo superintensivo de *P. vannamei*, assegurando uma concentração inicial de 40 mg/L de sólidos suspensos totais, (Machado, 2021). Cada tanque foi povoado com camarões de 0,94 gramas, resultando em uma densidade de estocagem de 400 camarões/m³. A água marinha utilizada, proveniente da Praia do Cassino, foi clorada e declorada antes do uso. A aeração das unidades experimentais foi realizada por mangueiras microperfuradas, alimentadas por um soprador.

2.3 Reatores de desnitrificação

A metodologia para o processo de desnitrificação seguiu protocolos determinados por Brandão et al. (2023). Em cada tratamento, o início do processo foi realizado mediante a incorporação de açúcar comum, contendo 40% de carbono orgânico, estabelecendo relação carbono: nitrogênio de 3: 1, com base na soma das concentrações de amônia, nitrito e nitrato presentes. A água utilizada nos reatores de desnitrificação foi extraída diretamente dos tanques de cultivo pertencentes a cada tratamento. O processo de desnitrificação foi acionado sempre que a concentração de nitrato no sistema alcançava 75 mg/L. Os parâmetros de oxigênio dissolvido, temperatura e pH foram monitorados a cada hora, até a estabilização do pH. Após esse momento, os parâmetros passaram a ser avaliados a cada 12 horas. As concentrações de amônia, nitrito, nitrato e alcalinidade foram analisadas a cada 12 horas. Quando o pH atingia valores <8,0, era adicionada uma solução de hidróxido de sódio (NaOH, 1,0M). O processo de desnitrificação foi finalizado quando as concentrações de nitrito e nitrato se aproximaram de 0,0 mg/L. Após a finalização, o sobrenadante foi retornado aos tanques de cultivo.

2.4 Monitoramento da qualidade de água

Nos tanques de cultivo de *P. vannamei*, as determinações de nitrogênio amoniacal total (N-(NH₃ + NH₄⁺)) e nitrito (N-NO₂⁻) foram feitas três vezes por semana (UNESCO, 1983; Strickland e Parsons, 1972), bem como de nitrato (N-NO₃⁻) (Aminot e Chaussepied, 1983). A análise de fosfato (P-PO₄³⁻) foi realizada semanalmente, assim como a salinidade, medida por meio de sonda multiparamétrica (Hanna, modelo HI 98194).

Os sólidos suspensos totais foram quantificados por meio de gravimetria três vezes na semana, filtrando alíquotas de 50 mL de água em filtros de fibra de vidro previamente secos em estufa a 60 °C por 24 horas. Após a filtração, os filtros foram novamente secos e pesados em uma balança analítica de precisão até a obtenção de peso constante, e a estimativa dos sólidos foi obtida pela diferença entre o peso inicial e o final dos filtros (AOAC, 2000). Os sólidos sedimentáveis foram avaliados utilizando cones de Imhoff, conforme descrito por Avnimelech (2007).

Todas as coletas de água para análises foram realizadas antes da alimentação dos camarões. Adicionalmente, um probiótico comercial (PRO W-INVE®) foi incorporado semanalmente em todos os

tratamentos, visando a manutenção da qualidade da água.

Nos reatores, a qualidade de água foi realizada a partir da mesma metodologia utilizada nos tanques de cultivo, sendo que as avaliações de fosfato ($P-PO_4^{3-}$), salinidade e sólidos suspensos totais foram realizadas em dois momentos: no início e na conclusão do experimento.

2.5 Desempenho zootécnico

Durante a Fase I, foram realizadas biometrias semanalmente, o que possibilitou a análise do crescimento dos organismos e o ajuste na quantidade de ração fornecida. Ao término do experimento, os indivíduos foram pesados e contabilizados, permitindo a determinação do desempenho zootécnico.

2.6 Manejo alimentar

Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia, utilizando ração comercial. A taxa inicial de arraçoamento foi estabelecida com base na biomassa total presente no tanque (Jory et al., 2001).

2.7 Análises histológicas

Para a realização das análises histológicas, foram realizadas três coletas de camarões ao longo do experimento para observar os efeitos da desnitrificação anaeróbica no hepatopâncreas e nas brânquias dos animais: uma na fase inicial (24 de outubro de 2023), outra na fase intermediária (22 de novembro de 2025) e uma última ao término do estudo (18 de dezembro de 2025). De cada tratamento, foram selecionados três indivíduos, correspondendo a um exemplar por repetição, totalizando doze camarões por coleta. Os organismos foram infiltrados e fixados em solução de Davidson. Após um intervalo de 24 horas, os espécimes foram transferidos para uma solução de etanol a 70%. Os tecidos passaram por um processamento histológico em processador automático (LEICA) e inclusão em parafina. As seções histológicas foram cortadas em espessura de 5,0 μm , utilizando um micrótomo rotativo semi-automático (LEICA RM2245). Posteriormente, as seções foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) e analisadas sob um microscópio óptico (Nikon, Eclipse E200). As imagens dos cortes histológicos foram digitalizadas empregando um microscópio Primo Star Zeiss acoplado a uma câmera digital AxioCam ERc5s.

2.8 Análises de dados

As análises estatísticas da qualidade da água foram realizadas com o software Statistica, enquanto o desempenho zootécnico dos camarões foi avaliado com o software Past. A homocedasticidade das variâncias e a normalidade dos dados foram verificadas pelos testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Para a comparação do desempenho dos camarões em diferentes tratamentos, foi utilizada ANOVA de uma via ($\alpha = 0,05$), seguida pelo teste de Tukey, assegurando a validade das conclusões obtidas.

3. RESULTADOS I

3.1 Qualidade de água

Nos resultados de qualidade da água (Tabela 1), não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) em relação à temperatura, oxigênio dissolvido, amônia, sólidos suspensos totais, sólidos sedimentáveis e salinidade entre os tratamentos. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos resultados de alcalinidade, pH, nitrito, fosfato e nitrato.

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água do cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos com remoção concomitante de nitrato por desnitrificação anaeróbica em reatores de diferentes volumes. Não foi realizada desnitrificação no tratamento “Controle”.

Parâmetros	Tratamentos			
	Controle	5%	25%	50%
Temperatura (°C)	28,99 $\pm$ 1,47	29,02 $\pm$ 1,44	28,97 $\pm$ 1,48	28,74 $\pm$ 1,43
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	5,76 $\pm$ 0,40	5,88 $\pm$ 1,40	5,81 $\pm$ 0,41	5,86 $\pm$ 0,48
pH	7,59 $\pm$ 0,26 ^b	7,65 $\pm$ 0,23 ^b	7,79 $\pm$ 0,18 ^a	7,82 $\pm$ 0,21 ^a
P-Fosfato (mg/L)	1,92 $\pm$ 1,64 ^a	1,95 $\pm$ 1,75 ^a	1,65 $\pm$ 1,38 ^{ab}	1,41 $\pm$ 1,04 ^b
Salinidade (g/L)	30,06 $\pm$ 1,86	29,47 $\pm$ 1,69	30,23 $\pm$ 2,06	29,22 $\pm$ 1,41
Sólidos sedimentáveis (ml/L)	13,60 $\pm$ 8,34	11,44 $\pm$ 6,73	11,55 $\pm$ 7,72	12,43 $\pm$ 8,08
SST (mg/L)	381,73 $\pm$ 133,81	357,51 $\pm$ 130,07	323,11 $\pm$ 149,48	345,44 $\pm$ 119,28
NAT (mg/L)	0,15 $\pm$ 0,07	0,20 $\pm$ 0,21	0,17 $\pm$ 0,17	0,19 $\pm$ 0,30
N-Nitrito (mg/L)	0,37 $\pm$ 0,29 ^b	0,44 $\pm$ 0,37 ^{ab}	0,39 $\pm$ 0,30 ^{ab}	0,49 $\pm$ 0,44 ^a
N-Nitrato (mg/L)	84,47 $\pm$ 50,73 ^a	65,13 $\pm$ 38,20 ^b	57,19 $\pm$ 29,81 ^{bc}	52,81 $\pm$ 27,99 ^c
N-Nitrato acumulado (mg/L)	162,67 $\pm$ 4,62 ^a	117,00 $\pm$ 13,75 ^b	80,00 $\pm$ 6,00 ^c	71,33 $\pm$ 10,26 ^c
Alcalinidade (mg/L CaCO ₃)	147,34 $\pm$ 32 ^b	160,52 $\pm$ 35 ^b	223,09 $\pm$ 91,84 ^a	235,42 $\pm$ 113,74 ^a

NAT= Nitrogênio Amoniacal Total ($\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4^+$); SST= Sólidos Suspensos Totais (mg/L); SS= Sólidos Sedimentáveis (mL/L). Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

A temperatura se manteve estável ao longo de todos os tratamentos, com valores médios variando entre 28,74 e 29,02°C. O oxigênio dissolvido se apresentou em níveis adequados, sem diferenças significativas entre os tratamentos, oscilando entre 5,76 e 5,88 mg/L. Em relação ao pH, observou-se uma diferença significativa, com os tratamentos de 25% e 50% apresentando valores mais elevados (7,79 e 7,82, respectivamente) em comparação ao controle (7,59) e ao tratamento de 5% (7,65) que apresentaram uma tendência de redução ao longo do tempo (Figura 1). Nos tratamentos 25% e 50%, o pH manteve essa

tendência durante os primeiros 33 dias, apresentando valores mais elevados, comparado aos demais tratamentos, após o início do processo de desnitrificação, como apresentado na figura 1.

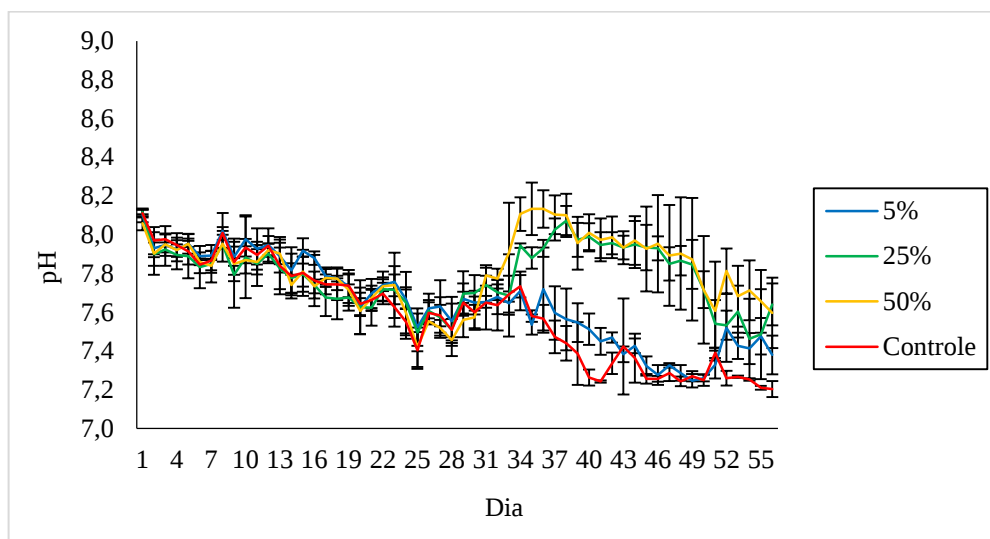


Figura 1. - Variação do pH durante os 55 dias do cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.

Quanto aos compostos nitrogenados, a concentração de Nitrogênio Amoniacal Total (NAT) não variou significativamente entre os tratamentos. Os níveis de N-nitrito mostraram diferenças significativas, entretanto, apresentou valores abaixo de 1,0 mg/L durante o período experimental. Com relação ao nitrato, o tratamento controle apresentou a maior concentração média de nitrato (84,47 mg/L), que foi significativamente superior aos demais tratamentos. Nos tratamentos com desnitrificação, as concentrações médias de nitrato foram progressivamente menores, com o tratamento de 50% atingindo 52,81 mg/L, seguido pelos tratamentos 5% e 25%, que apresentaram 65,13 mg/L e 57,19 mg/L, respectivamente. Entretanto, embora as concentrações médias tenham alcançado valores abaixo de 85 mg/L de nitrato, o nitrato acumulado foi significativamente menor nos tratamentos com desnitrificação, com o controle apresentando 162,67 mg/L, enquanto os tratamentos 5%, 25% e 50% reduziram suas concentrações para 117,00, 80,00 e 71,33 mg/L, respectivamente, evidenciando a eficiência do processo. O comportamento dos compostos nitrogenados está disposto nas figuras 2, 3 e 4.

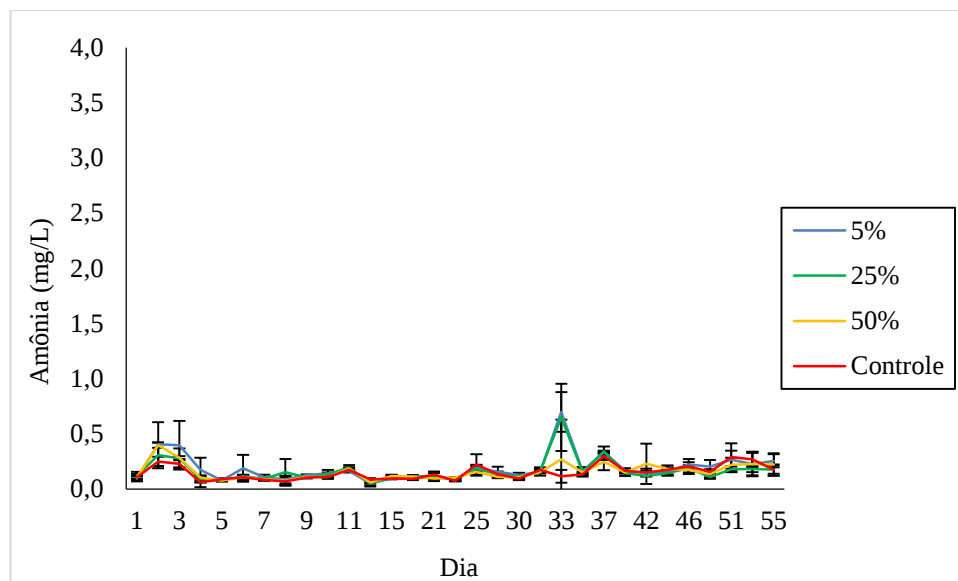


Figura 2. Variação da amônia durante os 55 dias do cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.

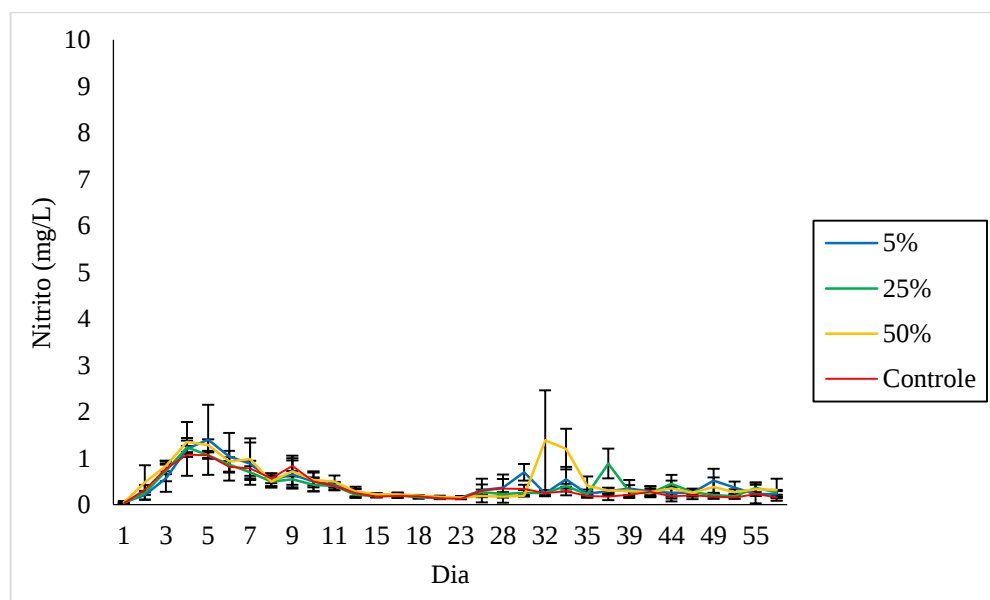


Figura 3. Variação do nitrito durante os 55 dias do cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.

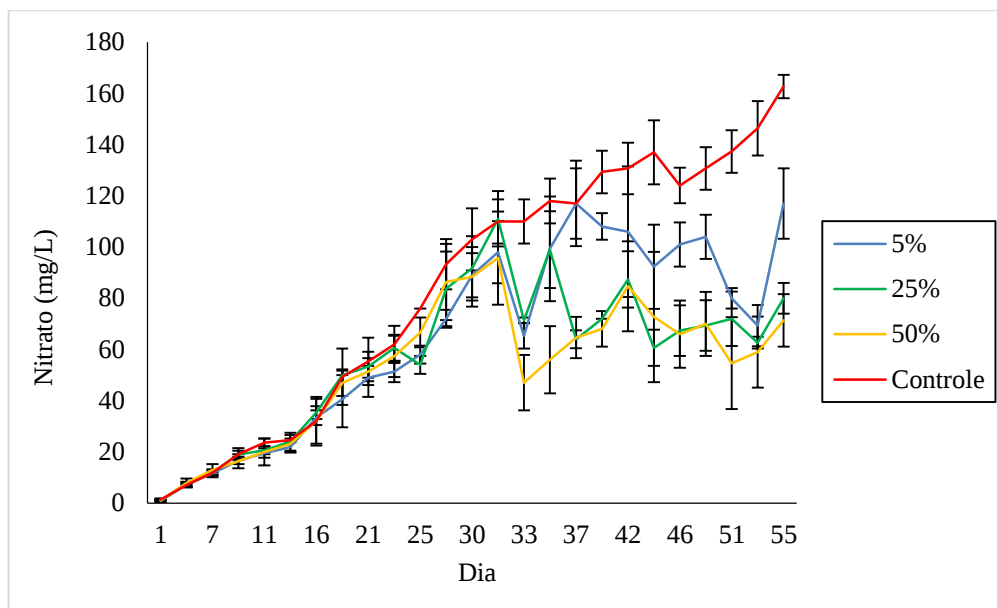


Figura 4. - Variação do nitrato durante os 55 dias do cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.

A alcalinidade apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. O controle teve a menor concentração de alcalinidade, com um valor médio de 147,34 mg CaCO_3/L , sendo significativamente inferior aos tratamentos de 25% (223,09 mg CaCO_3/L) e 50% (235,42 $\pm$ 113,74 mg CaCO_3/L), que apresentaram concentrações maiores. O tratamento de 5% teve valores intermediários, com média de 160,52 mg CaCO_3/L , sem diferenças significativas em relação ao controle, como apresentado na figura 5.

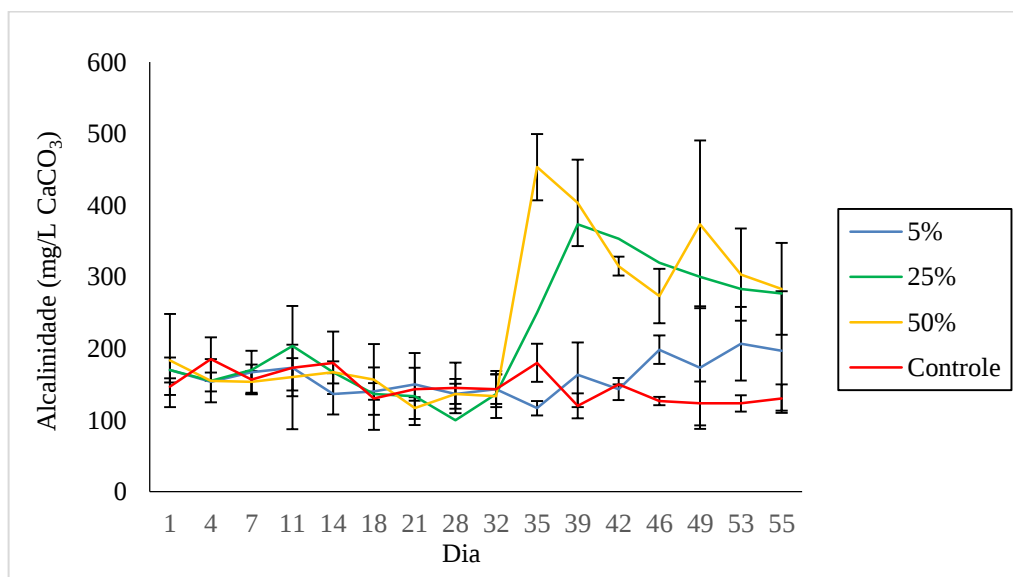


Figura 5 - Variação da Alcalinidade durante os 55 dias do cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetido ao processo de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.

A concentração de P-fosfato não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, variando entre 1,41 e 1,95 mg/L. O mesmo ocorreu com os sólidos suspensos totais (SST), que não apresentaram variação significativa, com os valores oscilando entre 323,11 e 381,73 mg/L. Os sólidos sedimentáveis também não apresentaram diferenças significativas, com os valores variando entre 11,44 e 13,60 mL/L. A salinidade não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, permanecendo estável com valores médios entre 29,22 e 30,23 g/L.

3.2 Desempenho zootécnico

Nos resultados referentes ao desempenho zootécnico (Tabela 2), não foram identificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos em relação ao peso inicial, peso final, biomassa final, GPS, TCE e CAA. Foram observadas diferenças significativas apenas na sobrevivência.

Tabela 2. Índices de desempenho zootécnico (média $\pm$ desvio padrão) de juvenis de *P. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos com água submetida a processo biológico de desnitrificação anaeróbica em diferentes volumes.

Parâmetros	Tratamentos			
	Controle	5%	25%	50%
Peso inicial (g)	0,94 $\pm$ 0,44	0,94 $\pm$ 0,44	0,94 $\pm$ 0,44	0,94 $\pm$ 0,44
Peso final (g)	7,36 $\pm$ 0,59	8,08 $\pm$ 0,92	7,25 $\pm$ 0,25	7,63 $\pm$ 0,14
Sobrevivência (%)	74,53 $\pm$ 0,01 ^b	75,20 $\pm$ 0,05 ^b	78,80 $\pm$ 0,02 ^{ab}	85,20 $\pm$ 0,03 ^a
Biomassa final (kg)	1,42 $\pm$ 0,08	1,54 $\pm$ 0,14	1,44 $\pm$ 0,03	1,55 $\pm$ 0,22
GPS (g)	0,78 $\pm$ 0,09	0,99 $\pm$ 0,36	0,89 $\pm$ 0,34	0,78 $\pm$ 0,13
TCE %	3,74 $\pm$ 0,14	3,90 $\pm$ 0,21	3,71 $\pm$ 0,06	3,81 $\pm$ 0,03
CAA	1,92 $\pm$ 0,18	1,73 $\pm$ 0,15	1,74 $\pm$ 0,04	1,80 $\pm$ 0,32
Produtividade kg/m ³	2,84 $\pm$ 0,30	3,08 $\pm$ 0,29	2,88 $\pm$ 0,05	3,11 $\pm$ 0,44

GPS= Ganho de peso semanal; TCE= Taxa de crescimento específico; CAA= Taxa de conversão alimentar aparente. Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

O peso final não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. No tratamento de 50%, o peso final foi de 7,63 g, enquanto o tratamento de 25% obteve 7,25 g. A biomassa final, bem como o peso final, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Os tratamentos 5% e 50% mostraram biomassas equivalentes a 1,54 kg e 1,55 kg, respectivamente, enquanto os tratamentos controle e 25% apresentaram valores de 1,42 kg e 1,44 kg. O ganho de peso específico (GPS) não apresentou

diferenças significativas, os tratamentos 5% e 25% apresentaram valores equivalentes a 0,99 e 0,89 g, enquanto o controle e o 50% 0,78 e 0,78 g. A taxa de crescimento específico (TCE) também não teve diferenças significativas entre os tratamentos e apresentou valores similares, com o controle alcançando 3,74 %, o tratamento de 5% 3,90 %, o tratamento de 25% 3,71 % e o tratamento de 50% 3,81%.

A sobrevivência foi o único parâmetro de desempenho zootécnico que apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento de 50% apresentou a maior taxa de sobrevivência, com 85,20%. O tratamento de 25% obteve uma taxa de sobrevivência de 78,80%. Já os tratamentos controle e 5% mostraram as menores taxas de sobrevivência, com 74,53% e 75,20%, respectivamente. A taxa de sobrevivência dos tratamentos controle e 5% foi significativamente inferior à observada no tratamento de 50%.

A conversão alimentar aparente (CAA) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, com valores equivalentes a 1,92 no controle, 1,73 no tratamento 5%, 1,74 no tratamento 25% e 1,80 no tratamento 50%.

3.2 Histopatologia

Os resultados das análises histopatológicas, que detalham as alterações observadas nos tecidos branquiais e hepatopâncreas de *P. vannamei* cultivados em sistema de bioflocos e submetidos a diferentes volumes de desnitrificação anaeróbica, estão apresentados na Figura 6.

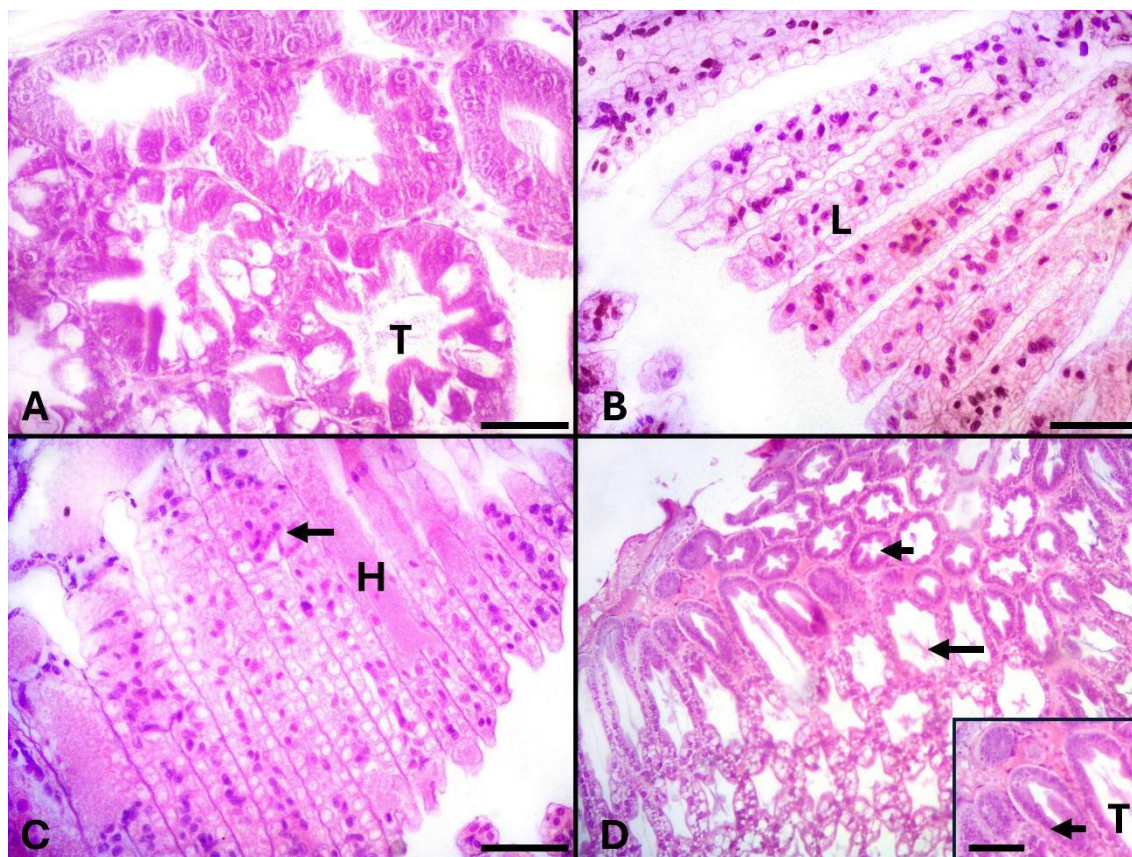


Figura 6. Micrografias histológicas ilustrando alterações nos tecidos de *P. vannamei* coletados no último dia do experimento, representando os tratamentos 50% e controle. **A:** Hepatopâncreas de camarões submetidos ao tratamento 50%, evidenciando túbulos normais (T). Coloração HE. Escala: 50 µm. **B:** Tecido branquial de camarões do tratamento 50%, com epitélio das lamelas secundárias (L) preservado e sem alterações significativas. Coloração HE. Escala: 20 µm. **C:** Brânquias de camarão do tratamento controle, mostrando lamelas secundárias com leve hiperplasia (seta) e presença de hemolinfa abundante que dilata os espaços intralamelares (H). Coloração HE. Escala: 20 µm. **D:** Hepatopâncreas de camarões do tratamento controle, apresentando regiões com hiperplasia epitelial tubular (seta curta) e áreas com túbulos dilatados contendo material de aspecto lipídico em seu interior (seta longa). Coloração HE. Escala: 20 µm.

No início do experimento (Dia 0), os tecidos dos camarões analisados apresentaram características normais, sem a presença de hiperplasia, estabelecendo assim um controle para comparação com os resultados posteriores. No ultimo dia de experimento, o tratamento controle apresentou alterações nos tecidos avaliados, onde o hepatopâncreas exibiu um epitélio espesso e grosso, além de dilatação do lúmen e contração dos túbulos, enquanto as brânquias mostraram uma hiperplasia grave, associada a necrose e fusão de lamelas. No tratamento de 5% de desnitrificação, observou-se dilatação de túbulos no hepatopâncreas e uma hiperplasia nas brânquias que, embora presente, foi menos severa do que a observada no controle. O tratamento de 25% demonstrou hiperplasia nas brânquias, ligeiramente inferior à dos tratamentos anteriores, embora ainda houvesse dilatação dos túbulos do hepatopâncreas. O tratamento de 50% de desnitrificação apresentou os melhores resultados, com a menor hiperplasia observada nas brânquias, embora ainda houvesse dilatação dos túbulos do hepatopâncreas.

4. DISCUSSÃO I

4.1 Qualidade de água

Os parâmetros de qualidade da água são essenciais para o desempenho dos organismos aquáticos (Vinatea, 1997; Barbieri & Ostrenski, 2002). O oxigênio dissolvido e temperatura foram controlados com aquecedores e aeração, e os níveis médios registrados se mantiveram dentro da faixa recomendada para o cultivo de *P. vannamei* (Ponce-Palafox et al., 1997; Jiang et al., 2005; Van Wyk & Scarpa, 1999; Wyban et al., 1995)

Em todos os tratamentos, o pH permaneceu entre 7,0 e 9,0, faixa recomendada por Van Wyk & Scarpa (1999) para melhor desempenho de camarão marinho. Conforme exposto por Furtado et al. (2013), em sistemas de bioflocos, diversos estudiosos apontam que o intervalo de pH superior a 7 é considerado o mais adequado para o cultivo de camarões marinhos, propiciando condições ótimas para o desenvolvimento tanto dos camarões. Em todos os tratamentos, foi observada uma redução contínua do

pH ao longo do experimento. Essas quedas estão relacionadas ao processo de nitrificação e a liberação de dióxido de carbono durante o cultivo. A nitrificação, realizada por bactérias nitrificantes autotróficas, leva ao consumo constante de íons de bicarbonato presentes na água como fonte de carbono inorgânico na oxidação dos compostos nitrogenados. Além disso, a respiração aeróbica dos organismos cultivados e da microbiota presente no sistema de bioflocos também favorecem a acidificação do ambiente, pois, durante o metabolismo, o consumo de oxigênio resulta na produção de CO_2 , que, ao se dissolver na água, forma ácido carbônico (H_2CO_3). Este ácido se dissocia em íons hidrogênio (H^+) e bicarbonato (HCO_3^-), aumentando a concentração de H^+ e, conseqüentemente, diminuindo o pH da água (Andrade et al., 2015). Apesar disso, os tratamentos com 25% e 50% de volume de desnitrificação apresentaram uma recuperação nos níveis de pH após o início do processo de desnitrificação nesses tratamentos. Segundo a EPA (1993), Moura (2011) e Oliveira (2016), o processo de nitrificação consome 7,14 mg de CaCO_3 para cada mg de N-NH_4^+ oxidado, enquanto o processo de desnitrificação favorece a recuperação de 50% da alcalinidade consumida pela nitrificação, ou seja, cada mg NO_3^- reduzido a N_2 gasoso devolve ao sistema 3,57 mg de alcalinidade na forma de CaCO_3 . Isso ocorre porque, durante o processo de desnitrificação, ocorre a recuperação de alcalinidade devido o consumo de íons H^+ que resulta em uma maior concentração relativa de íons bicarbonato (HCO_3^-) no meio, os quais são responsáveis por tamponar a acidez, aumentar a alcalinidade e estabilizar o pH da água (Metcalf & Eddy, 2014; Jordão & Pêsoa, 2014). Nos tratamentos Controle e 5% essa recuperação dos níveis de pH não aconteceu ou não foi suficiente, resultando em médias mais baixas comparadas aos outros tratamentos, sendo atribuída à desnitrificação anaeróbica ausente ou insuficiente (Cai et al., 2013).

A alcalinidade refere-se à capacidade do sistema aquático de neutralizar ácidos, refletindo a concentração de substâncias básicas presentes na água (Maicá et al., 2018). As bases responsáveis por essa função são os carbonatos (CO_3^{2-}) e os bicarbonatos (HCO_3^-), cuja concentração é comumente expressa em termos de carbonato de cálcio (CaCO_3) equivalentes. Esses compostos desempenham um papel crucial na manutenção do equilíbrio ácido-base no ambiente aquático, conforme destacado por Furtado et al. (2011). Em sistema de cultivos que não usam renovação de água, como é o caso do sistema de bioflocos, Furtado et al. (2011) sugerem que os níveis de alcalinidade sejam mantidos superiores a 100 mg L^{-1} de CaCO_3 , a fim de manter a condição necessária para a atividade das bactérias nitrificantes e dos demais organismos que compõem a biomassa bacteriana presente nos bioflocos, conforme descrito por Burford et al. (2003) e Avnimelech (2007). A reintegração da água desnitrificada elevou os níveis de alcalinidade, seguidos pela nitrificação, que gradualmente os reduzia. Essa tendência foi comum em todos os tratamentos com desnitrificação, evidenciando uma relação entre o volume de água desnitrificada e a alcalinidade. Nos tratamentos com água desnitrificada, houve menor necessidade de ajustes na alcalinidade e/ou pH. O aumento da alcalinidade pode ser explicado pela redução do nitrito a óxido

nítrico, que gera íons hidroxila (OH^-) que reagem com o CO_2 liberado, formando bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}), conforme descrito por Albina et al. (2019). Assim, os altos níveis iniciais de alcalinidade na água desnitrificada ajudaram a compensar o consumo por nitrificação e respiração, retardando a diminuição para níveis indesejáveis e minimizando a necessidade de correções. Esses resultados corroboram estudos como o de Melo Filho et al. (2020), que destacam os benefícios da água desnitrificada em sistemas de bioflocos, proporcionando economia em recursos e redução das práticas de manejo, diminuindo a frequência e a quantidade de compostos alcalinizantes necessários.

Durante as oito semanas de acompanhamento experimental, a concentração de amônia ficou consistentemente abaixo de 1,0 mg/L, valor dentro dos limites considerados seguros para *P. vannamei* (Lin & Chen, 2001), evidenciando um controle eficaz do composto nitrogenado sem a necessidade de fontes adicionais de carbono. Esse cenário resultou na dispensa do uso de fertilizantes orgânicos, como o melaço, que é comumente empregado em situações emergenciais para promover o crescimento de bactérias heterotróficas, especialmente nas fases iniciais de cultivo, quando as populações ainda de bactérias nitrificantes não atingem a maturação plena. Assim, a estabilidade das configurações de qualidade da água e o controle eficiente da amônia sugerem que o sistema de bioflocos utilizado estava em um estágio de maturação avançado, com população de bactérias nitrificantes plenamente funcional, capaz de realizar a oxidação da amônia..

Durante o período experimental, as concentrações de nitrito se mantiveram abaixo de 1,0 mg/L em todos os tratamentos, com flutuações mínimas, sempre dentro dos limites considerados seguros para o cultivo de *P. vannamei*, em sistemas de água marinha. A espécie tem uma elevada tolerância ao nitrito em condições salinas, como relatado por Cuzon et al. (1995), corroborando a maior resistência dos camarões marinhos à toxicidade do nitrito em comparação com os de água doce. Esta especificidade pode ser atribuída à interação dos íons cloreto (Cl^-) com o nitrito no ambiente aquático, sendo que a toxicidade do nitrito é inversamente proporcional à concentração de cloretos. Estudos de Svobodová et al. (2005) e Baldisserotto (2002) confirmam que essa relação linear é responsável por uma redução significativa dos efeitos tóxicos do nitrito, devido à competição entre os dois compostos pelos mesmos transportadores celulares. Dessa forma, as concentrações de nitrito observadas no presente experimento permaneceram dentro dos limites toleráveis para a espécie, indicando que o sistema de cultivo utilizado foi eficiente na manutenção da saúde dos camarões, sem comprometer seu desenvolvimento.

Com relação ao nitrato, concentrações superiores a 100 mg/L podem impactar negativamente a osmorregulação e o metabolismo, comprometendo o crescimento e saúde dos camarões (Racotta et al., 2002). A eficiente redução de nitrato, observada nos tratamentos com desnitrificação anaeróbica, é crucial para minimizar esses efeitos adversos. O declínio dos níveis de nitrato começou a partir do dia 33, com a reintegração da água desnitrificada nos tanques, sugerindo a eficácia do processo na remoção de nitrato.

Nos tanques onde a desnitrificação ocorreu em 5% do volume, os níveis de nitrato persistiram acima de 76 mg/L, em contraste com os tanques de 50%, que mantiveram os níveis consistentemente abaixo de 76 mg/L, com mínimos de 34 mg/L no dia 51, indicando a necessidade de ajustar a frequência da desnitrificação conforme o volume tratado para otimizar os benefícios do sistema de bioflocos.

Em todos os tratamentos, os níveis de fosfato se mostraram superiores a 1,0 mg/L, o que é indesejável, pois concentrações elevadas propiciam o crescimento desmedido de algas e comprometem a qualidade da água (Crab et al., 2007). Entretanto, observou-se que o processo de desnitrificação anaeróbica resultou na redução dos níveis de fosfato em comparação ao tratamento controle, corroborando com Zhang et al. (2014), que afirmam que esse processo pode diminuir o fosfato ao liberar o adsorvido ou ao precipitar com íons metálicos.

Quanto aos sólidos suspensos totais (SST), os tratamentos mantiveram níveis próximos a 300 mg/L, sem variações significativas. No entanto, foram registrados períodos em que os valores de SST ultrapassaram os limites recomendados por Gaona et al. (2017), que estabelecem concentrações ideais entre 100 e 500 mg/L em sistemas de bioflocos para *P. vannamei*. Para mitigar esses episódios, técnicas de clarificação foram empregadas, conforme sugerido por Gaona et al. (2011). A formação de agregados microbianos, essencial para a desnitrificação anaeróbia, ocorre em sistemas de bioflocos, conforme descrito por Crab et al. (2007). A presença de sólidos suspensos foi vital para esse processo, pois as bactérias heterotróficas utilizam compostos orgânicos como fonte de carbono, facilitando a decomposição da matéria orgânica e liberando substratos metabolizáveis para as bactérias desnitrificantes. Portanto, uma adequada concentração de sólidos suspensos pode ter favorecido o crescimento e a atividade metabólica das bactérias na conversão de nitrato ou nitrito em nitrogênio gasoso.

Os sólidos sedimentáveis, indicadores cruciais da qualidade da água em aquicultura, mantiveram-se dentro de faixas aceitáveis para o cultivo de *P. vannamei* em bioflocos. De acordo com os critérios de Crab et al. (2007), a média observada não apresentou variações significativas, sugerindo estabilidade ao longo do estudo. Conforme as diretrizes de Avnimelech (2007), recomenda-se que os níveis de sólidos sedimentáveis fiquem abaixo de 20 ml/L para garantir condições ideais de manejo e saúde dos camarões. A estabilidade nos níveis de sólidos sedimentáveis indica que a desnitrificação não influenciou esse parâmetro, mantendo os sistemas dentro dos padrões aceitáveis.

No estudo, a salinidade permaneceu estável entre 29,22 g/L e 30,23 g/L, sem variações significativas, favorecendo o cultivo de *P. vannamei* em sistemas de bioflocos. Essa estabilidade reduz o estresse nos camarões e melhora a conversão alimentar, impactando positivamente o desempenho produtivo e a osmorregulação. A faixa ideal de salinidade para o cultivo de *Litopenaeus vannamei* tem sido discutida por diferentes autores, com Ponce-Palafox et al. (2019) relatando um crescimento e sobrevivência significativamente reduzidos de juvenis em 10 ppt em comparação com 20 ou 30 ppt.

Maica et al. (2014) observaram uma sobrevivência significativamente maior em 32 ppt do que em 4,0 e 16 ppt, com o crescimento tendendo a melhorar com o aumento da salinidade, mas sem diferenças significativas. Decamp et al. (2003) não encontraram diferenças significativas na sobrevivência, mas observaram um peso final reduzido em 9,0 ppt quando comparado a 36 ppt para juvenis cultivados em 9, 18 e 36 ppt.

A salinidade adequada também minimiza a toxicidade de compostos nitrogenados, como amônia e nitrito, e é crucial para a microbiota responsável pela nitrificação e desnitrificação, que convertem amônia em nitrogênio gasoso, reduzindo a carga nitrogenada no cultivo (Avnimelech, 2007).

4.2 Desempenho zootécnico

As parâmetros de desempenho zootécnico, tais como peso final, biomassa final, ganho de peso semanal e conversão alimentar aparente, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, indicando que, no que tange ao crescimento e à eficiência alimentar, a desnitrificação não gerou efeitos substanciais sobre esses indicadores. Isso implica que, apesar das variações no volume de água desnitrificada aplicadas durante o cultivo de *P. vannamei*, os camarões mantiveram um desempenho semelhante em termos de crescimento, o que pode ser interpretado como uma evidência de que os níveis de nitrato não foram suficientemente elevados para impactar níveis desses aspectos do desenvolvimento zootécnico. No entanto, as análises revelaram diferenças significativas no parâmetro de sobrevivência, o que aponta para uma resposta diferenciada dos organismos em relação ao estresse ambiental associado aos tratamentos de desnitrificação.

Embora todas os tratamentos tenham exibido taxas de sobrevivência superiores a 74%, esses resultados estão em consonância com os dados de Ray et al. (2010), que reportaram uma taxa média de sobrevivência de 71% para juvenis de *P. vannamei*. A discrepância nas taxas de sobrevivência pode ser atribuída às concentrações elevadas de nitrato observadas nos grupos controle e 5%, que ocasionaram problemas fisiológicos, diminuição da taxa de crescimento e a redução da imunidade. Segundo Tavares et al. (2020), níveis elevados de nitrato comprometem negativamente o sistema imunológico dos organismos, tornando-os mais vulneráveis a patologias. Ademais, a toxicidade do nitrato pode provocar a conversão da hemoglobina em metemoglobina, prejudicando a respiração dos organismos. Estudos realizados por Van Wyk e Scarpa (1999) e Furtado et al. (2011) demonstram que altas concentrações de nitrato podem induzir efeitos subletais, enquanto níveis inferiores a 100 mg/L não acarretam impactos significativos na mortalidade ou no consumo alimentar. Os dados obtidos indicaram que as concentrações de nitrato foram inferiores nos tratamentos de 25% e 50%, refletindo maior sobrevivência nos grupos expostos a menores concentrações desse composto. Ebeling et al (2006) ressaltam que o acúmulo de nitrato em sistemas fechados é prejudicial, recomendando a desnitrificação para melhorar o desempenho produtivo de *P. vannamei*. A densidade excessiva, como mencionado por Areneda et al (2008), pode

resultar em efeitos adversos sobre o ganho de peso, afetar negativamente o fator de conversão alimentar (Decamp et al., 2007), promover o acúmulo de compostos nitrogenados na água (Martin et al., 1998), intensificar o estresse nos camarões (Li et al., 2006) e aumentar a suscetibilidade a doenças (Arnold et al., 2006). Essa observação é corroborada pelos achados de Furtado et al. (2011), que assinalam que níveis elevados de nitrato podem prejudicar a conversão alimentar ao interferir no metabolismo dos organismos.

4.3 Histopatologia

As modificações observadas no tratamento de controle podem ser atribuídas ao acúmulo de compostos nitrogenados, especialmente nitrato, cujas concentrações foram apresentadas superiores no dia 0 do experimento. Lin e Chen (2001, 2003) destacam o potencial tóxico do nitrato em tecidos branquiais, ressaltando que uma exposição prolongada a compostos nitrogenados pode ocasionar danos severos à saúde dos animais aquáticos. A dilatação dos túbulos no hepatopâncreas e a hiperplasia nas brânquias indicadas no tratamento de 5% sugerem que a desnitrificação, mesmo em volumes moderados, pode ter proporcionado um ambiente mais favorável, atenuando os efeitos adversos do acúmulo de nitratos. Este achado é corroborado pelos resultados apresentados por Furtado et al. (2011), que indicam a não detecção de altas concentrações de amônia e nitrito em sistemas que utilizam bioflocos, demonstrando a eficácia do inóculo de bioflocos no controle de. As alterações observadas no tratamento de 25% indicam que a intensificação da desnitrificação impactou de maneira benéfica a saúde dos camarões, embora os efeitos da hiperplasia tenham sido permanentes, possivelmente associados ao estresse ambiental decorrente do acúmulo contínuo de nitratos. Lin e Chen (2003) destacam que o nitrato se acumula no meio de cultivo, alcançando concentrações acima dos níveis seguros. Os resultados do tratamento de 50% sugerem que a desnitrificação eficiente não apenas atenuou os efeitos esperados do nitrato, mas também resultou em um desempenho zootécnico superior, refletido no tratamento com maior sobrevivência. É relevante observar que a hiperplasia branquial pode comprometer a respiração dos camarões, uma vez que o espessamento do epitélio interfere na troca gasosa, dificultando a oxigenação e, por conseguinte, prejudicando o desempenho geral do organismo (Cheng e Chen, 2002). De modo geral, é possível observar a relação direta entre a concentração de nitrato e o estado de saúde dos camarões, com o tratamento controle, caracterizado por concentrações elevadas de nitrato, associadas a lesões graves em tecidos branquiais e hepatopâncreas. Por outro lado, os tratamentos com desnitrificação trouxeram uma redução desses efeitos adversos, evidenciando a importância do manejo adequado dos compostos nitrogenados na aquicultura. Essas evidências reforçam a necessidade de estratégias de desnitrificação mais eficientes em sistemas de cultivo, com vistas à preservação do bem-estar dos organismos aquáticos.

5. CONCLUSÃO I

Este estudo reforça a importância do controle rigoroso da qualidade da água na aquicultura intensiva, destacando a desnitrificação anaeróbica como uma estratégia fundamental para promover um ambiente de cultivo eficiente, com foco na redução das concentrações de nitrato, favorecendo o desenvolvimento de *P. vannamei*. A eficácia do tratamento com 50% de volume, que atingiu as interrupções ideais para a remoção de nitrato, foi benéfica para a sobrevivência dos camarões e minimizou os impactos negativos no desempenho zootécnico. Além disso, as análises histopatológicas indicaram que, à medida que o volume de tratamento aumentava, os danos nos tecidos dos camarões diminuía, sendo relativamente menores do que no tratamento controle. O tratamento com 50% do volume apresentou menor intensidade de alterações patológicas, como dilatação dos túbulos no hepatopâncreas e hiperplasia nas brânquias, em comparação com o controle, indicando que a redução do nitrato tem um impacto positivo na saúde dos camarões. Esses resultados destacam a influência do nitrato na fisiologia do *P. vannamei*, evidenciando a importância da gestão adequada dos compostos nitrogenados para promover um ambiente mais saudável e sustentável no cultivo.

6. MATERIAL E MÉTODOS II

6.1 Condições experimentais

O trabalho foi realizado no Laboratório de Carcinocultura da Estação Marinha de Aquicultura (EMA-FURG) em Rio Grande-RS, Brasil e foi conduzido ao longo de um período de quatro dias.

6.2 Preparação dos sólidos

Após a conclusão do Experimento I, foi realizado o preparo dos sólidos concentrados. Para isso, foi feita uma desnitrificação da água de um cultivo aleatório de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos. A solução de sólidos concentrados foi redistribuída nos reatores, na proporção determinada em cada tratamento.

6.3 Delineamento experimental

Foram realizados seis tratamentos, com três repetições, totalizando 18 unidades experimentais. No tratamento controle (TC) foi feita a desnitrificação convencional sem a adição de sólidos concentrados, apresentando uma concentração inicial de 500 mg/L. Os demais tratamentos consistiram na desnitrificação com diferentes concentrações de adição de sólidos concentrados (550 (T550), 1.000 (T1000), 1.500 (T1500), 2.000 (T2000) e 2.500 (T2500) mg/L). Utilizaram-se reatores retangulares de polietileno de fundo plano com capacidade total de 60 litros, sendo 25 litros de volume útil. Esses reatores foram abastecidos com água marinha proveniente de um cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, com uma concentração de nitrato de 102 mg/L. Não foi implementado nenhum sistema de aeração e/ou homogeneização nos reatores.

6.4 Desnitrificação

A metodologia para o processo de desnitrificação seguiu protocolos determinados por Brandão et al. (2023). Em cada tratamento, o início do processo foi realizado mediante a incorporação de açúcar comum, contendo 40% de carbono orgânico, estabelecendo uma relação carbono: nitrogênio de 3: 1, com base na soma das concentrações de amônia, nitrito e nitrato presentes. A água utilizada nos reatores de desnitrificação foi extraída de tanque de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos da própria estação; de cultivo pertinentes a cada tratamento.

6.5 Monitoramento da qualidade de água

Os parâmetros de oxigênio dissolvido, temperatura e pH (O foram monitorados a cada hora, até a estabilização do pH. Após esse momento, os mesmos passaram a ser avaliados a cada 12 horas. As concentrações de amônia, nitrito, nitrato (UNESCO, 1983; Strickland e Parsons, 1972; Aminot e Chaussepied, 1983) e alcalinidade foram analisadas a cada 12 horas. Quando o pH atingia valores $\leq 8,0$, era adicionada uma solução de hidróxido de sódio (NaOH, 1M). O processo de desnitrificação foi finalizado quando as concentrações de nitrito e nitrato se aproximaram de 0 mg/L. Foi considerado finalizado o processo quando as concentrações de nitrito e nitrato se aproximaram de 0 mg/L. As análises de fosfato ($P-PO_4^{3-}$) foram realizadas duas vezes durante o experimento, uma no início e outra no final, bem como as análises de salinidade, realizadas por meio de sonda multiparamétrica (Hanna, modelo HI 98194). Os sólidos suspensos totais foram quantificados duas vezes por meio de gravimetria, filtrando alíquotas de 50 mL de água em filtros de fibra de vidro previamente secos em estufa a 60 °C por 24 horas. Após a filtragem, os filtros foram novamente secos e pesados em uma balança analítica de precisão até a obtenção de peso constante, e a estimativa dos sólidos foi obtida pela diferença entre o peso inicial e o final dos filtros (AOAC, 2000).

6.6 Análises de dados

As análises estatísticas da qualidade da água foram realizadas com o software Past. A homocedasticidade das variâncias e a normalidade dos dados foram verificadas pelos testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Para a comparação dos diferentes tratamentos, foi utilizada uma ANOVA de uma via ($\alpha = 0,05$), seguida pelo teste de Tukey, assegurando a validade das conclusões obtidas.

7. RESULTADOS II

7.1 Qualidade de água

Na Fase II não foram identificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos em relação à temperatura, fosfato, pH e salinidade. Foram encontradas diferenças significativas no oxigênio dissolvido, alcalinidade, amônia, nitrito e nitrato. Os parâmetros de qualidade da água encontram-se na tabela 3.

Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água proveniente de um cultivo de *P. vannamei* submetida a desnitrificação com adição de diferentes

Parâmetros	Tratamentos*					
	TC	T550	T1000	T1500	T2000	T2500
Temperatura (°C)	29,23 $\pm$ 0,40	29,26 $\pm$ 0,36	29,17 $\pm$ 0,33	29,29 $\pm$ 0,41	29,21 $\pm$ 0,37	29,14 $\pm$ 0,31
Oxigênio dissolvido (mg/L)	1,95 $\pm$ 0,21 ^a	1,25 $\pm$ 0,03 ^b	0,67 $\pm$ 0,07 ^c	0,35 $\pm$ 0,09 ^d	0,33 $\pm$ 0,10 ^d	0,20 $\pm$ 0,01 ^d
pH	7,93 $\pm$ 0,01	7,98 $\pm$ 0,02	7,99 $\pm$ 0,04	7,95 $\pm$ 0,03	7,91 $\pm$ 0,02	7,96 $\pm$ 0,03
Salinidade (g/L)	31,16 $\pm$ 1,32	31,16 $\pm$ 1,32	31 $\pm$ 1,26	30,83 $\pm$ 0,98	30,66 $\pm$ 0,81	30,05 $\pm$ 0,54
P-Fosfato (mg/L)	2,22 $\pm$ 0,03	2,22 $\pm$ 0,02	2,29 $\pm$ 0,07	2,31 $\pm$ 0,12	2,28 $\pm$ 0,04	2,20 $\pm$ 0,04
Alcalinidade média (mg CaCO ₃ /L)	635 $\pm$ 34,77 ^a	504 $\pm$ 46,54 ^b	464 $\pm$ 21,07 ^b	476,66 $\pm$ 37,54 ^b	489,66 $\pm$ 64,93 ^b	506,33 $\pm$ 51,54 ^b
Alcalinidade inicial (mg CaCO ₃ /L)	160 $\pm$ 5,00	160 $\pm$ 5,00	160 $\pm$ 5,00	160 $\pm$ 5,00	160 $\pm$ 5,00	160 $\pm$ 5,00
Alcalinidade final (mg CaCO ₃ /L)	960 $\pm$ 26,45	806,66 $\pm$ 30,55	756,66 $\pm$ 49,32	816,66 $\pm$ 142,94	890 $\pm$ 240,20	903,33 $\pm$ 195,02
NAT médio (mg/L)	9,46 $\pm$ 1,63 ^a	9,22 $\pm$ 1,10 ^a	8,41 $\pm$ 1,15 ^a	16,57 $\pm$ 3,00 ^b	10,13 $\pm$ 3,32 ^{ab}	9,45 $\pm$ 2,08 ^a
NAT inicial (mg/L)	0,01 $\pm$ 0,45	0,01 $\pm$ 0,45	0,01 $\pm$ 0,45	0,01 $\pm$ 0,45	0,01 $\pm$ 0,45	0,01 $\pm$ 0,45
NAT final (mg/L)	24,1 $\pm$ 4,29	23,33 $\pm$ 4,04	19,66 $\pm$ 3,78	35,66 $\pm$ 5,03	25,66 $\pm$ 8,62	22 $\pm$ 4,35
N-Nitrito médio(mg/L)	13,27 $\pm$ 1,30 ^a	12,46 $\pm$ 0,94 ^a	9,41 $\pm$ 1,69 ^b	7,87 $\pm$ 0,32 ^{bc}	4,94 $\pm$ 1,13 ^c	4,8 $\pm$ 0,85 ^c
N-Nitrito Inicial (mg/L)	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01
N-Nitrito final (mg/L)	0,43 $\pm$ 0,10	0,1 $\pm$ 0,06	0,09 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,25	0,12 $\pm$ 0,05	0,27 $\pm$ 0,19
N-Nitrato médio (mg/L)	30,76 $\pm$ 4,10 ^a	39,90 $\pm$ 1,40 ^b	41,09 $\pm$ 1,29 ^b	39,39 $\pm$ 2,00 ^b	44,79 $\pm$ 1,44 ^c	40,89 $\pm$ 3,05 ^b
N-Nitrato inicial (mg/L)	102,33 $\pm$ 2,51	102,33 $\pm$ 2,51	102,33 $\pm$ 2,51	102,33 $\pm$ 2,51	102,33 $\pm$ 2,51	102,33 $\pm$ 2,51
N-Nitrato Final (mg/L)	0,35 $\pm$ 0,23	0,11 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,07

concentrações de sólidos suspensos totais.

NAT= Nitrogênio Amoniacal Total (N-NH₃ + N-NH₄⁺); *Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas (p<0,05).

A temperatura da água manteve-se em 29°C em todos os tratamentos experimentais, não apresentando diferenças significativas entre eles. O oxigênio dissolvido (OD), apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, com uma redução acentuada à medida que aumentou a concentração de sólidos sedimentáveis totais. O tratamento controle, com concentração de sólidos suspensos totais

(SST) de 500 mg/L, exibiu a maior concentração de oxigênio dissolvido ao longo do experimento, atingindo uma média de 1,95 mg/L. Em contrapartida, o tratamento que apresentou a maior carga de SST, equivalente a 2.500 mg/L, resultou na menor concentração de oxigênio dissolvido, com um valor de apenas 0,20 mg/L. Este comportamento foi particularmente evidente nas primeiras horas do experimento, quando as concentrações de oxigênio no tratamento controle se mantiveram relativamente estáveis e próximas de 4,0 mg/L, enquanto nos tratamentos experimentais, as concentrações de oxigênio dissolvido decaíram rapidamente, alcançando valores próximos a 0,0 mg/L rapidamente, evidenciando a maior demanda de oxigênio nesses tratamentos.

O pH não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento controle, manteve um pH de 7,93, o tratamento com 550 mg/L de SST obteve um pH de 7,98, muito próximo ao controle, seguido pelos tratamentos com 1.000 mg/L (7,99) e 1500 mg/L (7,95). Os tratamentos com 2.000 mg/L e 2.500 mg/L de SST apresentaram pH de 7,91 e 7,96, respectivamente. Os tratamentos 550, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 mg/L iniciaram o processo de estabilização do pH antes do tratamento controle, devido as quedas precoces nas concentrações de oxigênio nos tratamentos com maiores concentrações de SST. Além disso, o período de estabilização do pH nos tratamentos experimentais foi consideravelmente menor que no tratamento controle, sendo os tratamentos 550, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/L equivalentes a 7, 7, 7, 6, 6 horas, e o controle 12 horas. A quantidade de solução de hidróxido de sódio utilizada para manter o pH entre 7 e 9 foi diferente entre os tratamentos, sendo 550, 1000, 1500, 2000 e 2500 mg/L iguais a 14, 12, 12, 8, 8 e 8 ml/L.

A alcalinidade foi analisada tanto de forma média quanto inicial e final, e apresentou diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. A alcalinidade média foi considerada como o valor representativo ao longo de todo o experimento, enquanto as medições inicial e final indicaram as flutuações ao longo do tempo. No tratamento controle (500 mg/L de SST), a alcalinidade média foi de 635 mg CaCO_3/L , sendo superior a todos os outros tratamentos com maiores concentrações de SST. A alcalinidade final do controle foi significativamente mais alta (960 mg CaCO_3/L), indicando um aumento considerável ao longo do período experimental. Nos tratamentos com 550 mg/L de SST, a alcalinidade média foi de 504 mg CaCO_3/L , apresentando uma redução significativa quando comparado ao controle. A alcalinidade final também diminuiu para 806,66 mg CaCO_3/L , sendo mais alta do que a de tratamentos com maiores concentrações de SST. Com o aumento da concentração de SST, o tratamento de 1000 mg/L apresentou uma alcalinidade média de 464 mg CaCO_3/L , sendo a mais baixa observada entre os tratamentos. A alcalinidade final para este tratamento foi de 756,66 mg CaCO_3/L , refletindo uma queda substancial em relação ao controle e aos tratamentos com menores concentrações de SST. Nos tratamentos com 1500 mg/L e 2000 mg/L de SST, as alcalinidades médias foram de 476,66 mg CaCO_3/L e 489,66 mg CaCO_3/L , respectivamente, mantendo-se dentro da faixa próxima ao tratamento com 1000

mg/L. As alcalinidades finais para esses tratamentos foram 816,66 mg CaCO₃/L e 890 mg CaCO₃/L, com um aumento em relação à alcalinidade média, mas ainda inferiores ao controle. O tratamento com 2500 mg/L de SST apresentou a alcalinidade média de 506,33 mg CaCO₃/L, semelhante aos tratamentos com 1500 mg/L e 2000 mg/L. Sua alcalinidade final foi de 903,33 mg CaCO₃/L, a mais alta entre os tratamentos de maior concentração de SST, mas ainda assim inferior à do controle, como demonstrado na figura 7.

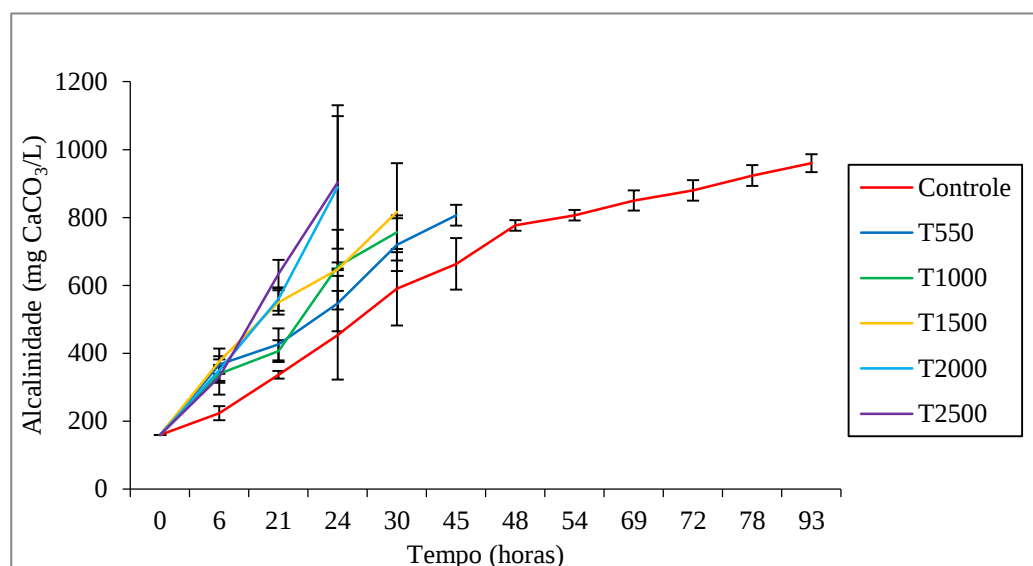


Figura 7 - Variação da Alcalinidade durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.

A amônia apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, com valores mais elevados observados no tratamento de 1500 mg/L de SST (16,57 mg/L), apresentando uma elevação acentuada em comparação aos demais. O tratamento controle (500 mg/L) apresentou uma concentração de 9,46 mg/L, valor semelhante ao do tratamento de 550 mg/L (9,22 mg/L) e ao do tratamento de 2500 mg/L (9,45 mg/L). O tratamento de 1000 mg/L resultou em uma leve redução na concentração de amônia (8,41 mg/L), enquanto o de 2000 mg/L apresentou um valor intermediário (10,13 mg/L). A amônia inicial permaneceu constante em todos os tratamentos (0,01 mg/L), mas os valores finais revelaram um acúmulo expressivo ao longo do experimento, com destaque para o tratamento de 1500 mg/L, que atingiu a maior concentração final (35,66 mg/L). O tratamento controle, por sua vez, apresentou uma concentração final de 24,1 mg/L, enquanto os demais tratamentos oscilaram entre 19,66 mg/L (1000 mg/L) e 25,66 mg/L (2000 mg/L), indicando que o acúmulo de amônia foi influenciado pela concentração de SST. A concentração de nitrito também apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, com valores médios significativamente menores à medida que a concentração de SST aumentou. O tratamento controle registrou a maior concentração média (13,27 mg/L), seguido pelo tratamento de 550 mg/L (12,46

mg/L). O tratamento de 1000 mg/L apresentou uma redução expressiva (9,41 mg/L), enquanto os tratamentos de 1500 mg/L (7,87 mg/L), 2000 mg/L (4,94 mg/L) e 2500 mg/L (4,8 mg/L) demonstraram as menores concentrações médias. A concentração inicial de nitrito foi homogênea em todos os tratamentos (0,09 mg/L). O tratamento controle registrou um nitrito final de 0,43 mg/L, enquanto o tratamento de 550 mg/L apresentou uma redução para 0,1 mg/L. Os tratamentos de 1000 mg/L (0,09 mg/L) e 2000 mg/L (0,12 mg/L) também mantiveram concentrações reduzidas. Os tratamentos de 1500 mg/L e 2500 mg/L, no entanto, apresentaram valores finais ligeiramente superiores (0,24 mg/L e 0,27 mg/L, respectivamente). O nitrato demonstrou diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento controle apresentou a menor concentração de nitrato (30,76 mg/L), enquanto os tratamentos de 550 mg/L (39,90 mg/L), 1000 mg/L (41,09 mg/L), 1500 mg/L (39,39 mg/L) e 2500 mg/L (40,89 mg/L) mantiveram valores superiores ao controle. O tratamento de 2000 mg/L apresentou a maior concentração de nitrato (44,79 mg/L). As concentrações iniciais de nitrato foram uniformes entre os tratamentos (102,33 mg/L), enquanto os valores das concentrações finais, em todos os tratamentos, ficaram próximas a 0 mg/L, como mostram as figuras 8, 9 e 10.

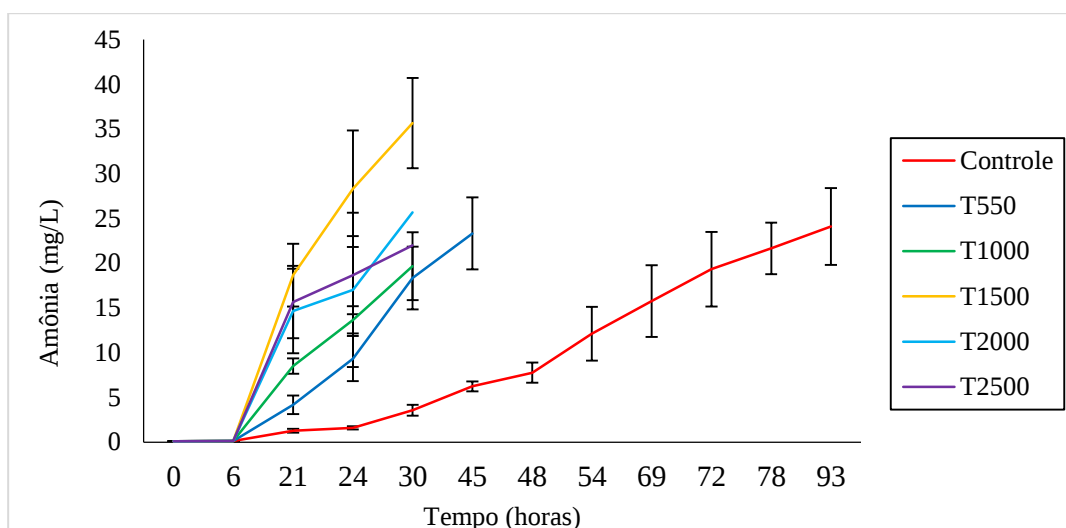


Figura 8 - Variação da Amônia durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.

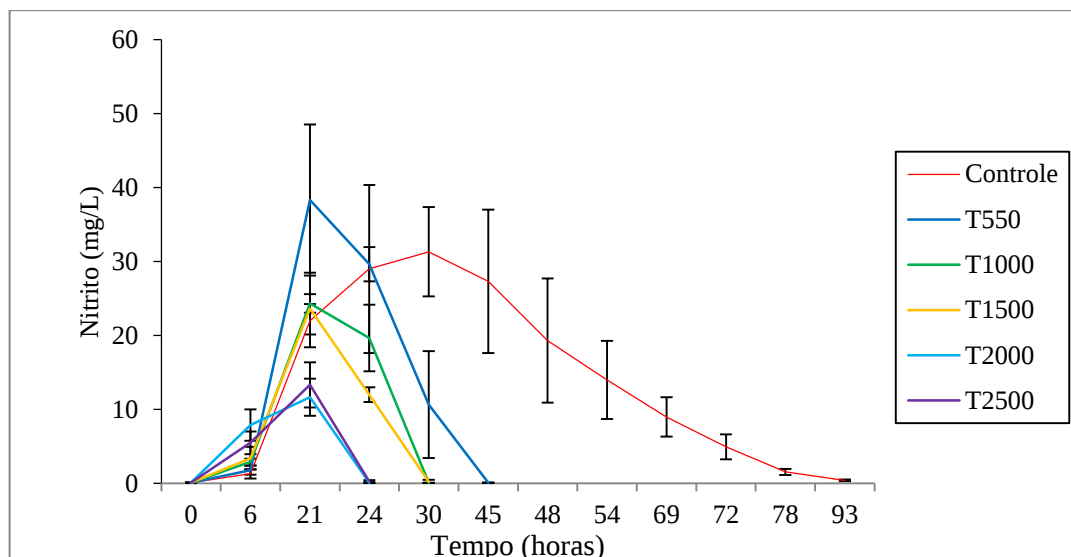


Figura 9 - Variação do nitrito durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.

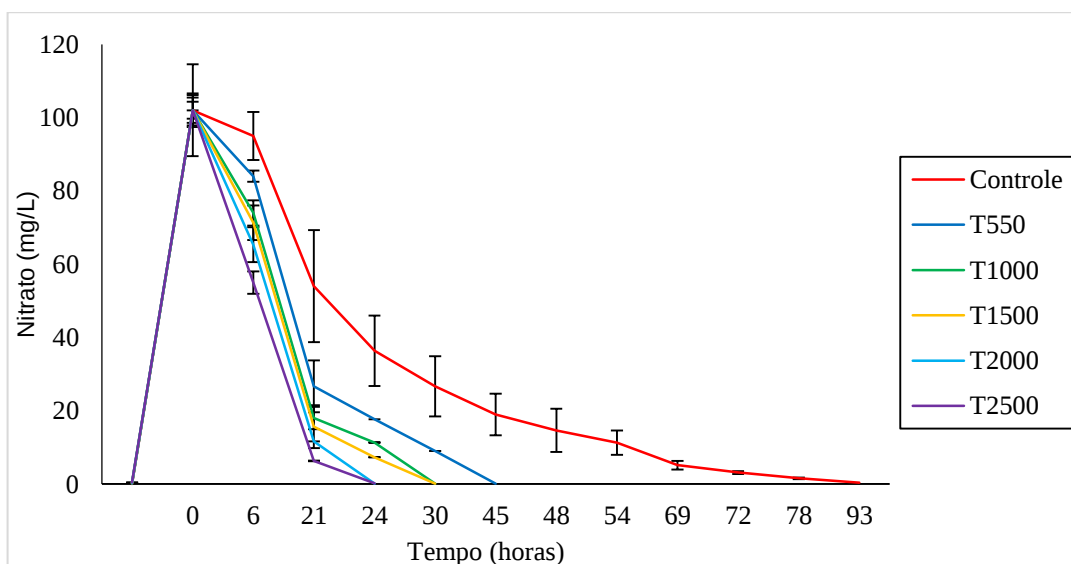


Figura 10 - Variação do nitrato durante 93 horas de desnitrificação anaeróbica em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, utilizando diferentes concentrações de sólidos suspensos totais.

A salinidade e o fosfato não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, obtendo valores de salinidade entre 30 e 31 g/L e valores de fosfato próximos a 2,0 mg/L.

7.2 Influência da concentração de sólidos no tempo da remoção do nitrato

Inicialmente, todas as amostras apresentaram concentrações de nitrato de 102,33 mg/L. No entanto, com o avanço do tempo, as diferenças entre os tratamentos tornaram-se mais evidentes, destacando-se a redução mais acentuada nos tratamentos com maior concentração de sólidos suspensos totais (SST). O tratamento de 2500 mg/L demonstrou a maior taxa de remoção nas primeiras horas, reduzindo sua concentração para 55 mg/L em apenas 6 horas, enquanto o tratamento controle manteve um valor significativamente superior, de 95 mg/L. Essa tendência se acentuou ao longo do experimento, e,

após 21 horas, o tratamento de 2500 mg/L já apresentava apenas 6,33 mg/L de nitrato, enquanto o controle ainda mantinha 54 mg/L. Após 24 horas de experimento, o tratamento de 1500 mg/L atingiu uma concentração mínima de 0,12 mg/L, enquanto o controle ainda registrava 36,33 mg/L. O padrão de redução evidenciou uma relação direta entre o aumento da concentração de SST e a eficiência na remoção de nitrato, com os tratamentos de 2000 mg/L e 2500 mg/L alcançando concentrações próximas a 0 mg/L em apenas 24 horas. Da mesma forma, os tratamentos de 1000 mg/L e 1500 mg/L atingiram esse patamar em 30 horas, enquanto o tratamento de 550 mg/L levou 45 horas para completar a remoção do nitrato. O tratamento controle, por sua vez, apresentou a remoção mais lenta, alcançando concentrações próximas de 0 mg/L apenas após 93 horas.

8. DISCUSSÃO II

Observou-se que a temperatura manteve-se estável, oscilando entre 29,14 °C e 29,29 °C, dentro da faixa ideal entre 20 e 35 °C conforme Cuervo-López et al. (2009), favorecendo a atividade das bactérias desnitrificantes e confirmando que esse parâmetro não limitou o processo. Já o oxigênio dissolvido apresentou redução significativa nos tratamentos com maiores concentrações de sólidos, destacando a criação de condições anóxicas necessárias para a desnitrificação, dado que o oxigênio, quando presente, pode inibir a atividade da óxido nítrico redutase (Cuervo-López et al., 2009).

O pH variou pouco entre os tratamentos devido a adição de hidróxido de sódio realizada e permaneceu entre 7,91 e 7,99, dentro da faixa adequada para desnitrificação segundo Wicht (1996). Isso favoreceu a eficiência da conversão de nitrito a nitrogênio gasoso, sendo que a rápida estabilização do pH nos tratamentos com sólidos sugere um ambiente mais favorável à atividade microbiana.

A alcalinidade no sistema apresentou uma dinâmica diretamente influenciada pela concentração de sólidos suspensos totais, evidenciando uma correlação entre a elevação desses sólidos e o incremento na concentração de alcalinidade ao término do experimento. Esse comportamento pode ser atribuído às reações bioquímicas inerentes ao processo de desnitrificação, uma vez que, com o aumento da biomassa microbiana, intensificou-se a conversão biológica do nitrato em nitrogênio molecular. Durante essa conversão, utilizando material orgânico como doador de elétrons, as bactérias desnitrificantes facultativas, na ausência de oxigênio dissolvido (OD), empregam o nitrato como agente oxidante, consumindo-o de maneira vigorosa. Esse processo resulta na liberação expressiva de alcalinidade dentro do sistema, uma vez que a desnitrificação consome 1 mol de H^+ por mol de nitrato reduzido, promovendo a produção de 50 g $CaCO_3$ por mol de N (Bueno, 2011). No contexto experimental, a maior concentração de sólidos (2500 mg/L) esteve associada a um consumo mais intenso de compostos alcalinos, indicando elevada atividade microbiológica. Estima-se que, para cada grama de nitrato reduzido, pelo menos 4,57 g de $CaCO_3$ sejam consumidos e 7,5 g de SO_4^{2-} sejam gerados (Sahinkaya et al., 2011; Sahinkaya & Kilic,

2014). Dessa forma, a presença robusta de biomassa microbiana acelerou a desnitrificação, refletindo diretamente na liberação de alcalinidade no meio. Em contrapartida, o tratamento controle apresentou um comportamento distinto. Apesar de conter uma comunidade bacteriana menos densa, a alcalinidade final foi elevada, o que se contrapõe à lógica do maior consumo de alcalinidade em ambientes altamente desnitrificantes. Esse comportamento pode ser explicado pela maior duração do processo no tratamento controle, cujo tempo de desnitrificação foi superior ao dos demais tratamentos. Assim, o prolongado período de conversão do nitrato garantiu uma liberação contínua de alcalinidade, acumulando-a no meio ao longo do tempo. Quanto à salinidade e ao fosfato, ambos se mantiveram estáveis, não afetando o processo de desnitrificação.

A introdução de uma fonte de carbono orgânico viabilizou um suprimento energético para a comunidade microbiana, intensificando a atividade metabólica aeróbica. Segundo Krishna Mohan et al. (2016), esse fenômeno resultou em um aumento da respiração biológica e na rápida depleção do oxigênio dissolvido, especialmente nos tratamentos com maiores concentrações de sólidos suspensos totais, onde a biomassa microbiana elevada acelerou o consumo de oxigênio. Consequentemente, esses sistemas atingiram concentrações próximas a 0 mg/L antes dos tratamentos com menores teores de sólidos. A redução do oxigênio dissolvido criou um ambiente propício à desnitrificação, evidenciado pelo acúmulo de nitrito. Conforme Bueno (2011), a disponibilidade mínima de oxigênio é um fator determinante para o processo, conduzido por microrganismos anaeróbios facultativos, capazes de utilizar tanto oxigênio molecular quanto nitrato como aceptores finais de elétrons. A transição para o metabolismo anaeróbico foi caracterizada pelo acúmulo de nitrito, um intermediário da desnitrificação resultante da ação do nitrato redutase (Hochstein & Tomlinson, 1988). A desnitrificação ocorre por etapas sequenciais mediadas por grupos microbianos distintos, cada qual com respostas específicas às variações ambientais (Lin & Gu, 2020). Algumas linhagens reduzem apenas o nitrato a nitrito ou N_2O (Bothe et al., 2000), promovendo um acúmulo transitório dos intermediários até que a comunidade funcional responsável por sua conversão subsequente se estabeleça. Neste estudo, a remoção do nitrato foi altamente eficiente em todos os tratamentos, superando 99,89%, independentemente da concentração de sólidos suspensos. No entanto, a cinética do processo variou: nos tratamentos com 2000 e 2500 mg/L de SST, a desnitrificação foi concluída em 24 horas após a adição da fonte de carbono, enquanto no tratamento controle estendeu-se por aproximadamente 93 horas. Esse comportamento pode ser atribuído à maior biomassa nos sistemas mais concentrados, que antecipou a depleção de oxigênio e, consequentemente, o início da desnitrificação. Como a maioria dos desnitrificantes são anaeróbios facultativos heterotróficos (Holmes et al., 2019), a substituição do aceptor terminal de elétrons ocorreu rapidamente, permitindo a utilização do nitrato para metabolismo celular. A desnitrificação é realizada por uma ampla diversidade de microrganismos, incluindo *Bacillus*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Spirillum*, *Proteus*,

Aerobacter e *Flavobacterium* (Meng et al., 2014), além de ser reportada em nitrificantes quimioautotróficos (Zhu-Barker & Steenwerth, 2018). O processo ocorre via fosforilação oxidativa mediada pelo sistema citocromo, onde o nitrato assume o papel de aceptor final de elétrons na ausência de oxigênio (Liou & Madsen, 2008; Vieira, 2017). A disponibilidade de matéria orgânica é imprescindível, pois fornece carbono para a biomassa microbiana e atua como doador de elétrons, viabilizando as reações de redução.

9. CONCLUSÃO- II

Em síntese, a relação observada entre a concentração de sólidos suspensos totais (SST) e a aceleração do processo de desnitrificação destaca uma estratégia notável na otimização do manejo das concentrações de nitrato, especialmente em sistemas com restrições de espaço operacional, evidenciando uma notável flexibilidade e eficácia. A implementação do tratamento com 5,0% de volume, embora utilizando menores quantidades de água, mostrou-se viável, proporcionando reduções das concentrações de nitrato equiparáveis ao tratamento com 50%, sem comprometer a sustentabilidade do sistema. Além disso, a incorporação de hidróxido de sódio ao sistema revelou um efeito sinérgico essencial, cuja quantidade necessária diminuiu à medida que a concentração de sólidos suspensos totais aumentou. Esses resultados reforçam a necessidade de práticas de manejo sofisticadas, capazes de promover tanto a sustentabilidade ambiental quanto o bem-estar dos organismos cultivados, garantindo a longevidade e a estabilidade dos sistemas de aquicultura intensiva.

10. CONCLUSÃO GERAL

Este estudo ressalta a relevância do controle dos parâmetros de qualidade da água na aquicultura intensiva, destacando a desnitrificação anaeróbica como uma estratégia para promover um ambiente de cultivo eficiente, com ênfase na redução das concentrações de nitrato, favorecendo o desenvolvimento do *P. vannamei*. A eficácia do tratamento com 50% de volume, que atingiu as condições ideais para a remoção de nitrato, demonstrou-se benéfica não apenas para a sobrevivência dos camarões, mas também para a mitigação dos impactos adversos no desempenho zootécnico. As análises histopatológicas indicaram que, à medida que o volume de tratamento aumentava, os danos nos tecidos dos camarões diminuíram progressivamente, sendo significativamente menores em comparação com o tratamento controle. O tratamento com 50% de volume apresentou menor intensidade de alterações patológicas, como dilatação dos túbulos no hepatopâncreas e hiperplasia nas brânquias, em comparação com o controle, demonstrando que a redução do nitrato exerce um impacto positivo na saúde dos camarões. Esses resultados destacam a influência do nitrato na fisiologia de *P. vannamei*, evidenciando a

importância da gestão adequada dos compostos nitrogenados para promover um ambiente mais saudável e sustentável no cultivo. A relação entre a concentração de sólidos suspensos totais (SST) e a aceleração do processo de desnitrificação anaeróbica destaca uma estratégia notável na otimização do manejo das concentrações de nitrato, especialmente em sistemas com restrições de espaço operacional, evidenciando flexibilidade e eficácia. A implementação do tratamento com 5% de volume, embora utilizando menores quantidades de água, mostrou-se viável, fornecendo reduções das concentrações de nitrato equiparáveis ao tratamento com 50%, sem comprometer a sustentabilidade do sistema. Além disso, a incorporação de hidróxido de sódio ao sistema revelou um efeito sinérgico essencial, cuja quantidade necessária diminuiu à medida que a concentração de sólidos suspensos aumentava, otimizando ainda mais o processo de desnitrificação.

11. REFERÊNCIAS

- APHA-AWWA-WEF. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (20th ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Ab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., & Verstraete, W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 270(1–4), 1–14.
- Albina, P., Durban, N., Bertron, A., et al. (2019). Influence of hydrogen electron donor, alkaline pH, and high nitrate concentrations on microbial denitrification: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5163. <https://doi.org/10.3390/ijms20205163>
- Albina, S. D., Troeger, C., & Davis, D. A. (2019). Impacts of carbon dioxide and water hardness on nitrite toxicity to juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 504, 211–218.
- Aminot, A., & Chaussepied, M. (1983). *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest, CNE. XO, Paris.
- Andrade Lima, D., de Freitas Lima, J., de Sousa, T. A. T., Henrique, I. N., & de Sousa, J. T. (2015). II-055 - Desempenho de reator de algas imobilizadas no pós-tratamento de efluente anaeróbico na remoção de nutrientes e matéria orgânica remanescente.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Araneda, M., Pérez, E. P., & Gasca-Leyva, E. (2008). Cultivo de camarão branco *Penaeus vannamei* em diferentes densidades: estado de condição baseado em comprimento e peso. *Aquaculture*, 283, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.030>
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs Technology ponds. *Aquaculture*, 264, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.02>
- Avnimelech, Y. (2009). *Biofloc Technology - A Practical Guide*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA
- Boyd, C. E. (1998). *Pond aquaculture water quality management*. Springer Science & Business Media.
- Boyd, C. E. (2003). Guidelines for aquaculture effluent management at the farm level. *Aquaculture*, 226, 101–112.
- Boyd, C. E. (2015). Nitrogen and phosphorus in aquaculture. In *Aquaculture Pond Fertilization* (3rd ed., pp. 177–201). Wiley-Blackwell.
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (1998). *Pond aquaculture water quality management*. Kluwer, Boston.

- Brandão, H., Xavier, Í. V., Santana, G. K. K., Santana, H. J. K., Krummenauer, D., & Wasielesky, W. (2021). Heterotrophic versus mixed BFT system: Impacts on water use, suspended solids production, and growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2021.102194>
- Bueno, R. D. F. (2011). *Nitrificação e desnitrificação simultânea em reator com biomassa em suspensão e fluxo contínuo de esgoto* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Burford, M. A., Thompson, P. J., McIntosh, R. P., Bauman, R. H., & Pearson, D. C. (2003). Dinâmica de nutrientes e microbianos em viveiros de camarão de alta intensidade e troca zero em Belize. *Aqua. culture*. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00575-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00575-6)
- Cai, W., et al. (2013). Understanding the microbial processes and nitrogen removal in the bioreactor for treating seawater-based recirculating aquaculture system effluent. *Bioresource Technology*, 144, 281–288.
- Cheng, S. Y., & Chen, J. C. (2002). Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid–base balance of *Marsupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite and nitrate. *Aquatic Toxicology*, 61, 181–193.
- Cheng, S. Y., Tsai, S. J., & Chen, J. C. (2002). Accumulation of nitrate in the tissues of *Penaeus monodon* following exposure to nitrite.
- Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., & Verstraete, W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for sustainable production. *Aquaculture*, 270(1–4), 1–14.
- Cuzon, G., Cahu, C., Aldrin, J., Juinio-Meñez, M. A., & Bureau, D. P. (1995). Effet du nitrite sur la croissance et la survie juvéniles de la crevette tropicale *Penaeus vannamei* (Boone). *Aquatic Living Resources*, 8(4), 391–397.
- Danelon, J. R. B., Netto, F. M. L., & Rodrigues, S. C. (2012). Análise do nível de fósforo total, nitrogênio amoniacal e cloretos nas águas do córrego Terra Branca no município de Uberlândia (MG). *Revista Geonorte*, 1(4), 412–421.
- de Melo Filho, A. A., Câmara, M. R. S. A., Barros, H. P. M., Sipaúba-Tavares, L. H., & Bezerra, R. S. (2020). Performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared in biofloc technology and supplemented with different levels of carbonated water. *Aquaculture Research*, 51(8), 3059–3069.
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G., & Tacon, A. G. J. (2003). Efeito da salinidade na comunidade natural e produção de *Litopenaeus vannamei* (Boone), em sistema experimental de cultura com troca zero de água. *Aquaculture Research*, 34(4), 345–355. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00842.x>
- Decamp, O., Conquest, L., Cody, J., Forster, I., & Tacon, A. G. (2007). Efeito da densidade de estocagem de camarão no fitoplâncton fracionado por tamanho e grupos ecológicos de protozoários

- ciliados em sistemas de cultivo de camarão com troca zero de água. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(3), 395–406.
- Dutra, F. M., Alab, J. H., Costa Gomes, M. K., Furtado, P. S., Valenti, W. C., & Ballester, E. L. (2020). Nitrate acute toxicity to post-larvae and juveniles of *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862). *Chemosphere*, 242, 125229. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125222>
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B., & Bisogni, J. J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, 346–358.
- El-Sayed, A. F. M. (2021). Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: A comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Reviews in Aquaculture*, 13, 676–705. <https://doi.org/10.1111/raq.12494>
- Ekasari, J., Muchlisin, Z. A., & Hasby, K. (2014). The potential use of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to control water quality and enhance the growth of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in a biofloc-based shrimp culture system. *AACL Bioflux*, 7(1), 1–8.
- Emerenciano, M., et al. (2014). Optimal levels of total suspended solids and stocking density of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive biofloc system. *Aquaculture Research*, 45(11), 1751–1762.
- Agência de Proteção Ambiental. (1993). Controle de nitrogênio. *EPA dos Estados Unidos*, Washington, DC.
- FAO. (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: Contributing to food security and nutrition for all*. FAO, Rome.
- FAO. (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020*. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
- Furtado, P. S., Poersch, L. H., & Wasielesky, W. Jr. (2011). Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bioflocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*, 321, 130–135.
- Furtado, P. S., Gaona, C. A. P., Poersch, L. H., & Wasielesky, W. (2014). Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc Technology (BFT). *Aquaculture International*, 22, 1009–1023. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9723-9>
- Franco Neto, I. F. (2011). *Estudo dos processos de nitrificação e desnitrificação numa Estação de Tratamento de Águas Residuais*. Dissertação de Mestrado, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa-PT.
- Gaona, C.A.P., Poersch, L.H., Krummenauer, D., et al. (2011). The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *International Journal of Recirculating Aquaculture*, 12. <https://doi.org/10.21061/ijra.v12i1.1354>

- Gaona, C. A. A., González, R. C. J., & Campaña, T. A. M. (2017). Cálculo del rendimiento de crías de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, cultivadas en sistema de bioflocos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 47(2), 199–206.
- Gaona, C. A. C., de Melo Filho, A. A., da Silva, D. C., & Coelho, A. A. (2017). Concentrações ótimas de sólidos suspensos totais (SST) no cultivo de camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) em sistema de bioflocos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(3), 410–421.
- Holmes, D. E., Dang, Y., & Smith, J. A. (2019). Nitrogen cycling during wastewater treatment. *Advances in Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.10.003>
- Jiang, L. X., Pan, L. Q., & Fang-Bo. (2005). Effect of dissolved oxygen on immune parameters of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 18, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.07.001>
- Jordão, E. P., & Pessoa, C. A. (2014). *Tratamento de esgotos domésticos* (7ª ed.). ABES.
- Jory, D. E., Cabrerias, R. T., Durwood, M. D., et al. (2001). A global review of shrimp feed management: Status and perspectives. *Aquaculture the World Aquaculture Society*, Baton Rouge.
- Kellock, K. A., Moore, A. P., & Bringolf, R. B. (2018). Chronic nitrate exposure alters reproductive physiology in fathead minnows. *Environmental Pollution*, 232, 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.004>
- Krummenauer, D., Abreu, P. C., Poersch, L., et al. (2020). The relationship between shrimp (*Litopenaeus vannamei*) size and biofloc consumption determined by the stable isotope technique. *Aquaculture*, 529, 735635. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735635>
- Kuhn, D. D., Smith, S. A., Boardman, G. D., et al. (2010). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>
- Li, E., Chen, L., Chen, L., Zhang, Y., & Qin, J. G. (2019). Effects of nitrite stress on the immune response, physiological metabolism and oxidative stress of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 504, 118–125.
- Li, Y., Li, J., & Wang, Q. (2006). The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*, 256(1–4), 608–616.
- Lin, Y.-C., & Chen, J.-C. (2001). Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259, 109–119.
- Lin, Y.C., & Chen, J.C. (2003). Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224, 193–201.

- Liu, J., Fang, C., Luo, Y., Ding, Y., & Liu, S. (2019). Effects of konjac oligo-glucomannan on the physicochemical properties of frozen surimi from red gurnard (*Aspitrigla cuculus*). *Food Hydrocolloids*, 89, 668–673. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.056>
- Liu, W., Tan, H., Luo, G., Yu, Y., Zhang, N., Yao, M., Li, S., & Fu, X. (2019). Effects of C/N ratio on nitrogen removal with denitrification phase after a nitrification-based biofloc aquaculture cycle. *Aquacultural Engineering*, 86. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2019.101994>
- Luo, G., Xu, J., & Meng, H. (2020). Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734675>
- Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., ... & Tan, H. (2013). Growth, digestive activity, welfare, and biofloc composition of genetically improved farmed tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*) in a biofloc-based system at different stocking densities. *Aquaculture*, 420, 105–111.
- Maicá, P. F., Furtado, P. S., da Silva Martins, Á. C., Miranda Filho, K. C., & Wasielesky Jr, W. . (2018). Efeito da alcalinidade no consumo alimentar de juvenis de camarão branco do Pacífico cultivados em sistema de água clara e bioflocos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 44(2)
- Maica, P. F., de Borba, M. R., Martins, T. G., & Junior, W. W. (2014). Efeito da salinidade no desempenho e na composição corporal de juvenis de camarão branco do Pacífico criados em sistema superintensivo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(7), 343-350. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000700001>.
- Martin, J. L. M., Veran, Y., Guelorget, O., & Pham, D. (1998). Shrimp rearing: Stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. *Aquaculture*, 164(1–4), 135–149.
- Martínez-Hernández, S., Olguín, E. J., Gómez, J., & Cuervo-López, F. D. M. (2009). Acetate enhances the specific consumption rate of toluene under denitrifying conditions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 57, 679–687.
- Metcalf and Eddy. (2003). *Wastewater engineering: Treatment, disposal and reuse* (3rd ed.). McGraw Hill, New York, USA.
- Metcalf, L., & Eddy, H. P. (2014). *Engenharia de águas residuais: Tratamento e recuperação de recursos* (5ª ed.). McGraw Hill.
- Melo Filho, M. E. S., Owatari, M. S., Mourinho, J. L. P., Lapa, K. R., & Soares, H. M. (2020). Application of nitrification and denitrification processes in a direct water reuse system for Pacific white shrimp farmed in biofloc system. *Aquacultural Engineering*, 88. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102043>
- Moura, R. B. (2011). *Desempenho de um reator vertical de fluxo contínuo e leito estruturado com recirculação de efluente, direcionado à aeração intermitente, na remoção de carbono e nitrogênio de*

- um efluente sintético* (Dissertação de Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- Naylor, R., Goldburg, R.J.H., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405, 1017-1024.
- Oliveira, J. G. B. (2016). *Reator de leite estruturado com aeração intermitente para tratamento combinado de esgoto sanitário e pós-tratamento de efluente de RALF* (Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.
- Philippot, L. (2002). Denitrifying genes in bacterial and Archaeal genomes. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Structure and Expression*, 1577, 355–376. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(02\)00420-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(02)00420-7)
- Poersch, L. H., Santos, M. H. S., Miranda, K. F., & Wasielesky, W. (2007). Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo*, 33(2), 247–252.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A., & Ross, L. G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157, 107–115. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00148-8)
- Ponce-Palafox, J. T., Pavia, A. A., López, D. G. M., Arredondo-Figueroa, J. L., Lango-Reynoso, F., Castañeda-Chávez, M. D. R., Esparza-Leal, H., Ruiz-Luna, A., Páez-Ozuna, F., Castillo-Vargas, S. G., & Peraza-Gómez, V. (2019). Análise da superfície de resposta dos efeitos da interação temperatura-salinidade na qualidade da água, crescimento e sobrevivência de pós-larvas do camarão *Penaeus vannamei* criadas em viveiro intensivo de produção de bioflocos. *Aquaculture*, 503, 312–321. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.020>
- Racotta, I. S., Palacios, E., & Méndes, L. (2002). Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture*, 227, 107–130.
- Ray, A. J., Lewis, B. L., & Browdy, C. L. (2010). Evaluation of a plant-based protein ingredient to replace fish meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 300(1–4), 81–88.
- Ray, J. A., Lewis, B. L., Browdy, C. L., & Leffler, J. W. (2010). Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*, 299, 89–98.
- Reis, W. G., Wasielesky, W., Abreu, P. C., Brandão, H., & Krummenauer, D. (2019). Rearing of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in BFT system with different photoperiods: Effects on the microbial community, water quality and zootechnical performance. *Aquaculture*, 508, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.067>

- Rezaee, A., Godini, H., Dehestani, S., & Kaviani, S. (2010). Isolation and characterization of a novel denitrifying bacterium with high nitrate removal: *Pseudomonas stutzeri*. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 7, 313–318.
- Samocha, T. M., Lawrence, A. L., & Lawrence, A. L. (2010). *Biofloc technology: A practical guide book*. World Aquaculture Society.
- Samocha, T. M., Wilkenfeld, J. S., Morris, T. C., Correia, E. S., & Hanson, T. (2010). Raciais intensivas sem troca de água analisadas para cultivo de camarão branco. *Global Aquaculture Advocate*, 13, 22–24.
- Samocha, T. M., Lawrence, A. L., & Lawrence, A. L. (2007). The effect of suspended solids and stocking density on the production and size distribution of *Litopenaeus vannamei* in a biosecure recirculating raceway system. *Aquacultural Engineering*, 36(2), 118–124.
- Sahinkaya, E., Dursun, N., Kilic, A., Demirel, S., Uyanik, S., & Cinar, O. (2011). Simultaneous heterotrophic and sulfur-oxidizing autotrophic denitrification process for drinking water treatment: Control of sulfate production. *Water Research*, 45(20), 6661–6667.
- Sahinkaya, E., Kilic, A., & Duygulu, B. (2014). Pilot and full-scale applications of sulfur-based autotrophic denitrification process for nitrate removal from activated sludge process effluent. *Water Research*, 60(1), 210–217.
- Tobias, C., & Neubauer, S. C. (2018). Salt marsh biogeochemistry—An overview. In *Coastal Wetlands: An Integrated Ecosystem Approach*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63893-9.00016-2>
- UNESCO. (1983). *Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manuals and Guides 12*. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, France.
- Van Rijn, J., Tal, Y., & Schreier, H. J. (2006). Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 364–376.
- Van Wyk, P., & Scarpa, J. (1999). Water quality and management. In *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems* (pp. 128–138). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., & Browdy, C. L. (2006). Effect of natural production in a zero-exchange suspended microbial floc-based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258, 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>
- Zacarias, A. J., & Souza, M. N. (2019). Recuperação de área degradada de monocultura intensiva no estado do Espírito Santo. *Revista Univap*, 1(87), 234–242.
- Zhang, L., Zhang, Y., Zhu, G., Wu, L., Wang, J., Li, S., ... & Liu, X. (2014). Nitrogen removal from wastewater using denitrification: a review. *Journal of Cleaner Production*, 89, 1–9.

Wicht, H. (1996). A model for predicting nitrous oxide production during denitrification in activated sludge. *Water Science and Technology*, 34(5–6), 99–106.

CAPÍTULO II

Determinação da Dosagem Ótima e Estratégias de Adição de Solução de Hidróxido de Sódio para Estabilização do pH no Processo de Desnitrificação Biológica em Água de Cultivo de *Penaeus vannamei* em Sistema de Bioflocos

Artigo a ser submetido para o periódico Aquacultural Engineering

RESUMO

A desnitrificação é um processo fundamental para a remoção de compostos nitrogenados, como o nitrato, que, quando acumulados, podem prejudicar a saúde dos camarões. Este estudo teve como objetivo determinar a dosagem ótima e estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para estabilização do pH durante o processo de Desnitrificação anaeróbica em água proveniente de cultivo de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos. O estudo foi realizado no Laboratório de Carcinocultura da Estação Marinha de Aquacultura da Universidade federal do Rio Grande durante o período de 8 dias. Foram realizados dois experimentos. O Experimento I, foi composto por um tratamento controle (TC), utilizando metodologias convencionais de desnitrificação anaeróbica, com o intuito de quantificar a quantidade total de NaOH necessária para manter o pH entre 8 e 9 na primeira etapa do processo. No Experimento II, diferentes estratégias de adição de NaOH foram avaliadas a partir da utilização de 6 tratamentos: o controle (TC) consistiu na adição de 50 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) sempre que o pH caísse abaixo de 8, até que se estabilizasse. Nos tratamentos experimentais (TD0, TD, TD2, TD3 e TGOT), diferentes abordagens para a adição de NaOH foram avaliadas. No tratamento TD0, o volume total de NaOH, previamente estipulado, foi adicionado exclusivamente quando o oxigênio dissolvido atingiu cerca de 0 mg/L. O tratamento TD envolveu a adição inicial do volume completo de NaOH, logo após a introdução do carbono orgânico, antes que a oxigênio se esgotasse. O TD2 dividiu o volume em duas adições: uma no início e outra quando o oxigênio dissolvido se moveu de 0 mg/L. No TD3, três adições foram realizadas ao longo do experimento: na fase inicial, quando a deficiência de oxigênio atingiu níveis próximos a 0 mg/L com uma queda acentuada do pH, e seis horas após a segunda adição para compensar novas quedas no pH. No tratamento TGOT, NaOH foi gotejado continuamente a uma taxa de 0,53 mL/min durante as primeiras 12 horas do experimento. Durante os experimentos, foram monitorados parâmetros como temperatura, oxigênio dissolvido, pH, amônia, nitrito, nitrato, fosfato, alcalinidade, salinidade e sólidos suspensos totais. Os resultados observaram uma quantidade total de solução de hidróxido de sódio 1M de 350 mL para cada 25 litros de água, determinando a dosagem de 14 mL/L ideal para manter o pH dentro da faixa recomendada durante todo o processo de desnitrificação anaeróbica. No segundo experimento, observou-se que, independentemente do tratamento, tanto o nitrato quanto o nitrito atingiram concentrações próximas a 0 mg/L no mesmo intervalo temporal, garantindo a finalização do processo, embora tenha ocorrido uma diferença significativa entre os tratamentos quanto a parâmetros como oxigênio dissolvido, pH, nitrato, alcalinidade, fosfato e sólidos suspensos totais (SST). O pH se manteve estável durante o experimento, permanecendo dentro da faixa ideal nas primeiras horas, período em que se observaram quedas devido à liberação de hidróxidos, um reflexo das reações de desnitrificação. Esses resultados indicam que qualquer uma das estratégias adotadas foi eficaz na estabilização do pH, mostrando-se adequadas para manter condições ideais para a desnitrificação

biológica.

Palavras-chave: Desnitrificação, bioflocos, aquicultura, carcinicultura, nitrificação.

ABSTRACT

Denitrification is a fundamental process for removing nitrogenous compounds, such as nitrate, which, when accumulated, can harm the health of shrimp. The aim of this study was to determine the optimum dosage and strategies for adding sodium hydroxide solution to stabilize the pH during the anaerobic denitrification process in water from the cultivation of *Penaeus vannamei* in a biofloc system. The study was carried out in the Carcinoculture Laboratory of the Marine Aquaculture Station of the Federal University of Rio Grande over a period of 8 days. Two experiments were carried out. Experiment I consisted of a control treatment (CT), using conventional anaerobic denitrification methodologies, in order to quantify the total amount of NaOH required to maintain the pH between 8 and 9 in the first stage of the process. In Experiment II, different NaOH addition strategies were evaluated using 6 treatments: the control (TC) consisted of adding 50 mL of sodium hydroxide solution (NaOH) whenever the pH fell below 8, until it stabilized. In the experimental treatments (TD0, TD, TD2, TD3 and TGOT), different approaches to adding NaOH were evaluated. In the TD0 treatment, the previously stipulated total volume of NaOH was added exclusively when the dissolved oxygen reached around 0 mg/L. TD2 divided the volume into two additions: one at the start and another when the dissolved oxygen moved from 0 mg/L. In TD3, three additions were made throughout the experiment: in the initial phase, when the oxygen deficiency reached levels close to 0 mg/L with a sharp drop in pH, and six hours after the second addition to compensate for further drops in pH. In the TGOT treatment, NaOH was dripped continuously at a rate of 0.53 mL/min during the first 12 hours of the experiment. During the experiments, parameters such as temperature, dissolved oxygen, pH, ammonia, nitrite, nitrate, phosphate, alkalinity, salinity and total suspended solids were monitored. The results showed a total amount of 1M sodium hydroxide solution of 350 mL for every 25 liters of water, determining the ideal dosage of 14 mL/L to keep the pH within the recommended range throughout the anaerobic denitrification process. In the second experiment, it was observed that, regardless of the treatment, both nitrate and nitrite reached concentrations close to 0 mg/L at the same time interval, ensuring that the process was completed, although there was a significant difference between the treatments in terms of parameters such as dissolved oxygen, pH, nitrate, alkalinity, phosphate and total suspended solids (TSS). The pH remained stable throughout the experiment, remaining within the ideal range in the first few hours, during which time drops were observed due to the release of hydroxides, a reflection of the denitrification reactions. These results indicate that any of the strategies adopted were effective in stabilizing the pH, proving adequate to maintain ideal conditions for biological denitrification.

Keywords: Denitrification, bioflocs, aquaculture, shrimp farming, nitrification.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura, fundamental para a segurança alimentar global, se posiciona como uma estratégia crucial na oferta de alimentos nutritivos, mitigando os impactos da sobrepesca e da degradação ambiental causados pela exploração intensiva dos recursos naturais (FAO, 2016b). Dados do relatório "State of World Fisheries and Aquaculture" (SOFIA) de 2024 destacam que, em 2022, a produção global de pescados atingiu 223,2 milhões de toneladas, com a aquicultura representando 51% desse total, superando, pela primeira vez, a captura pesqueira (FAO, 2023). Este marco reflete o avanço do setor como uma solução sustentável frente à crescente demanda por proteínas e aos desafios ambientais. Contudo, a rápida expansão do setor traz à tona preocupações sobre a sustentabilidade, uma vez que os impactos ambientais estão fortemente associados aos modelos produtivos empregados (Naylor et al., 2009; Olesen et al., 2011; Henry-Silva & Camargo, 2006).

Neste contexto, o Sistema de Tecnologia de Bioflocos (BFT) destaca-se como uma inovação ambientalmente sustentável, capaz de equilibrar alta produtividade com a preservação da qualidade ambiental (Wasielesky et al., 2006). O sistema BFT, amplamente reconhecido por reduzir a necessidade de renovação hídrica, utiliza uma comunidade microbiana funcional que assegura a qualidade da água, contribui para a alimentação dos organismos cultivados e promove benefícios probióticos (El-Sayed, 2021; Krummenauer et al., 2020; Reis et al., 2019). Sua eficiência advém do controle rigoroso da amônia, removida por processos heterotróficos e quimioautotróficos. Em sistemas heterotróficos, a amônia é rapidamente assimilada por bactérias aeróbicas que a convertem em biomassa, gerando demanda por oxigênio e fontes contínuas de carbono orgânico (Ebeling et al., 2006). Em sistemas quimioautotróficos, a amônia é transformada em nitrato, um processo mais lento que requer suplementação de carbono inorgânico, podendo resultar em acumulação significativa de nitrato ao longo dos ciclos de cultivo (Tobias & Neubauer, 2018; Ebeling et al., 2006). Embora o nitrato seja menos tóxico do que outros compostos nitrogenados, concentrações elevadas podem comprometer a saúde e o desempenho zootécnico dos organismos, especialmente em ambientes de baixa salinidade (Brandão et al., 2021; Furtado et al., 2015; Valencia-Castañeda et al., 2018).

O acúmulo de nitrato em sistemas de cultivo é uma preocupação crescente, especialmente em sistemas de bioflocos, onde a reutilização da água resulta em concentrações cada vez mais elevadas ao longo dos ciclos de produção (Luo et al., 2020). Embora em baixas concentrações o nitrato seja considerado de baixa toxicidade para organismos aquáticos (Campos et al., 2012), seu acúmulo pode gerar sérios problemas fisiológicos, incluindo a interrupção da síntese de esteróides, comprometimento da reprodução (Kellock et al., 2018) e lesões histopatológicas nas brânquias (Dutra et al., 2019). Em crustáceos, especialmente em juvenis de *P. vannamei*, a exposição ao nitrato tem mostrado efeitos adversos significativos, com concentrações superiores a 177 mg/L reduzindo o crescimento e a

sobrevivência, além de comprometer a saúde das brânquias e do hepatopâncreas (Furtado et al., 2014; Khun et al., 2010). Nos sistemas de bioflocos, as concentrações de nitrato podem ultrapassar 400 mg/L, o que prejudica a qualidade do cultivo (Kuhn et al., 2010; Samocha et al., 2010).

O controle adequado do pH é um fator determinante para a eficiência do processo de desnitrificação, levando em consideração que, nas primeiras etapas do processo ocorre acidificação da água. A literatura aponta que, para otimizar a atividade microbiana desnitrificante, a faixa de pH ideal para a maioria dos organismos está entre 7,5 e 9,5 (Albina et al., 2019), sendo que valores inferiores a 6 comprometem significativamente o processo, ao inibir a atividade das enzimas envolvidas e alterar a dinâmica da comunidade microbiana (Saleh-Lakha et al., 2009). A acidificação excessiva pode, ainda, resultar na formação de óxidos de nitrogênio, como o óxido nítrico e o óxido nitroso, em vez de gás nitrogênio, comprometendo a eficiência da desnitrificação e gerando substâncias poluentes. Dessa forma, o pH não apenas influencia a taxa de desnitrificação, mas também determina o produto final do processo, o que torna sua regulação crucial para garantir a completa redução de nitrato a gás nitrogênio. A manutenção do pH em níveis adequados, frequentemente por meio da adição controlada de NaOH, é portanto, essencial para maximizar a eficácia do processo, assegurar a sustentabilidade do sistema e minimizar impactos ambientais, além de contribuir para a reciclagem de nutrientes e a redução de efluentes, consolidando-se como uma estratégia de relevância para uma aquicultura sustentável e resiliente aos desafios ambientais (Blum et al., 2018).

Assim, este estudo proporciona avanços significativos na gestão de compostos nitrogenados em sistemas de aquicultura intensiva, oferecendo diretrizes fundamentais para melhorar a eficiência da desnitrificação e a sustentabilidade de sistemas de bioflocos. Isso impacta diretamente na produtividade e na saúde dos organismos cultivados, consolidando o sistema BFT como uma alternativa inovadora e sustentável na aquicultura.

Desse modo, este trabalho teve como objetivo determinar a dosagem ideal de solução de hidróxido de sódio necessária para manter o pH acima de 8 durante a primeira etapa do processo de desnitrificação anaeróbica. Além disso, avaliou a eficácia de diferentes abordagens de adição dessa solução na manutenção da estabilidade do pH e na eficiência da remoção de nitrato em sistemas de cultivo intensivo. A pesquisa procurou identificar estratégias que otimizassem o manejo do pH, promovendo simplicidade operacional e garantindo melhores resultados na redução do nitrato em água proveniente de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Carcinicultura da Estação Marinha de Aquicultura (EMA-FURG) em Rio Grande-RS, Brasil e foi conduzido ao longo de um período de 8 dias, sendo dividido em dois experimentos (I e II), com duração de 4 dias cada.

Para a realização dos experimentos, foram utilizados reatores retangulares de polietileno de fundo plano com capacidade total de 60 litros, sendo 25 litros de volume útil. Antes do início do experimento, os tanques foram abastecidos com água proveniente de um cultivo superintensivo de *P. vannamei* realizado na EMA, assegurando uma concentração inicial de 40 mg/L de sólidos suspensos totais, (Machado, 2021). Não foi fornecida nenhum tipo de aeração durante o experimento e, em cada tanque foram adicionados um aquecedor de água submerso de 15 W (Roxin) para manter a temperatura da água em torno de 29°C.

O início dos experimentos aconteceu mediante a incorporação de açúcar comum, contendo 40% de carbono orgânico, estabelecendo uma relação carbono: nitrogênio de 3: 1, com base na soma das concentrações de amônia, nitrito e nitrato presentes e o tratamento controle, em ambos os experimentos, seguiu o método convencional de desnitrificação descrito por Brandão et al. (2023). O processo foi finalizado quando as concentrações de nitrato e nitrito se aproximaram de 0,0 mg/L.

2.1 Delineamento experimental – Experimento I

Foi estabelecido um único protocolo experimental, que envolveu três repetições, resultando em um total de três unidades experimentais. Este tratamento foi denominado como controle (TC) e consistiu na implementação do processo de desnitrificação convencional. Durante as doze primeiras horas de experimento, foi adicionada uma solução de hidróxido de sódio 1M em volumes de 50 mL sempre que o pH apresentava valores abaixo de 8, com o objetivo de mantê-lo na faixa entre 8 e 9, até que o parâmetro se estabilizasse. Ao término do experimento, foi quantificada a quantidade total de solução de hidróxido de sódio empregada para manter o pH dentro da faixa desejada, a fim de determinar a dosagem ideal dessa solução a ser utilizada no processo de desnitrificação anaeróbica durante o cultivo de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos.

2.2. Delineamento experimental – Experimento II

Foram estabelecidos seis tratamentos experimentais, cada um com três repetições, totalizando 18 unidades experimentais. O controle (TC) consistiu na adição de 50 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) sempre que o pH caía abaixo de 8, até sua estabilização. Nos tratamentos experimentais (TD0, TD, TD2, TD3 e TGOT), diferentes estratégias de adição do NaOH foram testadas. No tratamento TD0, o volume total de NaOH, previamente determinado, foi adicionado somente quando o oxigênio dissolvido atingiu cerca de 0 mg/L. O tratamento TD consistiu na adição inicial de todo o volume de NaOH, logo após a introdução do carbono orgânico, antes que o oxigênio se esgotasse. O TD2 dividiu o volume em

duas adições: uma no início e outra quando o oxigênio dissolvido se aproximou de 0 mg/L. No TD3, três adições foram feitas ao longo do experimento: no início do experimento, quando o oxigênio dissolvido atingiu níveis próximos de 0 mg/L com queda acentuada do pH, e seis horas após a segunda para compensar novas quedas no pH. No tratamento TGOT, NaOH foi gotejado continuamente durante a uma taxa de 0,53 mL/min durante as primeiras 12 horas do experimento, usando garrafas PET acopladas a um equipo com regulador de fluxo, comumente utilizado para administração intravenosa em ambiente clínico.

2.2 Monitoramento da qualidade de água

Os parâmetros de qualidade da água, como oxigênio dissolvido, temperatura e pH, foram monitorados a cada hora até que o pH se estabilizasse, passando então a ser mensurados a cada 12 horas. O oxigênio e o pH foram quantificados com um oxímetro digital (YSI EcoSense DO200A) e pH-metro digital (Mettler Toledo Seven2Go), respectivamente. Simultaneamente, as concentrações de amônia, nitrito, nitrato e alcalinidade foram analisadas a cada 12 horas, seguindo os métodos de UNESCO (1983), Strickland & Parsons (1972), Aminot & Chaussepied (1983) e APHA-AWWA-WEF (2005). Durante o Experimento I e no tratamento controle do Experimento II, o hidróxido de sódio (NaOH 1M) foi adicionado sempre que o pH caía abaixo de 8,0. Fosfato, salinidade e sólidos suspensos totais foram medidos duas vezes por fase. A salinidade foi obtida por sonda multiparamétrica (Hanna HI 98194) e os sólidos suspensos quantificados por gravimetria.

2.3 Análise de dados

As análises estatísticas dos dados de qualidade da água foram realizadas utilizando o software Past. A homocedasticidade das variâncias e a normalidade dos dados foram verificadas pelos testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Para a comparação entre grupos, aplicou-se uma ANOVA unidirecional ($\alpha = 0,05$), seguida pelo teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias, garantindo a validade estatística das conclusões obtidas.

3. RESULTADOS

Os resultados referentes aos parâmetros de qualidade da água do Experimento I, como temperatura, oxigênio dissolvido, amônia, sólidos suspensos totais, sólidos sedimentáveis, salinidade, alcalinidade, pH, nitrito, fosfato e nitrato, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água nos reatores de desnitrificação, utilizando água proveniente de um cultivo de *Penaeus vannamei* em sistema de bioflocos.

Parâmetros	Tratamento
	TC
Temperatura (°C)	29,23 $\pm$ 0,40
Oxigênio dissolvido (mg/L)	0,17 $\pm$ 0,01
Fosfato (mg/L)	2,22 $\pm$ 0,08
SST (mg/L)	510,80 $\pm$ 19,1
pH	8,20 $\pm$ 0,04
Salinidade (g/L)	31,16 $\pm$ 1,32
NAT médio (mg/L)	9,46 $\pm$ 8,81
NAT Inicial (mg/L)	0,10 $\pm$ 0,01
N-NAT final (mg/L)	24,1 $\pm$ 4,29
N-Nitrito médio (mg/L)	13,27 $\pm$ 12,48
N-Nitrito inicial (mg/L)	0,09 $\pm$ 0,01
N-Nitrito final (mg/L)	0,43 $\pm$ 0,10
N-Nitrato médio (mg/L)	30,77 $\pm$ 34,78
N-Nitrato inicial (mg/L)	102,33 $\pm$ 0,57
N-Nitrato final (mg/L)	0,35 $\pm$ 0,23
Alcalinidade médio (mg de CaCO ₃ /L)	635,27 $\pm$ 276,26
Alcalinidade inicial (mg/L de CaCO ₃ /L)	160,33 $\pm$ 0,57
Alcalinidade final (mg/L de CaCO ₃ /L)	960 $\pm$ 26,45

SST= Sólidos Suspensos Totais (mg/L);

A temperatura permaneceu em 29,23 °C durante o experimento. O oxigênio dissolvido manteve-se em níveis próximos a 0 mg/L (0,17 mg/L), confirmando o caráter anaeróbico do sistema. A concentração de amônia total apresentou variações durante todo o processo de desnitrificação anaeróbica, com uma concentração média de 9,46 mg/L. Inicialmente, foi registrado um valor de 0,10 mg/L, enquanto, ao final, a concentração atingiu 24,1 mg/L, resultando em uma média geral de 9,46 mg/L. O nitrito, bem como a amônia total, apresentou variações (13,27 mg/L), em todo período experimental. A concentração inicial foi de 0,09 mg/L, enquanto a final atingiu 0,43 mg/L. A concentração média de nitrato foi de 30,77 mg/L, alcançando concentrações próximas a 0 mg/L após 81 horas de experimento. A concentração inicial foi de 102,33 mg/L, enquanto a final foi de 0,35 mg/L. O teor de fosfato manteve-se relativamente estável (2,22 mg/L) em todo o período experimental. A concentração de sólidos suspensos totais (SST) foi de 510,80 mg/L, fundamentais para o suporte microbiano e para a manutenção da atividade

desnitrificante. A alcalinidade média atingiu 635,27 mg/L de CaCO₃, com flutuações ao longo do experimento. O valor inicial registrado foi de 160,33 mg/L de CaCO₃, enquanto o valor final atingiu 960 mg/L. A salinidade manteve-se estável, com média de 31,16 g/L. O pH médio foi de 8,20, e sofreu flutuações, durante as primeiras horas do experimento, antes da sua estabilização.

Os resultados relativos às variáveis de quantificação da solução de hidróxido de sódio no Experimento I, incluindo Volume total de NaOH, Concentração, Intervalo de aplicação e Duração de estabilização do pH, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores relacionados a quantidade de solução de hidróxido de sódio utilizada para estabilizar o pH no processo de desnitrificação anaeróbica, em água proveniente do cultivo de *Penaeus vannamei*.

Variáveis	Tratamento
	TC
Solução de Hidróxido de Sódio total (mL)	350
Dosagem (ml/L)	14
Tempo de estabilização (horas)	12

A quantidade total de solução de hidróxido de sódio empregada ao longo do experimento foi de 350 mL, distribuída em um volume de 25 litros de água. A dosagem aplicada para a manutenção do pH dentro dos limites recomendados para a desnitrificação anaeróbica foi de 14 mL/L. O tempo necessário para a estabilização do pH, compreendido como o período decorrido desde a primeira adição da solução alcalinizante até o momento em que os valores permaneceram dentro do intervalo estabelecido para o processo, foi de 12 horas.

Nos resultados de qualidade da água referentes ao experimento II (Tabela 6), não foram identificadas disparidades estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação à temperatura, amônia, nitrito, sólidos suspensos totais e salinidade entre os tratamentos. Foram encontradas diferenças significativas nos resultados de oxigênio dissolvido, pH, nitrato, alcalinidade e fosfato.

Tabela 6. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos de qualidade da água proveniente do cultivo de camarões *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a desnitrificação anaeróbica usando diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio.

Parâmetros	Tratamentos					
	TC	TD	TD0	T2	T3	TGOT
Temperatura (°C)	29,53 $\pm$ 0,50	29,21 $\pm$ 0,20	29,71 $\pm$ 0,08	29,65 $\pm$ 0,15	29,76 $\pm$ 0,06	29,65 $\pm$ 0,23
Oxigênio dissolvido (mg/L)	1,49 $\pm$ 0,20 ^a	2,41 $\pm$ 0,10 ^b	1,45 $\pm$ 0,27 ^a	2,17 $\pm$ 0,16 ^b	2,33 $\pm$ 0,14 ^b	2,31 $\pm$ 0,36 ^b
pH	7,74 $\pm$ 0,05 ^a	9,00 $\pm$ 0,09 ^b	8,26 $\pm$ 0,09 ^c	8,66 $\pm$ 0,08 ^d	8,53 $\pm$ 0,03 ^e	8,66 $\pm$ 0,15 ^d
Salinidade (g/L)	35,83 $\pm$ 0,29	35,67 $\pm$ 0,29	35,50 $\pm$ 0,50	35,50 $\pm$ 0,50	35,50 $\pm$ 0,50	35,83 $\pm$ 0,29
P-Fosfato (mg/L)	1,71 $\pm$ 0,25 ^a	1,91 $\pm$ 0,07 ^b	1,56 $\pm$ 0,09 ^c	1,74 $\pm$ 0,24 ^a	1,59 $\pm$ 0,03 ^c	1,87 $\pm$ 0,12 ^b
SST (mg/L)	507,50 $\pm$ 3,28	505,50 $\pm$ 1,32	506,83 $\pm$ 2,31	507,33 $\pm$ 5,51	505,17 $\pm$ 2,93	506,00 $\pm$ 6,50
NAT médio (mg/L)	13,29 $\pm$ 4,09	9,54 $\pm$ 4,33	10,46 $\pm$ 1,98	12,70 $\pm$ 3,06	12,16 $\pm$ 1,42	11,07 $\pm$ 3,66
NAT inicial (mg/L)	0,29 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01
NAT final (mg/L)	19,36 $\pm$ 7,58	18,66 $\pm$ 9,07	20,43 $\pm$ 7,06	25,46 $\pm$ 6,74	22,66 $\pm$ 5,13	17,00 $\pm$ 3,46
N-Nitrito médio (mg/L)	9,54 $\pm$ 4,97	9,76 $\pm$ 2,23	10,05 $\pm$ 4,74	12,98 $\pm$ 2,90	13,19 $\pm$ 3,41	12,41 $\pm$ 2,59 ^a
N-Nitrito inicial (mg/L)	0,50 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,01
N-Nitrito final (mg/L)	0,08 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,11	0,1 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,22	0,07 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01
N-Nitrato médio (mg/L)	23,84 $\pm$ 1,22 ^a	36,98 $\pm$ 3,99 ^b	34,72 $\pm$ 2,84 ^b	30,66 $\pm$ 6,07 ^a	32,63 $\pm$ 1,00 ^a	34,88 $\pm$ 5,39 ^b
N-Nitrato inicial (mg/L)	80,00 $\pm$ 0,01	80,00 $\pm$ 0,01	80,00 $\pm$ 0,01	80,00 $\pm$ 0,01	80,00 $\pm$ 0,01	80,00 $\pm$ 0,01
N-Nitrato final (mg/L)	0,08 $\pm$ 0,01	0,38 $\pm$ 0,46	0,12 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,02	0,1 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,05
Alc. média (mg de CaCO ₃ /L)	477,08 $\pm$ 99,45 ^a	408,33 $\pm$ 19,93 ^b	527,92 $\pm$ 23,13 ^c	465,83 $\pm$ 12,58 ^a	395,00 $\pm$ 5,45 ^b	431,25 $\pm$ 35,73 ^a
Alc. Inicial (mg/L de CaCO ₃ /L)	210,00 $\pm$ 0,01	210,00 $\pm$ 0,01	210,00 $\pm$ 0,01	210,00 $\pm$ 0,01	210,00 $\pm$ 0,01	210,00 $\pm$ 0,01
Alc. Final (mg/L de CaCO ₃ /L)	796,66 $\pm$ 171,56 ^a	540 $\pm$ 34,64 ^{ab}	746,66 $\pm$ 73,71 ^b	666,66 $\pm$ 15,27 ^b	513,33 $\pm$ 15,27 ^c	560,00 $\pm$ 40,00 ^{ac}

*NAT= Nitrogênio Amoniacal Total (N-NH₃ + N-NH₄); SST= Sólidos Suspensos Totais (mg/L); Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas (p<0,05).

A temperatura da água variou entre 29,21°C (TD) e 29,76 °C (T3), sem diferenças estatísticas entre os tratamentos. O oxigênio dissolvido apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos. O tratamento TC (1,49 mg/L) e TD0 (1,45 mg/L) registraram os menores valores, sendo significativamente inferiores aos demais tratamentos. Os tratamentos TD (2,41 mg/L), T2 (2,17 mg/L), T3 (2,33 mg/L) e TGOT (2,31 mg/L) apresentaram concentrações significativamente mais elevadas e não diferiram estatisticamente entre si, como mostra a figura 12.

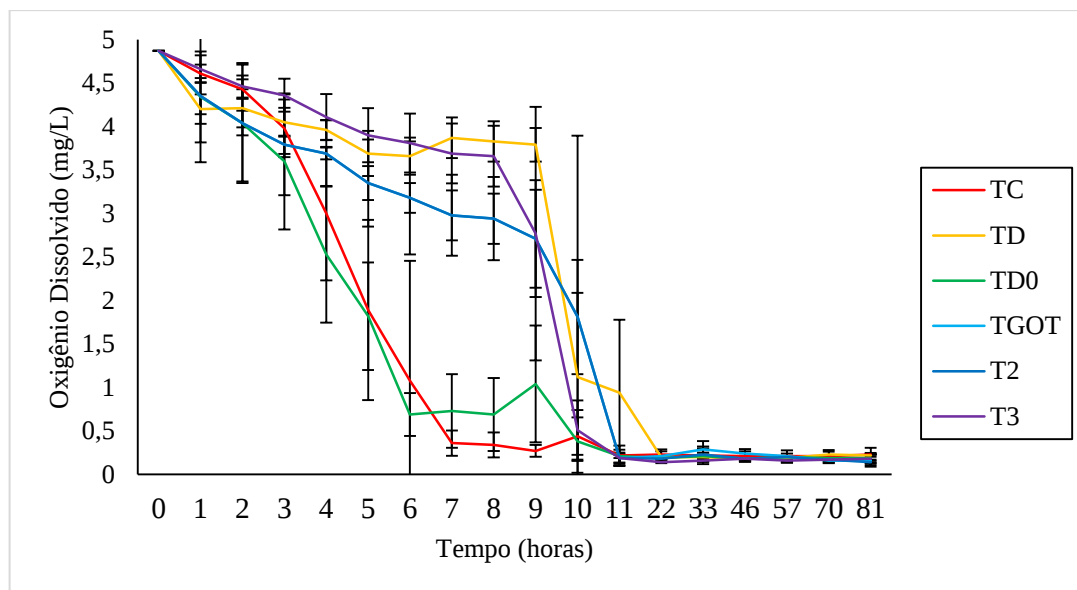


Figura 12. - Variação do oxigênio dissolvido durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.

O pH variou entre 7,74 (TC) e 9,00 (TD). O TC apresentou o menor valor, diferindo significativamente de todos os demais tratamentos. O TD apresentou o maior valor, seguido por T2 e TGOT, que não diferiram entre si. O tratamento T3 apresentou pH significativamente menor que TD, T2 e TGOT, mas maior que TD0, que, por sua vez, foi superior apenas ao TC, como apresentado na figura 13.

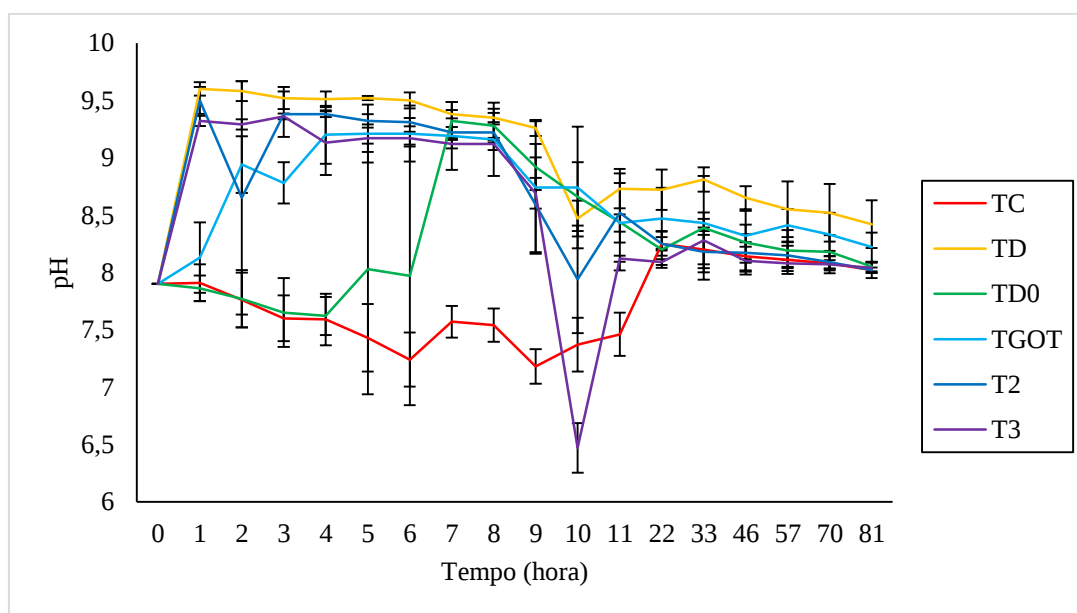


Figura 13. - Variação do pH durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a

estabilização do pH.

A concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) variou de 9,54 mg/L (TD) a 13,29 mg/L (TC), sem diferenças estatísticas entre os tratamentos. O NAT inicial foi uniforme entre os tratamentos (0,29 mg/L). O NAT final apresentou variação entre 17,00 mg/L (TGOT) e 25,46 /L (T2), sem diferenças significativas. A concentração de N-nitrito variou entre 9,54 mg/L (TC) e 13,19 mg/L (T3), sem diferenças estatísticas. O N-nitrito inicial foi idêntico entre os tratamentos (0,5 mg/L). O N-nitrito final variou entre 0,07 mg/L (T3) e 0,21 mg/L (T2), sem diferenças significativas. O N-nitrato apresentou valores entre 23,84 mg/L (TC) e 36,98 mg/L (TD). O TC apresentou o menor valor, diferindo estatisticamente de TD, TD0 e TGOT, que apresentaram as maiores concentrações. É possível observar esses resultados na figura 14, 15 e 16.

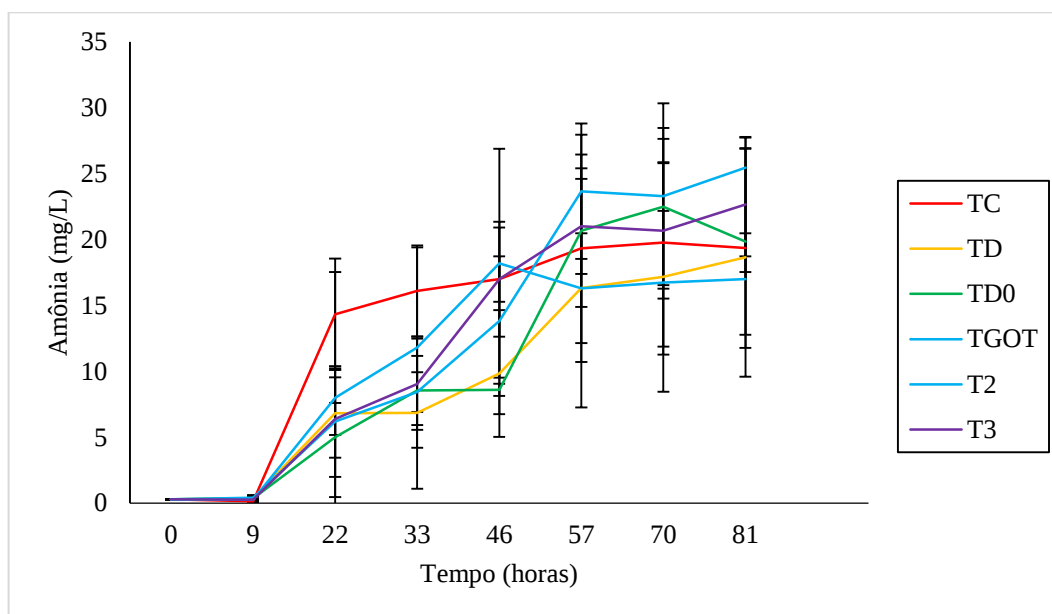


Figura 14. - Variação da amônia durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.

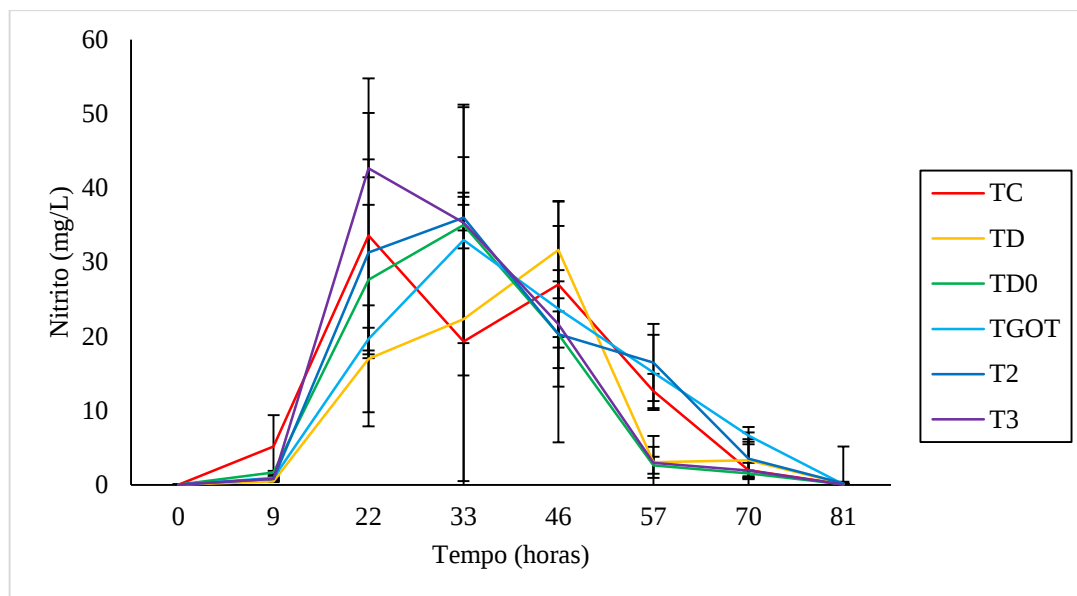


Figura 15. - Variação do nitrito durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.

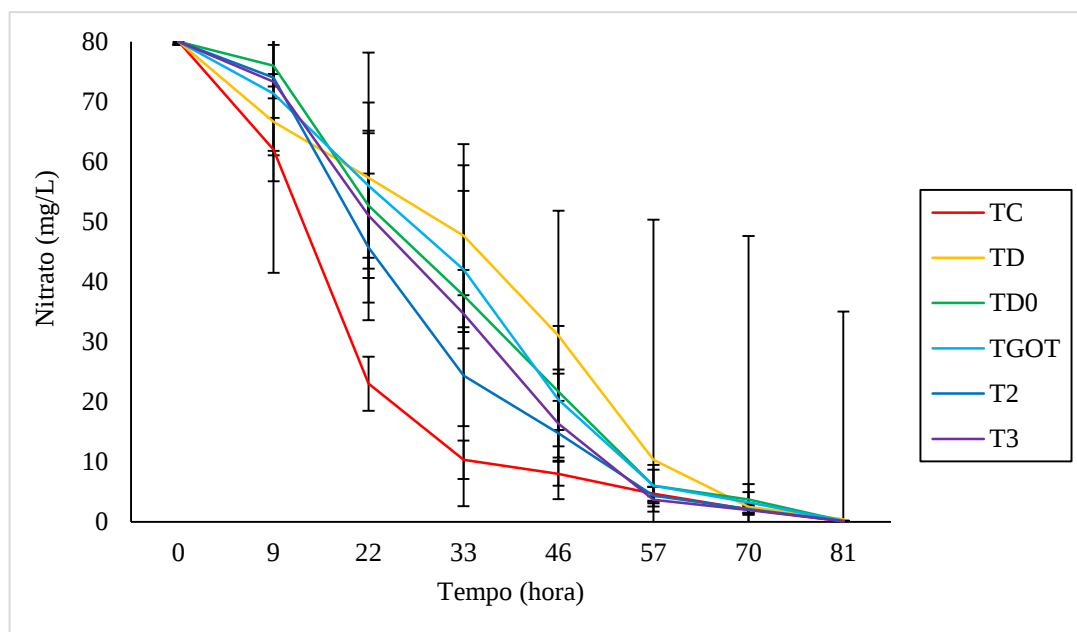


Figura 16. - Variação do nitrato durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.

A alcalinidade variou de 395 mg/L de CaCO_3 (T3) a 527,92 mg/L de CaCO_3 (TD0). Os tratamentos TC, T2 e TGOT não diferiram entre si. O TD apresentou valores estatisticamente inferiores a

TD0. A alcalinidade final variou entre 513,33 mg/L de CaCO_3 (T3) e 796,66 56 mg/L de CaCO_3 (TC). O TC apresentou valores superiores a T3 e TD, enquanto TD0 e T2 apresentaram valores intermediários, como visto na figura 15.

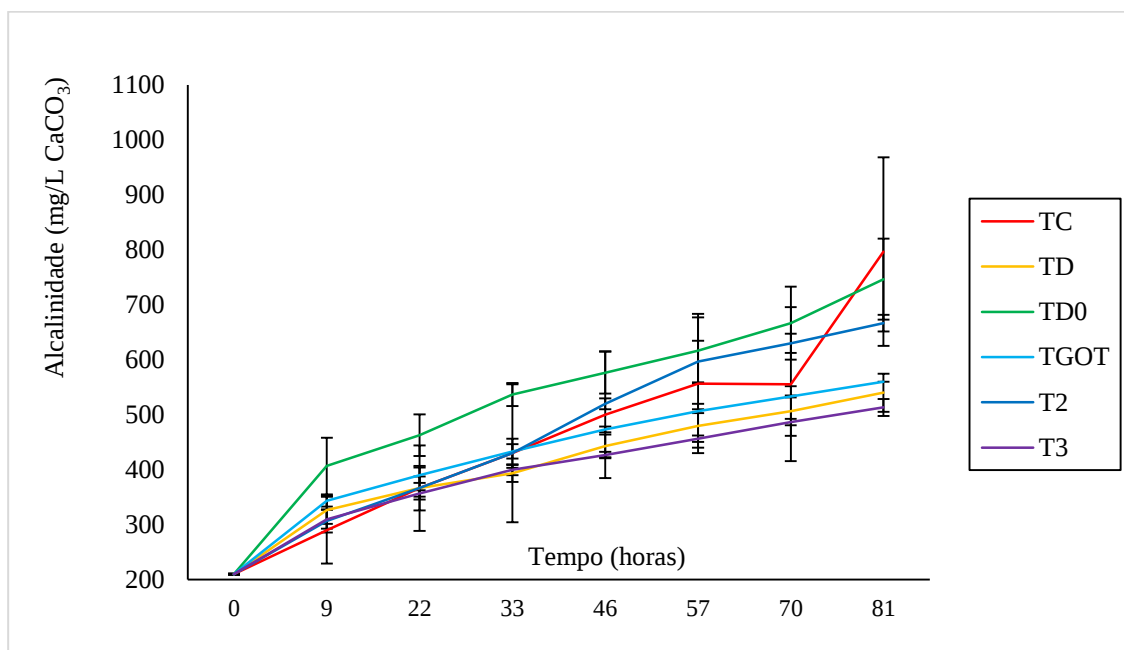


Figura 16. - Variação da alcalinidade durante 81 horas de desnitrificação em água de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos submetida a diferentes estratégias de adição de solução de hidróxido de sódio para a estabilização do pH.

A salinidade variou de 35,50 g/L (TD0, T2 e T3) a 35,83 g/L (TC e TGOT), sem diferenças estatísticas entre os tratamentos. O fosfato variou entre 1,56 mg/L (TD0) e 1,91 mg/L (TD). O TD apresentou valores estatisticamente superiores a TD0 e T3, que apresentaram os menores valores. Os tratamentos TC e T2 não diferiram entre si. A concentração de sólidos suspensos totais (SST) não teve diferenças estatísticas entre os tratamentos.

4. DISCUSSÃO

No Experimento I, a temperatura da água foi mantida em 29,23 °C durante todo o período experimental, valor que está dentro da faixa térmica recomendada para o processo de desnitrificação anaeróbica, conforme indicado por Liao et al. (2018). Essa condição térmica propicia a otimização da atividade microbiana, crucial para a eficiência do processo, visto que a temperatura pode influenciar substancialmente o metabolismo da população microbiana envolvida (Souto, 2018). Temperaturas

excessivas, que ultrapassam o limite ideal, podem induzir a desnaturação das proteínas enzimáticas (Guo et al., 2013), resultando em uma diminuição nas taxas de crescimento microbiano.

O oxigênio dissolvido, no início do experimento, apresentou uma queda constante após a adição de uma fonte de carbono orgânico no sistema e se estabilizou após alcançar concentrações próximas a 0 mg/L, se mantendo, assim, dentro dos níveis compatíveis com as condições ideais para a desnitrificação, pois, como observado por Metcalf & Eddy (2003), concentrações superiores a 0,2 mg/L podem inibir a atividade das bactérias desnitrificantes, levando em consideração que, a desnitrificação configura-se como um processo dissimilatório de natureza biogeoquímica, no qual espécies nitrogenadas oxidadas, como nitrato e nitrito, são progressivamente reduzidas a formas gasosas, predominantemente nitrogênio molecular (N_2) ou seus intermediários, como óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N_2O), sob condições microaerófilas ou anóxicas, caracterizadas pela limitação da disponibilidade de oxigênio como acceptor terminal de elétrons (Martens, 2005; Saleh-Lakha et al., 2009). Desse modo, manter os níveis de oxigênio dissolvido abaixo desse valor garantiu a eficácia do processo durante o experimento.

Os valores do pH mantiveram-se dentro da faixa recomendada, indicando que a quantidade utilizada de solução de hidróxido de sódio foi suficiente para garantir a eficiência da desnitrificação anaeróbica durante todo o período experimental. Estudos indicam que a atividade metabólica da maioria dos microrganismos desnitrificantes é otimizada em intervalos de pH compreendidos entre 7,5 e 9,5, faixa na qual os processos enzimáticos envolvidos na redução sequencial do nitrato ocorrem com maior celeridade e estabilidade (Albina et al., 2019). Nas primeiras horas de experimento, concomitante à redução das concentrações de oxigênio dissolvido a valores próximos de 0 mg/L, registraram-se quedas contínuas no pH, fazendo-se necessários ajustes por meio da adição de solução de hidróxido de sódio. Esse período corresponde à fase de redução do nitrito a óxido nítrico, que gera a produção de íons hidroxila (OH^-), os quais contribuem para a queda do pH (Albina et al., 2019). Destaca-se, ademais, que um pH inferior a 6,0 compromete severamente a conversão do nitrato em nitrogênio molecular, podendo inibir a atuação das enzimas-chave envolvidas no processo (Ciudad, 2007).

A amônia apresentou valores finais relativamente elevados em todos os tanques experimentais e variações significativas. O acúmulo deste composto nos tratamentos sugere a ocorrência do processo dissimilatório de nitrato a amônia (DNRA) no sistema. A DNRA é uma via de redução do nitrato à amônia, passando pelo nitrito, com o uso de um doador de elétrons inorgânico ou orgânico (Kamp et al., 2015). As concentrações de nitrito e nitrato exibiram variações ao longo de todo o período experimental, sendo possível observar que, com a diminuição das concentrações de oxigênio dissolvido, houve um aumento significativo nos níveis de nitrito, com o maior pico registrado no tratamento T2. Paralelamente, as concentrações de nitrato começaram a declinar em todas as unidades experimentais, resultando no acúmulo transitório de nitrito no sistema, evidenciando o início do processo de desnitrificação. Esse

comportamento é consistente com a equação estequiométrica proposta por Timmermans (1983), que descreve a conversão do nitrato em intermediários como nitrito, óxido nítrico e óxido nitroso, culminando na liberação de nitrogênio molecular (N_2) para a atmosfera. A remoção progressiva do nitrato e o subsequente aumento do nitrito indicam que a disponibilidade de aceptores finais de elétrons modulou a taxa de conversão dos compostos nitrogenados, o que é característico do processo de desnitrificação dissimilatória (Metcalf & Eddy, 1991; Bernet & Moletta, 1998; Philippot, 2002). Valores próximos de 0 mg/L, tanto de nitrito, quanto de nitrato, foram registrados após 81 horas, determinando o final do processo de desnitrificação, sugerindo que a quantidade de solução de hidróxido de sódio utilizada no experimento foi eficaz na manutenção das condições adequadas para a desnitrificação. Os níveis de alcalinidade aumentaram após 12 horas em todos os tanques. Este fenômeno pode ser atribuído ao comportamento químico intrínseco ao processo de desnitrificação, no qual parte dos íons OH^- , liberados durante a redução do nitrato, reage com o CO_2 gerado, resultando na formação de bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}). Este mecanismo, conforme descrito por Albina et al. (2019), contribui substancialmente para o aumento da alcalinidade, uma vez que a produção desses compostos básicos eleva a capacidade tamponante do sistema, mantendo o pH em níveis favoráveis à atividade microbiana.

No segundo experimento, os parâmetros iniciais de qualidade da água foram rigorosamente monitorados e ajustados para garantir as condições ótimas à ocorrência da desnitrificação anaeróbica. Além disso, não foram detectadas variações significativas nos valores médios de temperatura, salinidade, sólidos suspensos totais, amônia e nitrito ao longo do período experimental. Esse resultado sugere que tais variáveis permaneceram estáveis e, portanto, não exerceram influência determinante sobre o estabelecimento nem sobre a progressão do processo de desnitrificação.

O oxigênio dissolvido apresentou uma diferença significativa entre os tratamentos. O tratamento TC, acompanhado do TD0, apresentaram concentrações próximas a 0 mg/L antes dos demais, devido a respiração aeróbica inicial que consumiu rapidamente o oxigênio disponível, favorecendo a transição para a condição anóxica necessária para a desnitrificação (Skiba, 2008). Os tratamentos T2, T3 e TD apresentaram um declínio mais lento e gradual do oxigênio dissolvido, o que retardou o início do processo de desnitrificação. Esses tratamentos receberam a adição de solução de hidróxido de sódio no início do experimento (sendo que em T2 e T3, apenas uma parte da quantidade total foi adicionada, enquanto no tratamento TD a totalidade foi incorporada). A alcalinização precoce, resultante da liberação de íons hidroxila (OH^-) na água, pode ter alterado as condições ideais para os processos metabólicos dos microrganismos desnitrificantes, interferindo na sua dinâmica (Robertson & Groffman, 2006). De acordo com Silva (2012), o NaOH, ao dissociar-se em água, libera hidroxilas que aumentam o pH do meio. Esse aumento de pH pode ter contribuído para a maior solubilidade do oxigênio dissolvido, retardando sua queda acentuada, mesmo com a atividade respiratória dos microrganismos consumindo oxigênio. A

desnitrificação anaeróbica ocorre de forma otimizada em condições de anoxia, a presença de oxigênio inibe diretamente a atividade das enzimas envolvidas (Smith & Tiedje, 1979; Chen et al., 2006).

O pH apresentou diferença significativa entre os tratamentos, porém os valores obtidos se mantiveram dentro da faixa recomendada para o processo de desnitrificação (6,5 a 8,0), conforme Surampalli et al. (1997), Henze et al. (1997) e Van Haandel e Marais (1999). Nos tratamentos em que a redução do oxigênio foi mais lenta, observou-se também uma diminuição mais gradual do pH no início do experimento. Esse fenômeno pode ser explicado pelo retardamento no início da desnitrificação, onde a redução do nitrito a óxido nítrico gera a produção de íons hidroxila (OH^-), os quais contribuem para a queda do pH (Albina et al., 2019). Nos tratamentos TD e TGOT, não foi necessário realizar ajustes no pH, pois durante todo o período experimental os níveis de pH permaneceram dentro da faixa recomendada para a eficiência do processo de desnitrificação. Já os tratamentos T2 e T3 requereram ajustes conforme descrito na metodologia, sendo adicionadas soluções de hidróxido de sódio duas e três vezes ao longo do experimento, respectivamente. Os tratamentos em que a queda de oxigênio ocorreu mais rapidamente também apresentaram quedas de pH mais precoces. O tratamento TC foi o que demandou mais cuidados, necessitando de ajustes no pH sete vezes durante o experimento. Apesar disso, manteve-se dentro da faixa ideal para a eficiência da desnitrificação, o que tornou seu manejo mais trabalhoso, mas igualmente eficaz no controle do pH.

A concentração de nitrato variou significativamente entre os tratamentos ao longo do experimento, com alguns apresentando um início mais tardio na sua redução, em função da disponibilidade de oxigênio dissolvido (OD). Esse comportamento está diretamente relacionado à preferência dos microrganismos desnitrificantes facultativos pelo oxigênio como aceptor terminal de elétrons antes de utilizarem o nitrato (Holmes et al., 2019; USEPA, 2010). A literatura aponta que concentrações elevadas de OD podem inibir ou retardar a desnitrificação, impactando a eficiência do processo (Van Haandel & Marais, 1999; Ferreira, 2000). A adição de hidróxido de sódio, ao influenciar a solubilidade do oxigênio e a atividade microbiana, também pode ter contribuído para essa variação, especialmente nos tratamentos onde a alcalinização ocorreu precocemente (Robertson & Groffman, 2006; Silva, 2012). No entanto, conforme o oxigênio foi consumido e as condições anóxicas se estabeleceram, a desnitrificação avançou em todos os tratamentos. Assim, independentemente do manejo adotado para o pH, o processo foi eficiente, levando todos os tratamentos a concentrações finais próximas de 0 mg/L, evidenciando o sucesso da desnitrificação anaeróbica. A alcalinização inicial, promovida pelo hidróxido de sódio, influenciou a dinâmica do OD e a atividade microbiana, retardando a transição para condições anóxicas em alguns tratamentos (Silva, 2012). No entanto, à medida que o oxigênio foi consumido, a desnitrificação avançou de forma eficiente, independentemente da estratégia de adição do hidróxido, evidenciando que todos os manejos testados foram capazes de garantir a conversão completa do nitrato.

A alcalinidade apresentou variações significativas entre os tratamentos ao longo do experimento, refletindo diretamente a influência do processo de desnitrificação na química do sistema. Durante a conversão do nitrato, a geração de alcalinidade ocorre como subproduto, promovendo sua elevação gradual ao longo do tempo (Hoffmann et al., 2007). Esse aumento está associado à formação de íons hidroxila (OH^-) durante a redução do nitrito a óxido nítrico, que podem reagir com o CO_2 dissolvido na água, resultando na produção de bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}), intensificando ainda mais a alcalinidade do meio (Albina et al., 2019). No entanto, independentemente dessas variações, todos os tratamentos apresentaram tendência de aumento da alcalinidade e foram efetivos no processo de desnitrificação.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou a eficácia de todas as estratégias testadas na remoção do nitrato, alcançando taxas de redução superiores a 99%, enquanto mantiveram o pH dentro da faixa recomendada para a efetivação do processo de desnitrificação anaeróbica. Essa consistência no desempenho dos tratamentos experimentais reforça a viabilidade do uso de diferentes métodos de adição de solução de hidróxido de sódio, assegurando a estabilidade operacional e o cumprimento dos requisitos necessários para a otimização do processo. Dentre os tratamentos, o TGOT destacou-se como a abordagem mais equilibrada, promovendo estabilidade do pH ao longo do experimento e demonstrando elevada eficiência na redução do nitrato. Sua aplicação em sistemas aquícolas que demandam maior controle e precisão operacional posiciona essa estratégia como uma alternativa promissora, alinhando eficiência técnica à simplicidade de manejo. uma abordagem adaptativa no manejo do pH, ajustando as estratégias às particularidades de cada sistema. A capacidade de integrar eficiência, estabilidade e praticidade operacional reforça a contribuição deste estudo para o aprimoramento das práticas de desnitrificação anaeróbica. Ao delinear os impactos das diferentes abordagens, o trabalho avança no desenvolvimento de soluções robustas e sustentáveis para o gerenciamento de compostos nitrogenados em sistemas aquícolas intensivos.

5. REFERÊNCIAS

- Almeida, J.S., Reis, M.A.M., & Carrondo, M.J.T. (1995). Competition between nitrate and nitrite reduction in denitrification by *Pseudomonas fluorescens*. *Biotechnology and Bioengineering*, 46(5), 476–484. <https://doi.org/10.1002/bit.260460512>
- Albina, P., Durban, N., Bertron, A., Albrecht, A., Robinet, J.C., & Erable, B. (2019). Influence of hydrogen electron donor, alkaline pH, and high nitrate concentrations on microbial denitrification: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5163. <https://doi.org/10.3390/ijms20205163>
- Aminot, A., & Chaussepied, M. (1983). *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest: CNEXO.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- APHA-AWWA-WEF (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (20th ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264(1-4), 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>
- Brandão, H. (2023). *Aplicação do processo de desnitrificação heterotrófica anaeróbica para remoção do nitrato da água de cultivo de Litopenaeus vannamei em sistemas de bioflocos* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande.
- Brandão, H., Xavier, Í.V., Santana, G.K.K., Santana, H.J.K., Krummenauer, D., & Wasielesky, W. (2021). Heterotrophic versus mixed BFT system: Impacts on water use, suspended solids production and growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 95, 102194. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2021.102194>
- Blum, J.M., Su, Q., Ma, Y., Valverde-Pérez, B., Domingo-Félez, C., Jensen, M.M., & Smets, B.F. (2018). The pH dependency of N-converting enzymatic processes, pathways, and microbes: Effect on net-N₂O production. *Environmental Microbiology*, 20(4), 1623–1640. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14063>
- Bothe, H., Jost, G., Schlöter, M., Ward, B.B., & Witzel, K.P. (2000). Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(5), 673–690. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(00\)00053-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(00)00053-X)
- Albina, P., Durban, N., Bertron, A., Albrecht, A., Robinet, J.C., & Erable, B. (2019). Influence of hydrogen electron donor, alkaline pH, and high nitrate concentrations on microbial denitrification:

- A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5163. <https://doi.org/10.3390/ijms20205163>
- Aminot, A., & Chaussepied, M. (1983). *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. Brest: CNEXO.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- APHA-AWWA-WEF (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (20th ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264(1-4), 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>
- Brandão, H. (2023). *Aplicação do processo de desnitrificação heterotrófica anaeróbica para remoção do nitrato da água de cultivo de Litopenaeus vannamei em sistemas de bioflocos* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande.
- Brandão, H., Xavier, Í.V., Santana, G.K.K., Santana, H.J.K., Krummenauer, D., & Wasielesky, W. (2021). Heterotrophic versus mixed BFT system: Impacts on water use, suspended solids production and growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 95, 102194. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2021.102194>
- Blum, J.M., Su, Q., Ma, Y., Valverde-Pérez, B., Domingo-Félez, C., Jensen, M.M., & Smets, B.F. (2018). The pH dependency of N-converting enzymatic processes, pathways, and microbes: Effect on net N₂O production. *Environmental Microbiology*, 20(4), 1623–1640. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14063>
- Bothe, H., Jost, G., Schlöter, M., Ward, B.B., & Witzel, K.P. (2000). Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(5), 673–690. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(00\)00053-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(00)00053-X)
- Cai, W.J., Hu, X., Huang, W.J., Murrell, M.C., Lehrter, J.C., Lohrenz, S.E., Chou, W.C., Zhai, W., Hollibaugh, J.T., Wang, Y., Zhao, P., Guo, X., Gundersen, K., Dai, M., Gong, G.C. (2011). Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. *Nature Geoscience*, 4(11), 766–770. <https://doi.org/10.1038/ngeo1297>
- Campos, B.R.D.E., Campos, K., Filho, M., Incao, F.D., Poersch, L., & Wasielesky, W. (2012). Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Decapoda). *Atlântica (Rio Grande)*, 34(1), 75–81. <https://doi.org/10.5088/atl.2012.34.1.75>

- Ciudad, G.A.B. (2007). Nitrificación-desnitrificación vía nitrito en reactores de discos rotatórios bajo dos modalidades de operación: continua y secuenciada. Departamento de Engenharia Química. Instituto de Agroindústria, Universidad de La Frontera, Temuco.
- Dutra, F.M., Cidemar Alab, J.H., Costa Gomes, M.K., Furtado, P.S., Valenti, W.C., & Cupertino Ballester, E.L. (2020). Nitrate acute toxicity to post larvae and juveniles of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). *Chemosphere*, 242, 125229. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125229>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., & Bisogni, J.J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1-4), 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- El-Sayed, A.F.M. (2021). Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: A comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Reviews in Aquaculture*, 13, 676–705. <https://doi.org/10.1111/raq.12494>
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016b). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: Contributing to food security and nutrition for all*. Relatório. Rome. 200 p.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Contributing to food security and nutrition for all*. FAO, Rome, 200 p. <https://doi.org/10.4060/cd0683>
- Ferreira, E.S. (2000). Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e desnitrificação biológica. In: *XXVII Congresso Interamerica de Engenharia sanitária E. Ambiental, Anais*. ABES, Porto Alegre, CD-ROM.
- Ge, S., Peng, Y., Wang, S., Lu, C., Cao, X., & Zhu, Y. (2012). Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process: The effects of carbon sources and COD/NO₃-N. *Bioresource Technology*, 114, 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.016>
- Henry-Silva, G.G., & Camargo, A.F.M. (2006). Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. *Planta Daninha*, 24, 21–28.
- Hoffmann, H., Da Costa, T.B., Wolff, D.B., Platzer, C., & Da Costa, R.H.R. (2007). The potential of denitrification for the stabilization of activated sludge processes affected by low alkalinity problems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(2), 329–337. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000200018>
- Hou, T., Chen, N., Tong, S., Li, B., He, Q., & Feng, C. (2019). Enhancement of rice bran as carbon and microbial sources on the nitrate removal from groundwater. *Biochemical Engineering Journal*, 148, 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.07.010>

- Kamp, A., Høgslund, S., Risgaard-Petersen, N., & Stief, P. (2015). Nitrate storage and dissimilatory nitrate reduction by eukaryotic microbes. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01492>
- Kellock, K.A., Moore, A.P., & Bringolf, R.B. (2018). Chronic nitrate exposure alters reproductive physiology in fathead minnows. *Environmental Pollution*, 232, 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.004>
- Krummenauer, D., Abreu, P.C., Poersch, L., Reis, P.A.C.P., Suita, S.M., dos Reis, W.G., & Wasielesky, W. (2020). The relationship between shrimp (*Litopenaeus vannamei*) size and biofloc consumption determined by the stable isotope technique. *Aquaculture*, 529, 735635. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735635>
- Kuhn, D.D., Smith, S.A., Boardman, G.D., Angier, M.W., Marsh, L., & Flick, G.J. (2010). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp.
- Farver, O., Kroneck, P. M., Zumft, W. G., & Pecht, I. (2003). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 7622–7625. <https://doi.org/10.1073/pnas.0932693100>
- Furtado, P.S., Campos, B.R., Serra, F.P., Klosterhoff, M., Romano, L.A., & Wasielesky, W. (2015). Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*, 23, 315–327. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9817-z>
- Furtado, P.S., Gaona, C.A., Poersch, L.H., & Wasielesky, W. (2014). Application of different doses of calcium hydroxide in the farming of shrimp *Litopenaeus vannamei* with biofloc technology (BFT). *Aquaculture International*, 22, 1009–1023.
- Henze, M., Harremoës, P., Jansen, J.L.C., & Arvin, E. (1997). *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes* (2nd ed.). Springer, Berlin.
- Liao, R., Miao, Y., Li, J., Li, Y., Wang, Z., Du, J., Li, Y., Li, A., & Shen, H. (2018). Temperature dependence of denitrification microbial communities and functional genes in an expanded granular sludge bed reactor treating nitrate-rich wastewater. *RSC Advances*, 8, 42087–42094. <https://doi.org/10.1039/c8ra08256a>
- Lin, Y.H., & Gu, Y.J. (2020). Denitrification kinetics of nitrate by a heterotrophic culture in batch and fixed-biofilm reactors. *Processes*, 8. <https://doi.org/10.3390/PR8050547>
- Lopes, H., Besson, S., Moura, I., & Moura, J. J. (2001). *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 6, 55–62. <https://doi.org/10.1007/s007750000159>
- Luo, G., Xu, J., & Meng, H. (2020). Nitrate accumulation in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734675>

- Machado, K.M. (2021). O reuso da água de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em um sistema de produção ecologicamente correto (Undergraduate Thesis in Oceanology). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.
- METCALF & EDDY. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse* (4th ed.). McGraw-Hill, New York, USA, 1334p.
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A. P., ... & Nichols, P. D. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), 15103-15110.
- Olesen, I., Myhr, A. I., & Rosendal, G. K. (2011). Sustainable aquaculture: are we getting there? Ethical perspectives on salmon farming. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 24, 381-408.
- Reis, W.G., Wasielesky, W., Abreu, P.C., Brandão, H., & Krummenauer, D. (2019). Rearing of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in BFT system with different photoperiods: Effects on the microbial community, water quality and zootechnical performance. *Aquaculture*, 508, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.067>
- Robertson, G.P., & Groffman, P.M. (2006). Nitrogen transformations. In: *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry: Third Edition*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-415955-6.00014-1>
- Robinson, C. (2008). Heterotrophic Bacterial Respiration. In: Kirchman, D.L. (Ed.), *Microbial Ecology of the Oceans*. John Wiley and Sons Inc, pp. 299–334. <https://doi.org/10.1128/br.41.1.47-99.1977>
- Samocha, T.M., Wilkenfeld, J.S., Morris, T.C., Correia, E.S., & Hanson, T. (2010). Raciões intensivas sem troca de água analisadas para cultivo de camarão branco. *Global Aquaculture Advocate*, 13, 22–24.
- Saleh-Lakha, S., Shannon, K.E., Henderson, S.L., Goyer, C., Trevors, J.T., Zebarth, B.J., & Burton, D.L. (2009). Effect of pH and temperature on denitrification gene expression and activity in *Pseudomonas mandelii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(13), 3903-3911.
- Silva, I. M. C. B. da. (2012). Métodos de preparação industrial de solventes e reagentes químicos: Hidróxido Sódio. *Revista Virtual de Química*, 4(1). Disponível em: <http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq>.
- Souto, R. F. S. (2018). Remoção de nitrogênio em sistema de reator UASB seguido de lodo ativado com unidade de pré-desnitrificação (Bachelor's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte), p. 25. DOI:
- Surampalli, R.Y., Tyagi, R.D., Scheible, O.K., & Heidman, J.A. (1997). Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. *Bioresource Technology*, 61(2), 151-157.
- Tobias, C., & Neubauer, S.C. (2018). Salt marsh biogeochemistry-An overview. In *Coastal Wetlands: An Integrated Ecosystem Approach*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63893-9.00016-02>

- Van Haandel, A., & Maris, G.O. (1999). *O comportamento do sistema de lodo ativado - Teoria e aplicação para projetos e operação*. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, Epgraf, 472 p.
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espericueta, M.G., Vanegas-Pérez, R.C., Pérez-Ramírez, J.A., Chávez-Sánchez, M.C., & Páez-Osuna, F. (2018). Acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae in low-salinity water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101, 229–234. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>.
- Vinatea, L. (1997). *Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões*. Florianópolis: UFSC, 166 p.
- Water Environment Federation. (2007). *Operation of Municipal Wastewater Treatment Plants Manual of Practice No. 11* (6th ed.). McGraw-Hill Professional.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., & Browdy, C.L. (2006). Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258, 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>.
- Rinaldo, S., Giardina, G., & Cutruzzolà, F. (2016). Nitrite Reductase - Cytochrome cd1. In I. Moura, J.J.G. Moura, S.R. Pauleta, & L.B. Maia (Eds.), *Metalloenzymes in Denitrification* (pp. 59–90). The Royal Society of Chemistry, Cambridge. <https://doi.org/10.1039/9781782623762000059>.
- Rinaldo, S., Giardina, G., & Cutruzzolà, F. (2016). Nitrite Reductase - Cytochrome cd1. In I. Moura, J.J.G. Moura, S.R. Pauleta, & L.B. Maia (Eds.), *Metalloenzymes in Denitrification* (pp. 59–90). The Royal Society of Chemistry, Cambridge. DOI: 10.1039/9781782623762-000059.
- UNESCO. (1983). *Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring*. Manuals and Guides.

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho reforçou a relevância do controle rigoroso da qualidade da água na aquicultura intensiva, destacando a desnitrificação anaeróbica como uma estratégia essencial para promover um ambiente de cultivo eficiente na redução de compostos nitrogenados, com ênfase na redução do nitrato, otimizando o desenvolvimento do *P. vannamei*. A eficácia do tratamento com 50% de volume, que alcançou parâmetros ideais para a remoção de nitrato, demonstrou-se não apenas benéfica para a sobrevivência dos camarões, mas também crucial para minimizar impactos adversos no desempenho zootécnico. Os resultados indicaram que o aumento na concentração de sólido acelera o processo de desnitrificação, tornando viável, também, a realização do processo de desnitrificação anaeróbica, durante o cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos, o tratamento com 5% de volume, levando em consideração que, apesar de utilizar menor quantidade de água, o mesmo se destaca pela necessidade reduzida de espaço operacional e, quando repetido, pode atingir reduções de nitrato comparáveis ao tratamento de 50%, demonstrando a flexibilidade e a eficiência do processo.

No que se refere à dosagem de hidróxido de sódio incorporada ao sistema com o objetivo de manter o pH dentro da faixa ideal para o processo, estabeleceu-se a adição de 350 mL de solução de hidróxido de sódio para cada 25 litros de água, resultando em uma dosagem de 14 mL/L. Este parâmetro foi cuidadosamente determinado para assegurar a estabilidade química necessária durante a desnitrificação anaeróbica. Quanto às estratégias adotadas para otimizar o controle do pH ao longo do processo de desnitrificação anaeróbica em águas provenientes do cultivo de camarões em sistemas de bioflocos, o estudo demonstrou que todas as abordagens avaliadas foram eficazes tanto na remoção do nitrato quanto na manutenção do pH dentro dos limites ideais, com eficiência superior a 99% na redução de nitratos. Além disso, o pH permaneceu consistentemente na faixa recomendada para a desnitrificação anaeróbica, entre 8 e 9, ao longo de toda a duração do processo. Dentre as técnicas analisadas, o tratamento TGOT se destacou por sua habilidade em manter o equilíbrio do pH de forma contínua e eficiente, consolidando-se como uma solução altamente promissora para sistemas aquícolas que demandam rigoroso controle operacional. Sua aplicação oferece uma alternativa robusta, que, além de assegurar elevada eficiência técnica, proporciona uma simplicidade de manejo, adaptando-se de maneira flexível às particularidades de cada sistema, tornando-se uma opção viável e de fácil implementação.

A adoção da desnitrificação anaeróbica, quando combinada com ajustes precisos

no volume de água, nas concentrações de sólidos e na adição controlada de solução de hidróxido de sódio, configura-se como uma estratégia inovadora e eficaz para o manejo sustentável de resíduos nitrogenados em sistemas de cultivo de *P. vannamei* em sistema de bioflocos. Esta abordagem, ao promover um equilíbrio entre eficiência operacional, estabilidade ambiental e viabilidade técnica, não só otimiza o crescimento e a saúde dos camarões, como também contribui significativamente para a redução da dependência de compostos alcalinizantes, favorecendo a economia de recursos. Ao aprimorar as práticas de manejo em sistemas aquícolas intensivos, o estudo oferece um avanço no desenvolvimento de tecnologias que promovem a eficiência no uso de insumos e na qualidade da água, essencial para a longevidade dos sistemas produtivos, contribuindo, assim, para o fortalecimento de práticas mais responsáveis e ambientalmente conscientes na aquicultura, impulsionando a sustentabilidade do setor.