

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

BIORREMEDIAÇÃO DO EFLUENTE DE CULTIVO DE TILÁPIA DO NILO PELA MICROALGA *Spirulina platensis*

*BIOREMEDIATION OF WASTEWATER OF NILE TILAPIA CULTIVATION BY MICROALGAE *Spirulina platensis**

Recibido el 29 de septiembre de 2013; Aceptado el 26 de febrero de 2014

*Anderson Alan da Cruz Coelho¹
Hudson Damasceno Maia²
José William Alves da Silva¹
João Henrique Cavalcante Bezerra²
Renato Teixeira Moreira²
Wladimir Ronald Lobo Farias²

Abstract

The potential environmental impacts from intensive aquaculture have increased public concern about the sustainability of the activity. This study aimed to evaluate the production of algal biomass and removal rate of nitrogen compounds by *Spirulina platensis* in effluent of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The experiment was conducted at the Biotechnology Centre Applied Aquaculture (CEBIAQUA) of the Department of Fisheries Engineering, Ceará Federal University. For the cultivation of *S. platensis*, initially the inoculum was cultivated in alternative chemical medium and later adapted to the effluent of Nile tilapia. After the full development of *S. platensis*, collection of the microalgae was performed by filtering the water 60 micrometers screens. We monitored the levels of ammonia, nitrate and nitrite during the trial period of 29 days. The results showed that the microalgae easily adapted and developed in the effluent of Nile tilapia and there was a significant bioremediation of effluent, reducing the concentrations of ammonia, nitrate and nitrite.

Keywords: *Spirulina platensis*, Nile tilapia, bioremediation.

¹ Instituto Federal do Ceará, Brasil

² Universidade Federal do Ceará, Brasil

*Autor correspondente: Curso Técnico em Aquicultura, Instituto Federal do Ceará, Av. Santos Dumont, S/N, Julia Santiago, Morada Nova, Ceará, CEP - 62.940-000, Brasil. Email: anderson.coelho@ifce.edu.br

Resumo

Os potenciais impactos ambientais provenientes da aquicultura intensiva têm aumentado à preocupação da sociedade quanto à sustentabilidade da própria atividade. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de biomassa algal e taxa de remoção dos compostos nitrogenados pela microalga *Spirulina platensis* em efluente de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). O experimento foi realizado no Centro de Biotecnologia Aplicada a Aquicultura (CEBIAQUA) do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará. Para o cultivo de *S. platensis*, inicialmente, o inóculo foi cultivado em meio químico alternativo e posteriormente adaptado ao efluente de tilápia do Nilo. Após o completo desenvolvimento da *S. platensis*, a coleta da microalga foi realizada através de filtragem da água em telas de 60 µm. Foram monitorados os níveis de amônia, nitrato e nitrito durante o período experimental de 29 dias. Os resultados mostraram que a microalga se adaptou facilmente e se desenvolveu no efluente das tilápias do Nilo e houve significativa biorremediação do efluente, reduzindo as concentrações de amônia, nitrato e nitrito.

Keywords: *Spirulina platensis*, tilápia do Nile, biorremediação.

Introdução

O crescimento intensivo da aquicultura tem afetado seriamente os ecossistemas aquáticos. Muita dessas tecnologias de cultivo adotadas atualmente não se justifica principalmente do ponto de vista ambiental. Dessa forma, para que a produção continue em crescimento, uma das alternativas é o desenvolvimento de novas tecnologias que utilizem menos espaço e produzam o mínimo de impactos ambientais (Jones *et al.*, 2002).

Os impactos negativos provenientes dos efluentes da aquicultura dependem da espécie cultivada, intensidade do cultivo, densidade de estocagem, composição da ração utilizada, técnicas de alimentação dos animais e hidrografia da região. Os viveiros de aquicultura podem lançar quantidades significativas de N (nitrogênio) e P (fósforo) em corpos de água adjacentes e a intensificação da aquicultura necessita de grande aporte de água, fertilizantes, rações e produtos veterinários, que eventualmente vão para o ambiente. Em muitos lugares, a atividade é caracterizada pela pequena taxa de renovação de água devido às condições hidrodinâmicas, tornando a dispersão dos poluentes pouco eficiente (Boyd, 2003).

De acordo com o autor os potenciais impactos ambientais provenientes da aquicultura intensiva têm aumentado à preocupação da sociedade quanto à sustentabilidade da própria atividade. Esta prática pode resultar na poluição dos recursos hídricos, dos quais as fazendas de aquicultura são completamente dependentes.

Esforços globais para o desenvolvimento de novas técnicas de cultivo mais sustentáveis na aquicultura têm sido buscadas devido aos potenciais impactos negativos da atividade. Uma das alternativas é a fitorremediação que utiliza vegetais aquáticos para assimilar os nutrientes produzidos pelo cultivo de animais aquáticos. Esta técnica é considerada como uma das mais

ecologicamente corretas dentre todas as técnicas conhecidas em aquicultura, com o mais eficiente uso dos recursos e uma grande resiliência contra as flutuações ambientais (Arana, 2004). As algas podem absorver grandes quantidades de nutrientes dissolvidos (orgânicos e inorgânicos), geralmente com preferência para a amônia (Porrello *et al.*, 2003).

A habilidade das algas de absorver rapidamente os nutrientes da água para seu crescimento e também de acumulá-los como reserva na forma de aminoácidos e pigmentos, as tornam ideais para melhorar a qualidade dos efluentes provenientes da aquicultura (Lourenço, 2006). Assim, a utilização de algas para absorver os nutrientes dissolvidos pode, realmente, melhorar a qualidade da água proveniente do cultivo intensivo de organismos aquáticos. Essa técnica tem se mostrado bastante eficiente no tratamento de águas residuais da aquicultura intensiva.

Uma das espécies componentes do fitoplâncton que pode ser utilizada como fitorremediadora de efluentes da aquicultura intensiva é a *Spirulina (Arthrospira) platensis*, uma cianofícea com um elevado teor de proteína, nutrientes essenciais e compostos antioxidantes, uma vez que também necessita de nutrientes para a produção de biomassa, os quais podem ser obtidos em efluentes de cultivo de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, amplamente cultivada no Estado do Ceará (Colla *et al.* (2007). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a biorremediação do efluente de tilápia do Nilo pela microalga *Spirulina platensis*, bem como a produção de biomassa algal.

Material e métodos

A *Spirulina platensis* foi obtida no cepário do laboratório de Planctologia do CEBIAQUA do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará (UFC). Inicialmente, o inóculo foi cultivado em meio de cultura alternativo preparado com os sais NaCl (5.0 g L^{-1}) e NaHCO_3 (10.0 g L^{-1}) que foram diluídos em um recipiente contendo água submetida a uma forte aeração por 24 horas. Posteriormente, foram adicionados 1.0 g L^{-1} do fertilizante químico nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) na proporção de 10: 10: 10 e 0.1 g L^{-1} de superfosfato triplo (SPT).

Com o objetivo de manter as culturas livres de bactérias patogênicas e outros microorganismos, o inóculo inicial foi repicado para erlenmeyers de 200 mL previamente esterilizados em autoclave por 20 min à temperatura de $120 \text{ }^\circ\text{C}$.

As cepas de *S. platensis* foram mantidas inicialmente em culturas estanques em condições ótimas de crescimento através de repicagens sistemáticas por diluição em novo meio de cultivo. Foram repicadas quatro vezes, transferindo 20 mL da cepa inicial para erlenmeyers previamente esterilizados, contendo 180 mL de meio de cultura, formando uma nova coleção. Posteriormente, as novas culturas foram inoculadas em 12 frascos circulares de 3.0 L de volume

útil, contendo 1,8 L de meio de cultura e mantidas a temperatura (28 ± 1 °C), salinidade (15 ± 1), iluminância ($40 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e aeração proveniente de uma bomba de diafragma com fluxo de ar de 1.0 L h^{-1} (v v^{-1}).

Após o desenvolvimento das microalgas, foi realizada a transferência de 2.5 L das culturas para tanques de 20 L de volume útil, contendo 17.5 L de efluente esterilizado em autoclave por 20 min à temperatura de 120 °C proveniente de cultivos de tilápias do Nilo (meio orgânico). O efluente foi obtido do cultivo de juvenis com peso médio de 1.0 ± 0.5 g cultivadas nas densidades de 0.10, 0.15 e 0.20 juvenis L^{-1} na Estação de Piscicultura Prof. Dr. Raimundo Saraiva da Costa do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Diariamente foram realizadas amostragens para o acompanhamento do crescimento celular em cel por mL^{-1} através de contagem microscópica e densidade óptica ($\text{DO}_{680\text{nm}}$) em espectrofotômetro no comprimento de onda de 680 nanômetros.

Após o completo desenvolvimento da *S. platensis* nos tanques circulares, a coleta da biomassa foi realizada através de filtragem da água em telas de 60 μm . Posteriormente a biomassa úmida contida na tela foi submetida à lavagem com água doce para retirada do sal e posteriormente seca em estufa a 60 °C. A biomassa seca foi pesada para a obtenção do rendimento e da produtividade em mg seca L^{-1} e $\text{mg seca L}^{-1} \text{dia}^{-1}$, respectivamente.

Os dados de crescimento da *S. platensis* e da taxa de remoção dos compostos nitrogenados nos diferentes densidades foram submetidos às análises de variância (ANOVA) simples ($p < 0.05$) e no caso de diferenças significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Resultados e discussão

A microalga *S. platensis* foi cultivada em todos os efluentes provenientes dos tratamentos com diferentes densidades de estocagem de juvenis de tilápias que passaram a ser meio de cultivo orgânico para a mesma. Para maior praticidade de acompanhamento dos cultivos, os dados de crescimento algal obtidos em DO foram convertidos em concentração de biomassa algal (mg L^{-1}) através da equação de regressão linear obtida em um experimento preliminar, no qual foi calculado um coeficiente de determinação de 0.982, evidenciando a forte correlação positiva entre estes dois parâmetros, o que permitiu o seu uso na conversão:

$$CB (\text{mg L}^{-1}) = (\text{DO} \cdot 0.6134) - 0.0242$$

Equação 1

Onde

CB: Concentração de biomassa algal (mg L^{-1})

DO: Densidade Óptica.

Os dados cinéticos obtidos das culturas de *S. platensis* podem ser observados na tabela 1. Todos os parâmetros analisados são representados pela média de dois ciclos de cultivo da alga nos efluentes de cultivo dos juvenis de tilápia.

Tabela 1. Parâmetros de rendimento cinético das culturas de *S. platensis*, em efluente de tilápia do Nilo cultivadas em diferentes densidades

Tratamento	Tempo de cultivo (dias)	Rendimento (mg L ⁻¹)	Produtividade (mg L ⁻¹ dia ⁻¹)	Taxa de crescimento (divisões dia ⁻¹)
01	14.5 ± 0.71 ^{a*}	62.50 ± 29.52 ^a	4.17 ± 1.97 ^a	0.15 ± 0.02 ^a
02	14.5 ± 0.71 ^a	84.24 ± 8.39 ^a	5.62 ± 0.56 ^a	0.16 ± 0.03 ^a
03	14.5 ± 0.71 ^a	90.28 ± 24.51 ^a	6.02 ± 1.63 ^a	0.16 ± 0.02 ^a

* Letras diferentes representam diferença estatística ($p < 0.05$)

Observa-se na figura 1 que todos os parâmetros analisados não diferiram entre os tratamentos ($p > 0.05$). Isto se evidenciou por conta da biomassa alga que também não diferiu ($p > 0.05$) e das taxas de crescimento da *S. platensis* cultivadas nos efluentes de tilápia nas densidades, que também não diferiram ($p > 0.05$) ficando evidenciado que o efluente obtido de diferentes densidades de cultivo de tilápia do Nilo não interferiu no desempenho algal.

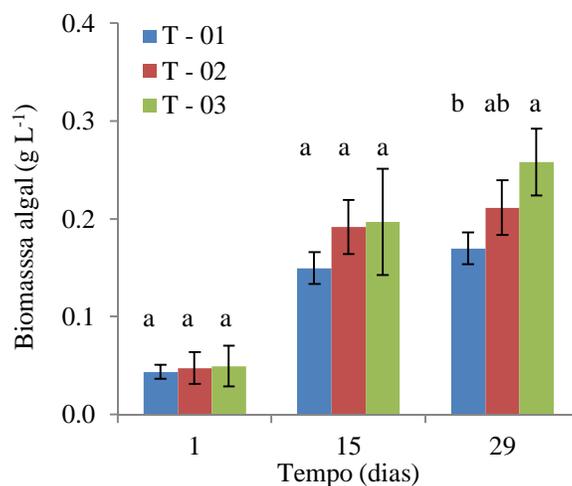


Figura 1. Biomassa algal inicial e nos dias de filtragem dos cultivos de *S. platensis*, em efluente de tilápia do Nilo cultivadas em diferentes densidades. Cada ponto representa a média de quatro repetições ± desvio padrão

Os valores de produtividade foram inferiores aos observados por Reichert *et al.* (2006) que encontraram produtividades de 160 a 690 mg L⁻¹ dia⁻¹. Andrade & Costa (2008) cultivando a *S. platensis* em modo autotrófico com bicarbonato de sódio, e mixotrófico com 0.25, 0.50, 0.75 e 1.0 g L⁻¹ de melaço em pó ou melaço líquido, obtiveram rendimentos variando de 71 a 1.117 mg L⁻¹, bem superiores ao deste experimento. Isto pode ser explicado pela baixa iluminância de cerca de $30 \pm 7.0 \mu\text{E cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ nos cultivos de *S. platensis* e do cultivo ter sido realizado em meio orgânico e não em uma meio específico para a microalga.

Em relação aos compostos nitrogenados, suas concentrações iniciais presentes nos cultivos de *S. platensis* podem ser observadas na tabela 2.

Tabela 2. Concentrações iniciais de amônia, nitrito e nitrato nas culturas de *S. platensis*, em efluente de tilápia do Nilo cultivadas em diferentes densidades.

Tratamentos	Amônia (mg L ⁻¹)	Nitrito (mg L ⁻¹)	Nitrato (mg L ⁻¹)
01	0.33 ± 0.15 ^a	0.23 ± 0.14 ^a	5.25 ± 2.05 ^a
02	0.42 ± 0.57 ^a	0.25 ± 0.13 ^a	5.45 ± 1.48 ^a
03	0.54 ± 0.02 ^a	0.31 ± 0.18 ^a	6.30 ± 0.28 ^a

* Letras diferentes representam diferença estatística ($p < 0.05$).

O consumo de amônia, nitrito e nitrato pela microalga reduziu significativamente a quantidade desses constituintes no meio de cultivo (Figura 2). As taxas de remoção dos compostos nitrogenados foram semelhantes para amônia e nitrato ($p > 0.05$) nos dois dias de coleta da microalga e não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos com diferentes densidades de estocagem. Em média, foram reduzidos $95.57 \pm 1.1\%$ da amônia, $87.9 \pm 4.4\%$ de nitrato e $42.63 \pm 8.5\%$ de nitrito.

Kumar *et al.* (2010) mostraram que a microalga *C. vulgaris* removeu mais de 85% da amônia total de um efluente de suinocultura em dez dias de cultivo. Martins *et al.* (2007) relataram a capacidade de biorremediação da água de tanques de piscicultura pela macrófita aquática *Typha dominguensis*, com cinco diferentes níveis de nitrogênio (N) em sistema fechado com uma taxa máxima de remoção de 87%. Neste trabalho, observaram-se elevadas taxas de redução de nitrogênio por *S. platensis*, o torna esta microalga outra alternativa em potencial para o tratamento de efluentes industriais ou da aquicultura.

Henry-Silva & Camargo (2008) avaliaram a eficiência das macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* no tratamento de efluentes gerados por um viveiro de piscicultura e a maior taxa de remoção foi de 34.7% para *P. stratiotes*.

Bertoldi *et al.* (2007) avaliaram o consumo de nitrato pela microalga *C. vulgaris* em diferentes diluições de uma solução hidropônica residual. Quando os cultivos foram realizados com uma diluição de 25% as microalgas removeram 87% de nitrato do meio de cultivo, enquanto na solução original e com 50% de diluição, as microalgas consumiram 80.5 e 80.4% de nitrato, respectivamente.

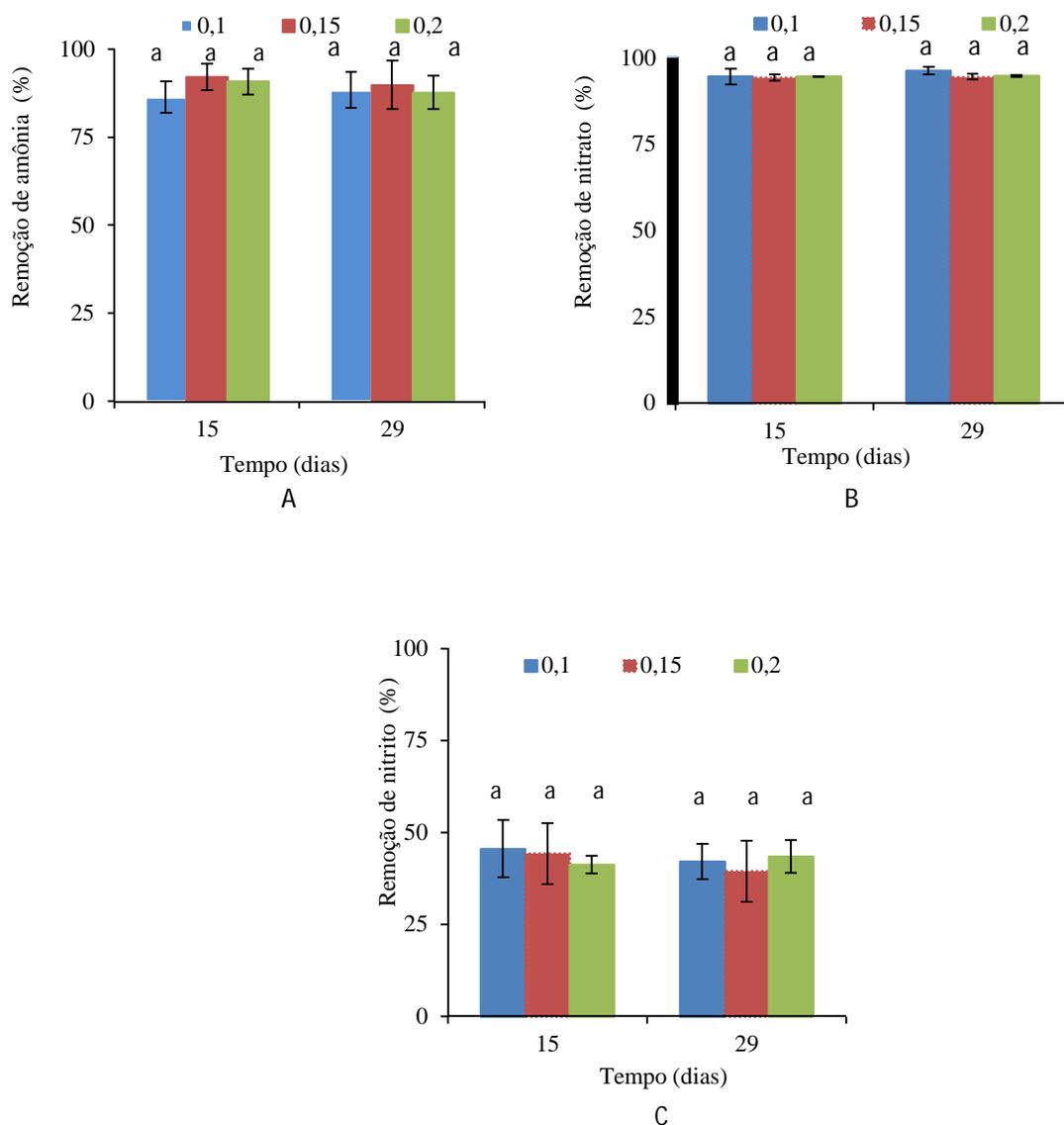


Figura 2. Taxas de redução de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos cultivos de *S. platensis* em efluentes de tilápia do Nilo cultivadas em diferentes densidades. Cada ponto representa a média de quatro repetições \pm desvio padrão

No presente trabalho, a microalga *S. platensis* demonstrou uma maior preferência para assimilar o nitrato e a amônia presentes nos efluentes de cultivo dos peixes. Dessa forma, o acúmulo desses nutrientes em cultivos de peixes pode ser utilizado para o crescimento de *S. platensis*, obtendo benefícios como a produção de biomassa algal e a redução dos impactos ambientais negativos gerados pela aquicultura tradicional, mediante a remoção de nutrientes dos efluentes de cultivo de peixes pela microalga.

Conclusões

Foi constatado a biorremediação dos efluentes de tilápia do Nilo, uma vez que a taxa de remoção de amônia, nitrito e de nitrato foram elevadas.

A *S. platensis* cresceu satisfatoriamente, se adaptando ao efluente produzido pelas tilápias do Nilo, independente da densidade de estocagem dos juvenis.

Referências bibliográficas

- Andrade, M.R., Costa, J.A.V. (2008) Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. *Ciência e agrotecnologia*, **32**(5), 1551-1556.
- Arana, L.V. (2004) *Fundamentos de aquicultura*, UFSC, Florianópolis, 349pp.
- Bertoldi, F. C., Sant'anna, E., Oliveira, J. L. B., Rebelo, A. M. (2007) Biorremediação de nitrogênio e fósforo da solução hidropônica residual por meio da microalga *Chlorella vulgaris*. *Evidência*, **7**(2), 85-92.
- Boyd, C.E. (2003) Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. *Aquaculture*, **226**(1-4), 101-112.
- Colla, L.M., Reinehr, C.O., Reichert, C., Costa, J.A.V. (2007) Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, **98**(7), 1489-1493.
- Henry-Silva, G. G., Camargo, A.F.M. (2008) Tratamento de efluentes de carnicultura por macrófitas aquáticas flutuantes, *Revista Brasileira de Zootecnia*, **37**(2), 181–188.
- Jones, A.B. Perston, N.P. Dennison, W.C. (2002) The efficiency and condition of oysters and macroalgae used as biological filters of shrimp pond effluent, *Aquaculture Research*, **33**(1), 1–19.
- Kumar, M.S., Miao, Z.H., Wyatt, K.S. (2010) Influence of nutrient loads, feeding frequency and inoculum source on growth of *Chlorella vulgaris* in digested piggery effluent culture medium, *Bioresource Technology*, **101**(15), 6012-6018.
- Lourenço, S.O. (2006) *Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações*. São Carlos: Rima, Vol **1**, 588 pp.
- Martins, A.P.L., Reissmann, C.B., Favaretto, N., Maria R.T., Boeger, M.R.T., Oliveira, D.B. (2007) Capacidade da *Typha domingensis* na fitorremediação de efluentes de tanques de piscicultura na Bacia do Iraí – Paraná. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, **11**(3), 324–330.
- Porello, S., Lenzi, M., Tomassetti, P., Persia, E., Finoia, M. G., Mercatali, I. (2003) Reduction of aquaculture wastewater eutrophication by phytotreatment ponds system II. Nitrogen and phosphorus content in macroalgae and sediment. *Aquaculture*, **219**(1–4), 531–544.
- Reichert, C.C., Reinehr, C.O., Costa J.A.V. (2006) Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **23**(1), 23-28.