

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV,
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

GUSTAVO ALBERTO ARBELÁEZ ROJAS

**O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO, O PERfil METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE TRUTA
ARCO ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) PRODUZIDOS EM SISTEMA COM
RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA**

LAGES

2025

GUSTAVO ALBERTO ARBELÁEZ ROJAS

**O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO, O PERfil METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE TRUTA
ARCO ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) PRODUZIDOS EM SISTEMA COM
RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA**

Tese apresentada ao Programa de
PósGraduação em Ciência Animal, da
Universidade do Estado de Santa
Catarina, como requisito para
obtenção do título de Doutor (a) em
Ciência Animal, Área de
concentração: Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Thiago El Hadi
Perez Fabregat

LAGES

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

GUSTAVO ALBERTO ARBELÁEZ ROJAS

O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, O PERFIL METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE TRUTA ARCO ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) PRODUZIDOS EM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA

Tese apresentada ao Curso de PósGraduação em Ciência Animal, na Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor (a) em Ciência Animal, área de Concentração em Produção Animal.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: _____

Prof. Dr. Thiago El H. P. Fabregat

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/Lages – SC

Membro: _____

Prof. Dr. Rafael Lazzari

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM/Santa Maria – RS

Membro: _____

Profa. Dra. Fernanda Picoli

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/Chapecó – SC

Membro: _____

Profa. Dr. Luiz Alcantara Lopes

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/Chapecó – SC

Membro: _____

Profa. Tiago Goulart Petrolli

Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC

Lages, 25 de fevereiro de 2025.

A Deus todo poderoso e, à truta arco-íris como modelo animal

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, que me permitiu estar vivo e fez com que meus objetivos fossem alcançados durante os tempos difíceis da pandemia.

Aos meus pais, que descansem em paz, e às minhas irmãs, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam minha ausência enquanto me dedicava à realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat, por ter sido meu orientador da tese e seu desempenhado tal função com dedicação e amizade, minha, que me apoiou na realização da tese.

A todos os professores (as) que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

Aos meus colegas do doutorado em Ciência Animal, com quem convivi durante o período do pós-graduação, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como profissional da área aquícola.

É melhor enfrentar dificuldades e obstáculos do que conformar-se com uma vida prudente e sim riscos.

RESUMO

Na produção de peixes, a alimentação representa o maior custo operacional que afeta a rentabilidade do piscicultor. A fermentação de rações com bactérias ácido lácticas (BAL) são estratégias que ainda precisam ser avaliadas como alternativa para melhorar o aproveitamento dos nutrientes e a saúde intestinal dos animais. Por tanto, com o objetivo de viabilizar a produção sustentável de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em sistema intensivo com recirculação de água foram avaliadas dietas comerciais com e sem fermentação. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por quatro dietas, três dietas fermentadas durante os tempos: 4, 6 e 9 horas e uma dieta controle sem fermentar. A fermentação das dietas comerciais foi realizada em estufa a 36°C nos tempos preestabelecidos. Para definir o tempo ótimo de fermentação foram coletadas quatro amostras de ração espaçadas a cada 3 horas (tempos: 0, 3, 6, 9 e 12 horas) para determinar a curva de crescimento e acidificação de BAL. Foram utilizados 240 juvenis de *O. mykiss* (peso médio inicial de $22,2 \pm 0,90$ g distribuídos em 16 tanques circulares com volume útil de 500 litros na densidade de 15 peixes por tanque. Os tanques foram interligados a um sistema de recirculação. No final do experimento (duração de 60 dias) o desempenho foi avaliado e foram utilizados dois animais por tanque para análises microbiológica do crescimento das bactérias ácido lácticas (BAL) no intestino, atividade enzimática, amônia hepática e muscular. O processo de fermentação alterou a composição bromatológica da ração comercial, observou-se que as dietas fermentadas não alteraram significativamente o peso final dos juvenis de *O. mykiss*. No entanto, o consumo de ração diminuiu significativa assim como a conversão alimentar melhorou no grupo de juvenis de *O. mykiss* que consumiram as dietas fermentadas. Após 60 dias a concentração de BAL intestinais foi mais elevada no intestino nos peixes que receberam a dieta fermentada por 3 horas. A atividade enzimática dos juvenis de *O. mykiss* foi alterada pelas dietas fermentadas e amônia hepática diminuiu em resposta às dietas fermentadas. De forma geral, as BAL demonstraram influenciar na composição bromatológica de rações comerciais e subsequentemente no desempenho produtivo, na eficiência alimentar e no metabolismo da amônia hepática da truta arco-íris, embora os efeitos podem variar dependendo do tempo de fermentação e da composição da ração utilizada.

Palavras-chaves: Probióticos; Alimentos fermentados; Resistência imune; Ácidos orgânicos; Microrganismos; Aquacultura sustentável.

ABSTRACT

In fish production, feeding represents the highest operational cost that affects the profitability of the fish farmer. The fermentation of feeds with lactic acid bacteria (LAB) are strategies that still need to be evaluated as an alternative to improve nutrient utilization and the intestinal health of the animals. Therefore, with the aim of enabling the sustainable production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in an intensive water recirculation system, commercial diets with and without fermentation were evaluated. The experimental design was a completely randomized block design with four treatments and four replications. The treatments consisted of four diets, three fermented diets for periods of 4, 6, and 9 hours, and one control diet without fermentation. The fermentation of the commercial diets was carried out in an incubator at 36°C for the predetermined times. To determine the optimal fermentation time, samples were collected for bromatological, physicochemical analyses, and counting of lactic acid bacteria populations every 12 hours. 240 juveniles of *O. mykiss* (initial average weight of 22.2 ± 0.90 g) were used, which were distributed in 16 circular tanks with a usable volume of 500 liters at a density of 15 fish per tank. The tanks were interconnected to a recirculation system. At the end of the experiment (lasting 60 days), performance was evaluated and two animals per tank were used for microbiological analyses of BAL growth in the intestine, enzymatic activity, hepatic and muscular ammonia. The fermentation process altered the bromatological composition of the commercial feed, it was observed that the fermented diets did not significantly change the final weight of juvenile *O. mykiss*. However, the feed consumption significantly decreased, and the feed conversion improved in the group of juvenile *O. mykiss* that consumed the fermented diets. After 60 days, the concentration of intestinal BAL was higher in the intestines of fish that received the diet fermented for 3 hours. The enzymatic activity of juvenile *O. mykiss* was altered by the fermented diets, and hepatic ammonia decreased in response to the fermented diets. In general, LAB have been shown to influence the bromatological composition of commercial feeds and subsequently the productive performance, feed efficiency, and hepatic ammonia metabolism of rainbow trout, although the effects may vary depending on the fermentation time and the composition of the feed used.

Keywords: Probiotics; Fermented foods; Immune resistance; Organic acids; Microorganisms; Sustainable aquaculture.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1- Distribuição geográfica da truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) no mundo.....	15
Figura 2- Sedimentador de fluxo radial para remover sólidos decantáveis.....	19
Figura 3- Separador centrífugo de sólidos utilizados em sistemas com recirculação de água.....	20
Figura 4- Filtro de malha parabólica para remover sólidos de sistemas com recirculação de água	
Figura 5- Filtro tambor usado para remover sólidos de sistemas com recirculação de água.....	22
Figura 6- Filtro de grânulos flutuantes (bead filter) para tratar a água de sistemas com recirculação.....	23
Figura 7- Fracionador de espuma utilizado em sistemas com recirculação de água.....	24
Figura 8- Ingestão de ração fermentada e mecanismo de ação dos microrganismos no epitélio intestinal do peixe.....	31

CAPÍTULO II - O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, O PERFIL METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS *Oncorhynchus mykiss* PRODUZIDOS EM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.

Figura 1 - Plano isométrico (vista aérea e de perfil) dos tanques de cultivo alocados em um sistema de recirculação experimental para o cultivo de juvenis de trucha arco-íris alimentados com dietas fermentadas...	46
--	----

Figura 2 - Curva cinética durante a fermentação de ração com 15% umidade com *Lb. Acidophilus* + *Lb. Rhamnosus* durante 12 horas. Figura 1B. Valores de pH durante a cinética de fermentação com *Lb. Acidophilus* + *Lb. Rhamnosus* 52

Figura 3 - Concentrações hepáticas de amônia em juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentadas em sistema com recirculação de água..... 58

CAPÍTULO III - CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LODOS PROVENIENTES DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS *Oncorhynchus mykiss* ALIMENTADOS COM DIETAS FERMENTADAS EM UM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.

Figura 1 - Caixas de fibra de vidro recuperadas para o estudo da coleta de fezes 82

Figura 2 - Processo sequencial da montagem das peças em fibra de vidro responsáveis pela captura das fezes sedimentam na caixa de cultivo. 84

Figura 3 - Fluxómetro mecânico utilizado para determinar a velocidade de nado dos peixes..... 85

Figura 4 - Vista lateral do sistema hidráulico da coleta de fezes: caixa de cultivo de 500 litros com dupla drenagem com seu respetivo coletor..... 86

Figura 5 - Plano isométrico (vista de perfil e áerea) do sistema de recirculação com os componentes unitários para a captura de sólidos provenientes da truta arco-íris alimentadas com as dietas fermentadas..... 86

Figura 6 - Conos de imhoff utilizados nas determinações volumétricas de fezes de truta arco íris..... 88

Figura 7 - Filtros de nylon utilizados para drenar excedente de água das fezes coletadas..... 89

Figura 8 - Fezes de truta arco íris com 80% de umidade para secagem em estufa.. 89

Figura 9 -	Processo de moagem e peneiramento de amostras de lodo procedentes de juvenis de truta Arco íris alimentados com diferentes dietas fermentadas.....	91
Figura 10-	Contagem de bactérias ácido lácticas, heterotróficas e <i>Escherichia coli</i> em amostras de lodo provenientes de juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	95
Figura 11-	Decaimento da demanda química de oxigênio (DQO) de lodos gerados por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	105
Figura 12-	Variação da turbidez remanescente em função da velocidade de sedimentação do lodo produzido por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	107
Figura 13-	Variação da turbidez remanescente em função do tempo de sedimentação do lodo produzido por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II - O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, O PERFIL METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS *Oncorhynchus mykiss* PRODUZIDOS EM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.

Tabela 1 - Composição centesimal das dietas fermentadas utilizadas na alimentação de juvenis de truta arco íris criados em sistema com recirculação de água.....	53
Tabela 2 - Perfil de aminoácidos livres das dietas fermentadas utilizadas na alimentação de juvenis de truta arco íris criados em sistema com recirculação de água.....	54
Tabela 3 - Parâmetros de desempenho da produção de juvenis de trucha arco-íris, <i>Oncorhynchus mykiss</i> alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	56
Tabela 4 - Contagem de microrganismos intestinais, bactérias heterotróficas, BAL e Vb. sp., de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas.....	57
Tabela 5 - Atividade enzimática digestiva de juvenis de trucha arco-íris, <i>Oncorhynchus mykiss</i> alimentados com dietas fermentadas após 60 dias de serem criados em um sistema com recirculação de água.	57

CAPÍTULO III - CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LODOS PROVENIENTES DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS *Oncorhynchus mykiss* ALIMENTADOS COM DIETAS FERMENTADAS EM UM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.

Tabela 1 - Composição centesimal dos lodos proveniente de juvenis de truta arco-íris criados em sistema com recirculação de água e alimentados com dietas fermentadas.....	97
Tabela 2 - Análise química de macro e micro minerais das fezes provenientes de juvenis de truta arco íris criados em sistema com recirculação de água.....	98
Tabela 3 - Teores médios de elementos químicos dos lodos provenientes de juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentas expressos na forma elementar e analisados por fluorescência de raios-X.....	100
Tabela 4 - Concentrações de metais pesados nas dietas experimentais determinados por espectrofotometria de absorção atômica.....	101

Tabela 5 - Valores médios de metais pesados dos lodos provenientes de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas e criados em sistema com recirculação de água.....	102
Tabela 6 - Valores médios de metais pesados das cinzas provenientes do lodo de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas e criados em sistema com recirculação de água.....	103
Tabela 7 - Valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de lodos gerados por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	104
Tabela 8 - Demanda química de oxigênio (DQO) de lodos gerados por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.....	105
Tabela 9 - Valores médios de turbidez (NTU) de amostras de lodo provenientes de juvenis de trucha arco-íris, <i>Oncorhynchus mykiss</i> alimentados com dietas fermentadas após 60 dias de serem criados em um sistema com recirculação de água.....	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Aminoácidos
ANF's	Fatores antinutricionais
ANOVA	Analysis of variance
AOAC	ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS
ALT	Alanina aminotransferase
APHA	American Public Health Association
BAL	Bactéria ácido Lática
BOD	Biochemistry Oxygen Demand
°C	Grau celsius
CAA	Conversão Alimentar Aparente
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CMOLC/dm ³	Centimol de carga por decímetro cúbico
C/N	Relação carbono: nitrogênio
CO ₂	Dióxido de Carbono
C.O	Carbono Orgânico
COD	Chemical Oxygen Demand
CP	Crude Protein
CTC	Capacidade de troca catiônica
DBO	Demand Bioquímica de Oxigênio
DESVPAD	Desvio Padrão
DQO	Demand Química de Oxigênio
EB	Energia bruta
ED	Energia Digestível
EE	Extrato etéreo
IHS	Índice Hepatossomático
FDA	Fibra detergente ácida
FDN	Fibra detergente neutra
g	Gramas
GP	Ganho de Peso
h	Horas
HCl	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IHS	Índice hepatossomático
Lb	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>L</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
Log	Logaritmo
mg	Miligramas
mL	Mililitros
MM	Material Mineral
mM	Milimolar
M.O	Matéria Orgânica
MRS	Caldo/ágar Man, Rogosa e Sharpe
NRC	National Research Council
NTU	Unidade nefelométrica de turbidez
O ₂	Oxigênio molecular
PB	Proteína Bruta
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Policloreto de Vinila
RAS	Recirculating Aquaculture Systems
S	Sobrevivência
SS	Sólidos suspensos
SST	Sólidos suspensos totais
SDT	Sólidos dissolvidos totais
TCA	Ácido tricloroacético
TCBS	Ágar de tiosulfato, citrato, bílis e sacarose
TCE	Taxa de Crescimento Específico
TGI	Trato gastrointestinal
TSA	Ágar Triptona de Soja
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UCN	Universidad Católica del Norte de Chile
UFC	Unidade formadora de colônia
µmol	Micromol
<i>Vb. sp.</i>	<i>Vibrio</i> espécie
VS	Velocidade de sedimentação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	ESPÉCIE DE PEIXE SELECIONADA NO TRABALHO DE PESQUISA.....	15
2.2	MODELO ATUAL DA AQUICULTURA.....	16
2.3	DISPOSITIVOS PARA CAPTURAR E REMOVER OS SÓLIDOS SUSPENSOS.....	18
2.4	COMPOSIÇÃO DO ALIMENTO NA EFICIÊNCIA PARA REMOVER OS SÓLIDOS.....	25
2.5	FERMENTAÇÃO.....	27
2.5.1	Microrganismos fermentadores.....	28
2.5.2	Mecanismos de ação da fermentação.....	29
2.6	CARACTERIZAÇÃO DOS SÓLIDOS.....	31
3	CAPÍTULO II - O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, O PERfil METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS <i>Oncorhynchus mykiss</i> PRODUZIDOS EM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA	34
	RESUMO.....	35
3.1	INTRODUCÃO.....	38
2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
2.1	RAÇÃO COMERCIAL FERMENTADA	43
2.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS RAÇÕES FERMENTADAS.....	43
2.3	CONTAGEM DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS.....	44
2.4	ANÁLISES BROMATOLÓGICAS E DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES.....	44
2.5	ANIMAIS.....	44
2.6	SISTEMAS DE CULTIVO.....	45
2.7	DESENHO EXPERIMENTAL.....	46
2.8	MANEJO ALIMENTAR.....	47

2.9	DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	47
2.1.0	CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS.....	48
2.1.1	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DIGESTIVA.....	48
2.1.2	DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA HEPÁTICA E MUSCULAR	50
2.1.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
3	RESULTADOS.....	51
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA RAÇÃO FERMENTADA.....	51
3.2	COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DAS DIETAS FERMENTA	52
3.3	AMINOÁCIDOS LIVRES DAS DIETAS EXPERIMENTAIS	53
3.4.	RESPOSTA DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DOS JUVENIS DE TRUTA ARCO-ÍRIS ÀS DIETAS FERMENTADAS.....	55
3.5	CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS	57
3.6	ATIVIDADE ENZIMÁTICA INTESTINAL.....	57
3.7	DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA EM FÍGADO E MUSCULO BRANCO	58
4	DISCUSSÃO.....	59
4.1	DESEMPENHO DE CRESCIMENTO	59
4.2	CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS	63
4.3	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DIGESTIVA	48
4.4	AMÔNIA HEPÁTICA E MUSCULAR.....	64
5	CONCLUSIONES.....	67
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	
	REFERÊNCIAS.....	68
	CAPÍTULO III-CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LODOS PROVENIENTES DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS <i>Oncorhynchus mykiss</i> ALIMENTADOS COM DIETAS FERMENTADAS EM UM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA	74
	RESUMO.....	75
4.1	INTRODUCÃO.....	78
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	82
4.2.1	Animais, sistema de cultivo, dietas e desenho experimental	82

4.2.3	Sistema de cultivo.....	82
4.2.3	Manejo das dietas experimentais.....	87
4.2.4	Coleta de lodos.....	88
4.2.5	Análise bromatológica dos lodos.....	90
4.2.6	Determinação de elementos químicos pela técnica de fluorescência de raios -X -FDX.....	90
4.2.7	Análise de metais pesados.....	91
4.2.8	Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO ₅)	92
4.2.9	Determinação da demanda Química de Oxigênio (DQO).....	92
4.3.0	Turbidez.....	92
4.3.1	Contagem de bactérias ácido láticas no lodo.....	93
4.3.2	Análise estatística.....	93
3	RESULTADOS.....	94
3.1	CONTAGEM DE MICRORGANISMOS NO LODO.....	94
3.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS LODOS.....	96
3.2.1	Composição bromatológica dos lodos	96
3.2.2	Determinação de macro e micro minerais pela metodologia de Tedesco.....	97
3.2.3	Determinação de elementos químicos por Fluorescência de raios-X-FDX.....	99
3.2.4	Determinação de metais pesados em lodos de juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentadas.....	101
3.2.4.1	<i>Determinação de metais pesados nas dietas experimentais.....</i>	101
3.2.4.2	<i>Determinação de metais pesados nos lodos.....</i>	102

3.2.4.3	<i>Metais pesados nas cinzas (material mineral) dos lodos.....</i>	103
3.2.5	Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO ₅).....	104
3.2.6	Determinação química de oxigênio (DQO).....	104
3.2.7	Determinação de turbidez e velocidade de sedimentação do lodo.....	106
3.2.8	Determinação de turbidez remanescente causada pelo lodo.....	107
4	DISCUSSÃO.....	109
4.1	Contagem de microrganismos no lodo.....	109
4.2	Determinação bromatológica do lodo.....	
4.3	Determinação química de macro e micro minerais do lodo	110
4.4	Determinação de metais pesados em ração e lodos.....	111
4.5	Demandas Bioquímica de Oxigênio (DBO ₅) e demanda química de Oxigênio (DQO).....	112
4.6	Turbidez remanescente e velocidade de sedimentação do lodo.....	113
5	CONCLUSSÕES.....	115
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	
	REFERÊNCIAS.....	116

1 INTRODUCAO

Atualmente, os empreendimentos aquícolas para serem competitivos e sustentáveis devem estar ancorados em cinco bases sólidas da ciência entre outras, a qualidade da água, a genética, a sanidade animal, o manejo e a nutrição, sendo este último o foco da contribuição do presente trabalho de tese. A importância dessas bases nos diferentes sistemas produtivos de organismos aquáticos cresce conforme a intensificação do sistema. Sendo os sistemas intensivos de fluxo aberto de água (raceway) e os sistemas de aquicultura com recirculação de água (RAS- inglês) que podem ser afetados por alterações nessas bases ou fatores produtivos. De fato, no campo da ciência da nutrição, a alimentação pode chegar a representar até 80% dos custos de produção (KUBITZA, 2024), ainda nos sistemas RAS, que opera com altas densidades de peixes ($> 70 \text{ kg/m}^3$), a qualidade e o manejo alimentar têm grande impacto sobre a variáveis da qualidade da água e no desempenho zootécnico dos peixes (AHMED; TURCHINI, 2021). Variáveis como o consumo de alimento, a conversão alimentar, o ganho em peso, e saúde intestinal, são abordadas no capítulo II da tese, utilizando como modelo animal, a juvenil de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* uma espécie de grande importância econômica para a região serrana de Santa Catarina. No capítulo III, descreve-se a caracterização física-química dos lodos produzidos pelos peixes alimentados com as dietas fermentadas.

O experimento descrito no capítulo II foi conduzido em um sistema RAS, que se diferencia do sistema tradicional pelo tratamento integrado de efluentes, pela remoção e reciclagem dos lodos e pelo expressivo menor consumo de água. Além disso, permitem o cultivo de organismos aquáticos de forma biossegura em altas densidades durante todo o ano, independentemente das variações ambientais, assegurando um controle preciso dos parâmetros de qualidade da água (EBELING; TIMMONS, 2012; MONGIRDAS et al., 2017). De outro lado, o fornecimento sustentável de pesca de captura atualmente não é capaz de atender à crescente demanda global de alimentos de origem aquática (FAO, 2024). Por essa razão, para suprir a crescente demanda por peixes, a aquicultura vem expandindo e desempenhando um papel fundamental no fornecimento sustentado de produtos aquícolas (FAO, 2018). No entanto, paralelo a esse crescimento, a indústria da aquicultura exige um fornecimento contínuo de ingredientes para a fabricação de ração. Entre as matérias-primas, a farinha de peixe é considerada uma fonte primária de proteína. No entanto, o alto preço causado pela demanda, as mudanças climáticas imprevisíveis e as pressões ambientais cada vez maiores, levam a indústria da aquicultura a buscar novas fontes de proteínas para reduzir sua dependência da farinha de peixe como principal componente de rações aquícolas. Entre as fontes alternativas

destacam-se as proteínas vegetais, sobretudo os subprodutos da soja, como o farelo, amplamente utilizado na alimentação animal devido ao seu baixo custo, fácil disponibilidade e propriedades nutricionais. No entanto, seu nível de inclusão tem sido limitado pela presença de fatores antinutritionais (GHOSH et al., 2019; CHOI et al., 2020). Uma das soluções inovadoras para reduzir esses compostos é a utilização de ração fermentada, que se destaca por diversos benefícios como a maior biodisponibilidade de minerais previamente bloqueados por fitatos e oxalatos (DAWOOD; KOSHIO, 2020). A fermentação permite hidrolisar essas substâncias, liberando minerais como cálcio, ferro e zinco que podem ser absorvidos pela mucosa intestinal dos peixes. Se melhora a digestibilidade dos nutrientes, tornando-os mais biodisponíveis, garantindo melhor aproveitamento pelo animal (SIDDIK et al., 2023). Além disso, a fermentação contribui para o fortalecimento da microbiota intestinal e o aumento da resistência dos peixes a doenças. No processo de fermentação se utilizaram as bactérias ácido lácticas (BAL), *Lactobacillus Acidophilus* e *Lacticaseibacillus rhamnosus* que transformam ingredientes convencionais em uma fonte de alimentação mais biodisponível e nutritiva, otimizando o desempenho dos peixes e promovendo práticas mais sustentáveis na aquicultura.

Portanto, no capítulo II do trabalho, se estudam os efeitos da fermentação aplicada às rações comerciais para a produção de peixes carnívoros, como a truta arco-íris. Além disso, ao final do final do capítulo, são apresentadas algumas considerações finais que podem servir para futuros trabalhos de nutrição e desempenho da espécie.

Por outro lado, no capítulo III, descreve-se a importância do estudo da caracterização físico-química dos lodos, que permite identificar o tratamento e a destinação mais adequada, contribuindo para a sustentabilidade dos sistemas de recirculação. Sabe-se que, os sólidos presentes no sistema de RAS variam em tamanho e densidade, o que influencia sua remoção e transporte. Para uma captura e remoção eficaz dos sólidos (fezes), estes devem possuir firmeza suficiente para permitir seu transporte pelo sistema de tubulação dos RAS. A forma dos sólidos assemelha-se a um pellet com uma estrutura frágil e suas características físico-químicas, como conteúdo de água, viscosidade, densidade e resistência, são determinadas pelo tipo de ingredientes que compõem a ração. Diversos fatores podem afetar a qualidade dos sólidos, como o conteúdo de energia das dietas (HEINEN; HANKINS, 1996), tipo de fonte proteica que constitui a ração, se é de origem animal e vegetal (DAVIDSON et al., 2013). Diferenças na composição podem direcionar diferentes formas de reaproveitar este material.

A inclusão de determinados ingredientes na ração, como a soja, pode induzir diarreia em salmonídeos. Além disso, foram observadas fezes aquosas em salmonídeos alimentados

com rações contendo alta inclusão de fontes proteicas de origem vegetal (BAEVERFJORD; KROGDAHL, 1996). Essas fezes oriundas de rações com alta quantidade de proteína vegetal são aquosas sem coesão, difíceis de remover dos tanques de cultivo. A remoção de fezes e restos de alimentos nos sistemas de RAS deve ocorrer de maneira rápida, pois, caso contrário, impactará diretamente a qualidade da água e o bem-estar dos peixes. Estes sólidos devem ser separados da água por diversas técnicas de captação de sólidos, como sedimentação, filtração mecânica ou por centrifugação que os transportam até as unidades de tratamento (Xiao et al., 2019). Nos sistemas de RAS, a captura de lodos ainda apresenta baixa eficiência devido à fragmentação das fezes em pequenas partículas que dificulta ainda mais o processo de tratamento dos sólidos produzidos pelos peixes. Ademais, a remoção insuficiente de resíduos sólidos pode promover o crescimento de bactérias heterotróficas e a acumulação de micropartículas na água. Consequentemente, o excesso de sólidos ou carga orgânica pode comprometer a função do biofiltro, provocar off-flavor, favorecer florações de patógenos oportunistas ou aumentar o risco de produção de H_2S no RAS (TIMMONS et al., 2018). O lodo é composto principalmente de fezes, alimentos não consumidos e biomassa bacteriana, sendo rico em nutrientes como nitrogênio, fósforo, potássio, ferro, manganês e zinco (RAFIEE; SAAD, 2005). Comumente, os lodos descartados das pisciculturas representam uma perda significativa e valiosa de nutrientes, que acabam sendo liberados ambiente.

Os nutrientes presentes nos lodos podem ganhar uma segunda vida por meio dos princípios da economia circular, transformando-se de resíduo em um recurso valioso e útil. Os efluentes da aquicultura contêm nutrientes essenciais para o crescimento de plantas, que atuam como depuradoras ou sistemas de polimento, isso contribui para a manutenção da qualidade da água, possibilitando seu retorno ao sistema de cultivo dos peixes (GICHANA et al., 2018). Já foi demonstrado que a aplicação de sistema de aquaponia permite recuperar parte destes nutrientes (RAFIEE; SAAD, 2005). Outra abordagem possível é a implementação de sistemas multitróficos. Peixes detritívoros, como os bagres podem se alimentar dos resíduos sólidos de outras espécies que estão em um nível trófico superior. Em sistemas abertos de produção já foi evidenciado que o policultivo de truta arco-íris e jundiá (*Rhamdia quelen*) aumentou a eficiência de aproveitamento das dietas (PEREIRA et al., 2017b). Então, os sólidos podem ainda ser reaproveitados para uso positivo

Ao final do capítulo, são apresentadas algumas considerações que podem direcionar para futuros trabalhos sobre o uso potencial dos lodos em diversas áreas do saber.

2 REVISAO DE LITERATURA

2.1 ESPÉCIE DE PEIXE SELECIONADA NO TRABALHO DE PESQUISA

A truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM, 1792) ordem Salmoniformes, família Salmonidae, é uma das espécies de peixe mais difundidas em todo o mundo (HERSHBERGER, 1992), tendo sido introduzida há mais de 125 anos em diversos ambientes tanto marinhos quanto de água doce (ROJAS-SANDOVAL, 2024). A distribuição geográfica original da espécie é a zona que compreende os rios e a região costeira da vertente do Pacífico da América do Norte e o nordeste da Ásia. Na América do Norte, sua distribuição natural se estende desde o sul do Alasca até o norte do México (HERSHBERGER, 1992, ROJAS-SANDOVAL, 2024) (Figura 1). A produção média global é de cerca de 850.000 toneladas métricas. Noruega e Chile são os maiores produtores da espécie em balsas marinhas (87.775 t e 84.213 t, respectivamente). Em ambientes continentais, Irã e Turquia são líderes com 163.325 t e 99.712 t (FAO, 2020).

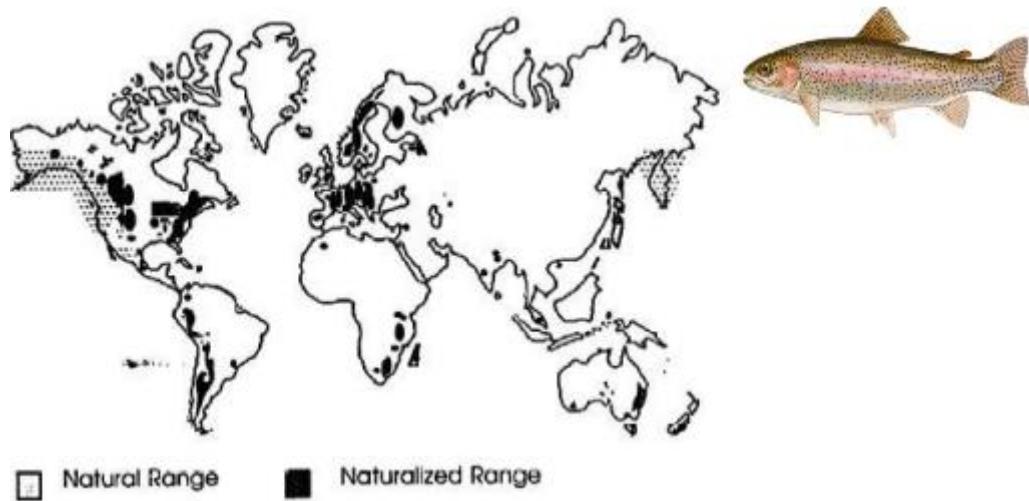


Figura 1. Distribuição geográfica da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) no mundo

Por outro lado, países latinos como o Peru apresentam expressivas produções de truta arco-íris com 54.188 t (EUMOFA, 2023). Brasil, o maior país da América Latina, tem pouca representatividade no setor com uma produção de 1.644 toneladas, sendo o Estado de Minas Gerais o maior produtor com 1,1 mil toneladas e em segundo lugar Santa Catarina com 484 toneladas (IBGE, 2022).

Por apresentar excelentes características para a aquicultura, como espécie de alto valor de mercado, pode tolerar uma amplitude de condições ambientais dentro de seus limites

fisiológicos, como temperaturas entre 9 a 24 °C, que lhe permitem crescer e reproduzir-se, sendo a faixa de 13 a 17 °C, a mais indicada para seu cultivo e para ótimo crescimento entre 15 a 16 °C (BLANCO, 1994). Espécie de fácil desova, produz ovócitos de grande tamanho que depois geram alevinos aptos a receber uma ampla variedade de ingredientes para a confecção de alimento formulado desde seu ciclo inicial de vida (AAS, et al., 2022), além disso, é uma espécie muito valorizada para a pesca esportiva por seu comportamento agressivo, todos esses fatores têm contribuído para sua ampla distribuição em muitas regiões do mundo (ROJAS-SANDOVAL, 2024).

2.2 MODELO ATUAL DA AQUICULTURA

De modo geral, observa-se um crescente interesse no consumo de peixe entre a população humana, motivada tanto pelo reconhecimento de seu valor nutricional quanto por seu efeito na saúde (TINGMAN et al., 2010; FERNANDES et al., 2012; TILAMI; SAMPELS, 2017; AHMED ET AL., 2022). Nesse contexto, a aquicultura tem apresentado um crescimento significativo, superando a pesca de captura em mais de 51% (FAO, 2024) o que permite ainda, diminuir a pressão sobre os estoques pesqueiros. No entanto, esse crescimento está baseado em um modelo econômico tradicional de aquicultura intensiva que se caracteriza principalmente por ser lineal, isto é, utiliza recursos naturais essenciais (água, combustíveis, energia, mão de obra, alimentos e organismos aquáticos) como material prima para transformá-los em produtos acabados (alevinos, peixe inteiro, postas o filé), os quais são transportados, distribuídos e comercializados em supermercados para os consumidores. Gerando nesse processo, enormes quantidades de efluentes, lodos e resíduos (ZIMMERMANN et al., 2023). Esse modelo lineal de “pegar, fazer, descartar e poluir” já não mais viável a logo prazo, haja visto que a maioria dos recursos disponíveis são finitos, muitos deles estão já exauridos e há tendência a escassez em função do aumento da população. Por tanto, devemos evoluir para um modelo económico circular, onde a aquicultura seja mais eficiente no uso e preservação dos recursos naturais dentro de um ciclo continuo e regenerativo. Os recursos naturais (água, nutrientes, ingredientes) devem ser mantidos na economia por mais tempo, com mínimo impacto ambiental e facilitar a conversão de resíduos em recursos através de ecotecnologias eficientes (usar rações menos poluidoras, mais digestíveis, usar espécies tróficas de baixa cadeia alimentar como detritívoros, omnívoros que se alimentem dos resíduos produzidos por espécies de alto valor comercial como peixes carnívoros) que valorizem os médios de produção disponíveis na propriedade.

Por outro lado, sabe-se que a alimentação em sistemas intensivos representa o maior custo na produção de peixes, o qual pode variar entre 60% e 70% (GODDARD, 1996;

LOVELL, 1998; HASAN; NEW, 2013). Consequentemente, o fornecimento, manejo e qualidade do alimento é um ponto crítico na sustentabilidade financeira de qualquer empreendimento aquícola e deve ser otimizado para o máximo crescimento dos peixes (AVELLA; PARRA, 2018). Apesar dos peixes apresentarem a maior eficiência em transformar os nutrientes do alimento em aumento em peso ou menor conversão do alimento entre os animais domésticos (TORRISEN et al., 2011; WU, 2018). No entanto, estes apenas incorporam em média um 30% da matéria orgânica (nutrientes da ração) em biomassa e o restante da matéria orgânica (70%) é descartada em forma de lodos (fezes + restos de ração) (CYRINO et al., 2010; MONTANHINI; OSTRENSKY, 2015; BOYD et al., 2020). Esta matéria orgânica descartada (lodos) caracteriza-se por ser concentrada em nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, que ao ser descarregada aos ecossistemas aquáticos ocasionam impacto ambiental, como alteração da composição da flora e fauna, causa eutrofização e ameaça a saúde de formas de vida a jusante como peixes, crustáceos, anfíbios, macrofauna bentônica e inclusive o homem, tornando-se uma ameaça ao meio ambiente (CHIQUITO-CONTRERAS et al., 2022; MADARIAGA; MARÍN, 2017). Portanto, esse modelo atual de aquicultura já não está mais sendo aceito pela comunidade científica e consumidora pelos fatores mencionados anteriormente, sendo necessário promover mudanças de forma transicional para uma aquicultura de forma sustentável (ZIMMERMANN et al., 2023).

Por isso, devemos delinear estratégias que permitam aos peixes aproveitarem ao máximo possível os nutrientes contidos nos alimentos. Neste sentido implementar estratégias como os processos de fermentação que permitam otimizar os nutrientes da ração no cultivo peixes de alto valor comercial como a truta arco íris, de forma a reduzir a conversão alimentar e aumentar seu desempenho zootécnico. Outra estratégia é aproveitar o potencial dos lodos produzidos pela truta arco íris que ainda apresentam concentrações significativas de nutrientes que podem ser reaproveitados e inseridos de novo nos sistemas produtivos agroalimentares. isto é, valorizar os lodos para que possam ter uma maior participação no setor e dessa forma, promover uma economia aquícola circular mais sustentável. Evitando desse modo, que sejam descartados e vir a causar alterações ambientais.

Dado que a maior fração dos custos da ração que seria descartada em forma de carga orgânica poluente ao ambiente. Esta poderia ser removida dos tanques de cultivo, armazenada e reaproveitada para produzir bioproductos com valor agregado que permitam resgatar o investimento da ração e melhorar a lucratividade do produtor aquícola. Contudo, a maioria dos

produtores de peixes desconhecem muitas vezes que existem tecnologias e equipamentos para capturar e tratar os lodos (sólidos).

2.3 DISPOSITIVOS PARA CAPTURAR E REMOVER OS SÓLIDOS

Existem diferentes tecnologias para remover os sólidos, as quais podem ser divididas basicamente em quatro métodos de remoção: 1- filtração gravitacional ou mecânica representada por filtro parabólico ou estático, filtro tambor rotatório (telas plásticas ou aço inox), filtros lentos de areia-grava (gravidade), filtros rápidos de areia (pressurizados), filtros de cartuchos ou sacos (telas de nylon); 2- por métodos de sedimentação que utiliza tanques sedimentadores, tanques de vórtex ou hidrociclones e tanques sedimentadores de fluxo radial; 3 - por métodos de flotação que emprega os fracionadores de espuma (skimmer) e 4- por método físico-químico que utiliza a remoção de sólidos por coagulação e floculação, esta tecnologia baseia-se na incorporação de substâncias químicas (sulfato de alumínio, entre outros) que ajudam a aglutinar partículas pequenas em maiores na coluna da água, facilitando de essa forma sua sedimentação e posterior remoção por métodos físicos ou gravitacionais (CRIPPS; BERGHEIM, 2000, BERGHEIM; BRINKER, 2003; TIMMONS; EBELING, 2007).

A separação por gravidade é baseada no princípio de sedimentação e velocidade de decantação, onde a partícula a ser sedimentada deve ter uma maior densidade que a água, e no final obtém-se um líquido clarificado e um efluente com maior concentração de sólidos. Esta tecnologia inclui os clarificadores (tanques de sedimentação), sedimentadores de fluxo radial (Figura 2), os tubos de decantação ou hidrociclones (DAVIDSON; SUMMERFELT, 2005; TIMMONS; EBELING, 2007).

O método de sedimentação é de ampla aplicação na aquicultura e eficaz para remover sólidos com tamanho $> 100 \mu\text{m}$. O design e funcionamento de tanques de sedimentação são governados pela taxa de fluxo, a viscosidade da água, a gravidade específica da partícula (densidade), forma, diâmetro e distribuição de velocidades de sedimentação da partícula a ser removida (CRIPPS; BERGHEIM 2000, WONG; PIEDRAHITA, 2000; MERINO et al., 2007). Em estudo realizado por Davidson e Summerfelt (2005), observaram que sedimentadores de fluxo radial são mais eficientes em remover sólidos suspensos do que hidrociclones (77,9% vs 37,1%).

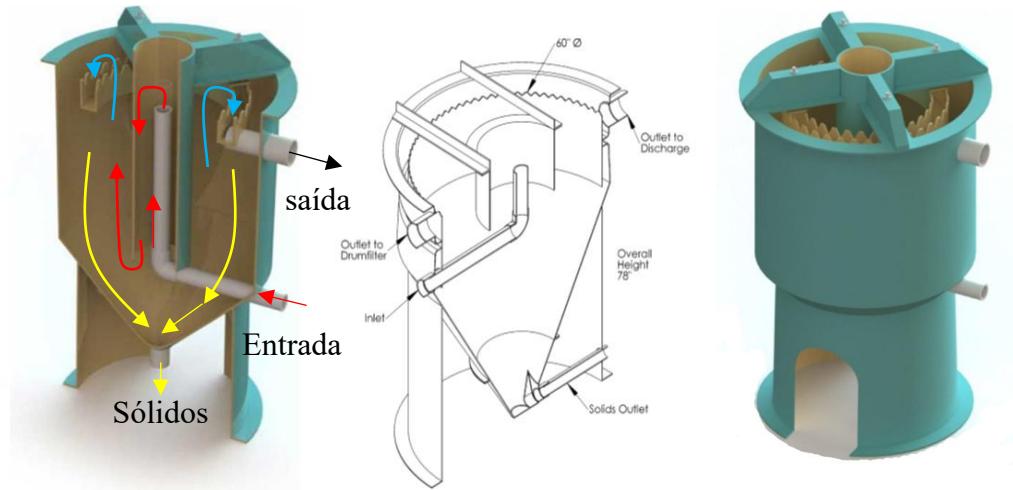


Figura 2- Sedimentador de fluxo radial para remover sólidos decantáveis (TIMMONS et al., 2018).

As vezes para melhorar a eficiência na extração de sólidos se recomenda instalar além do filtro tambor, um separador centrífugo (swirl separator) que opera de forma continua na remoção dos sólidos do tanque de cultivo. A água afluente entra paralela a parede interna do separador promovendo um fluxo laminar que percorre de forma circular e descendente (vórtex) concentrando os sólidos no dreno central do separador (Figura 3).

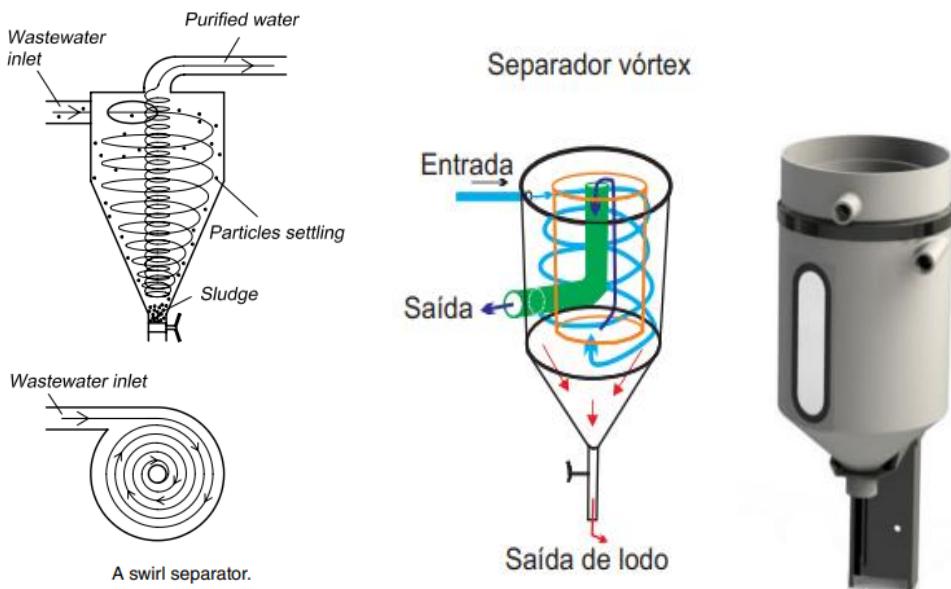


Figura 3- Separador centrífugo de sólidos utilizados em sistemas com recirculação de água (TIMMONS et al., 2018; LEKANG, 2019).

A filtração mecânica é outro dos métodos gravimétricos convencionais para a remoção de sólidos suspensos. Esta tecnologia evoluiu no sentido de depender de menos manutenção,

troca de peças, economia de energia e menor consumo de água para processos de autolimpeza (CHEN et al., 1994; CRIPPS; KELLY 1996).

Entre as tecnologias de filtração convencional existem as malhas estacionárias ou filtros parabólicos em telas de aço inox (Figura 4). São filtros simples e fáceis de operar, e consistem no uso de uma malha de aço inoxidável que se antepõe ao fluxo de água. A taxa destes filtros para remover sólidos com diâmetros maiores a $70\mu\text{m}$ é superior a 80%. Quanto menor a abertura da malha, mais eficiente será a remoção dos sólidos suspensos. A desvantagem da malha estacionária é que ela necessita de uma manutenção constante devido à obstrução dos orifícios (CRIPPS; KELLY 1996; NGUYEN et al., 2024).

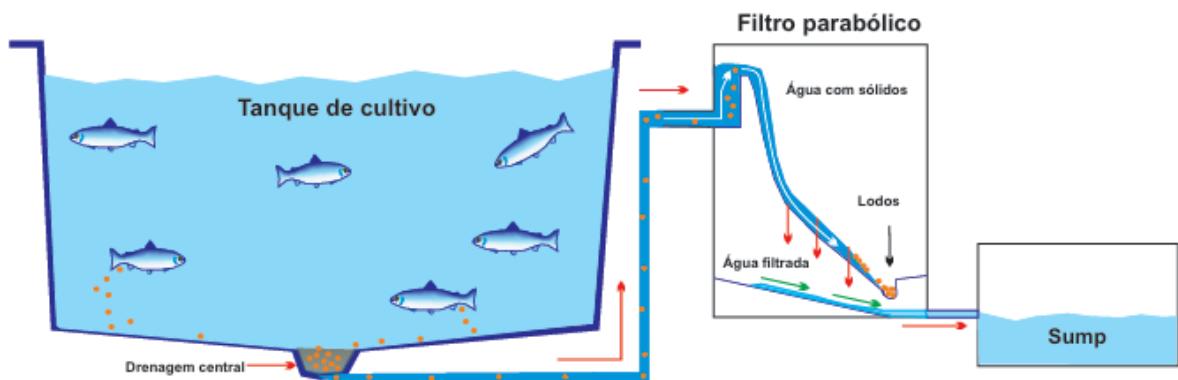


Figura 4- Filtro de malha parabólica para remover sólidos de sistemas com recirculação de água (TIMMONS et al., 2018).

Uma versão mais evoluída dos filtros de malha estacionária são os filtros de disco e os filtros de malhas rotatórias ou filtros tambor (Figura 5). As malhas rotativas são as mais difundidas e utilizadas na indústria da aquicultura (BANDIOLA et al., 2012). Esses filtros funcionam automaticamente mediante o acionamento de um sensor de nível que ativa simultaneamente tanto um moto-redutor que controla o movimento giratório do tambor (3-6 rpm), como uma bomba de alta pressão (4-6 bar) que executa a retrolavagem das malhas, a qual requer entre 0,05 a 3% do fluxo total de água que entra no rotofiltro (BANDIOLA et al., 2012).

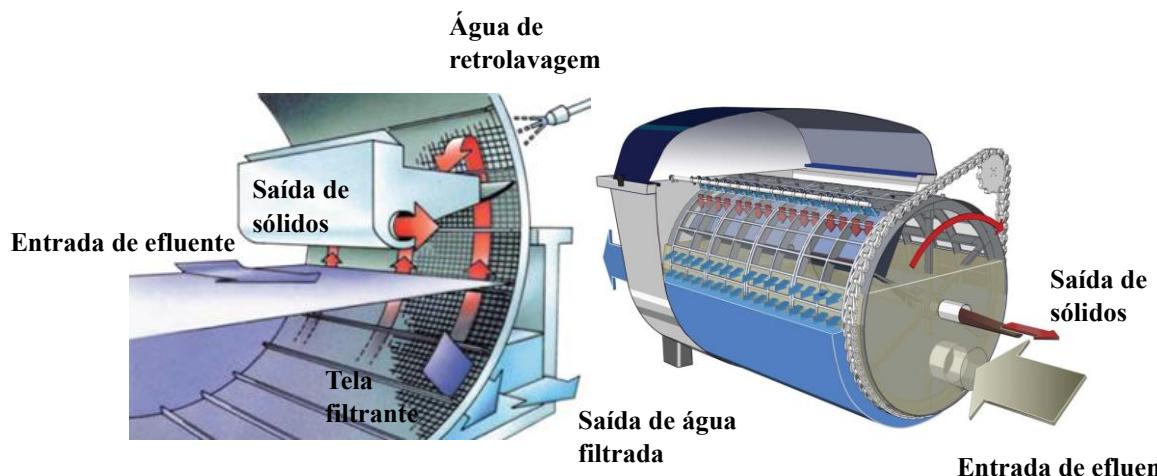


Figura 5- Filtro tambor usado para remover sólidos de sistemas com recirculação de água (TIMMONS et al., 2018).

A água proveniente dos tanques de cultivo entra por gravidade no interior do tambor, de modo que uma parte da malha submersa retém os sólidos suspensos de maior tamanho (geralmente $>70 \mu\text{m}$). Neste processo, à medida que a água passa ou se filtra pela malha, os sólidos suspensos maiores que uma determinada abertura vão se acumulando temporariamente no interior da malha, causando sua colmatação, e com isso obstruindo a passagem da água. Com isso, o nível da água aumenta até ativar um sistema automático (sensor de nível), o qual ativa um processo de limpeza da malha por retro-lavagem, e a água ejetada com os sólidos suspensos são direcionados para um coletor (CRIPPS; KELLY, 1996; LOSORDO et al., 1999).

Os sólidos em suspensão são partículas sólidas de diferentes tamanhos, que podem ser de origem orgânica ou inorgânica; sua medição ou concentração é dada em miligramas por litro (mg/L) e seus valores variam de poucos a milhares de mg/L, dependendo da origem do efluente e dos tratamentos aos quais as águas residuais tenham sido submetidas.

A eficiência dos rotofiltros para remover sólidos em suspensão depende da abertura da malha filtrante. De fato, Ali (2013) avaliou um rotofiltro com malha de 100 μm para tratar a água de um ciclo completo de tilápia (*Oreochromis niloticus*), o qual reportou baixa eficiência (34,2%) no início do ciclo de cultivo, mas à medida que os peixes cresceram, a eficiência melhorou (52,41%).

O anterior indica que é necessário utilizar uma malha com menor abertura no início do cultivo para evitar alterações na qualidade da água e possuir outro rotofiltro de pelo menos 90 μm de malha filtrante para a engorda de peixes. Em outro estudo, Mortensen, (2000) avaliou três rotifiltros com malhas de 30, 60 e 100 μm . O autor encontrou uma correlação positiva entre a eficiência de filtração e a abertura da malha. Os rotifiltros com a menor abertura (30 μm) apresentaram 99% de eficiência em remover sólidos em suspensão, enquanto os rotifiltros de 60 e 100 μm apresentaram uma eficiência decrescente (48% e 21%, respectivamente).

Nesse estudo, os rotofiltros com menor abertura de malha apresentaram maior frequência de retrolavagem, o que demandou maior consumo de água e de energia. Se forem escolhidos rotofiltros com malha em torno de 60 μm de abertura, no início funcionam bem, mas após um período de uso, sua área filtrante diminui devido à colmatação de matéria orgânica e vão perdendo eficiência. Hoje em dia, recomenda-se rotofiltros com abertura de malha de 90 μm para um desempenho e eficiência adequados em sistemas de aquicultura.

Outro dispositivo para remover os sólidos são os filtros de grânulos flutuantes ou bioclarificadores (Figura 6), visto que podem atuar como filtros mecânicos e como filtros biológicos. Em seu interior há um leito constituído por esferas de polietileno de 3 a 5 mm de diâmetro que capturam os sólidos à medida que a água ascende e passa pelo leito de grânulos. Este filtro captura e remove partículas menores a 20 μm (TIMMONS et al., 2009).

O inconveniente deste filtro é o consumo de energia e mão de obra para seu adequado funcionamento; além disso, deve ser retrolavado a intervalos de 24 horas devido a que, durante esse período de retenção, entre 30 a 40% do total de sólidos capturados se decompõem e começam a se dissolver e mineralizar, o que gera tanto aumento na demanda bioquímica de oxigênio (DBO) quanto aumento de amônia (NH_3) no sistema de cultivo (CHEN et al., 1993). A carga orgânica acumulada em seu interior atua como substrato para o crescimento bacteriano; por sua vez, reduz o desempenho do filtro biológico e consequentemente diminui a qualidade da água (ROJAS-TIRADO et al., 2018).

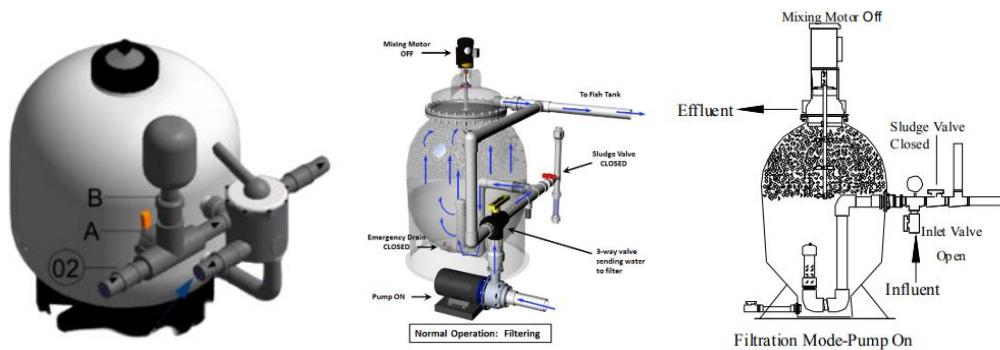


Figura 6- Filtro de grânulos flutuantes (bead filter) para tratar a água que recircula no sistema (TIMMONS et al., 2018).

Quando as partículas de sólidos menores de 30 μm escapam dos dispositivos convencionais de filtração de sólidos (filtro tambor), estas podem ser capturadas e removidas por espumadeiras ou skimmer (Figura 7). O equipamento funciona criando bolhas de ar na base da coluna da água. À medida que as bolhas ascendem vão capturando ou atraindo as partículas

por cargas elétricas ou forças iônicas. Forma-se uma espuma na superfície que é então removida. Este processo ajuda a manter a qualidade da água para o cultivo de organismos aquáticos (TIMMONS et al., 2018).

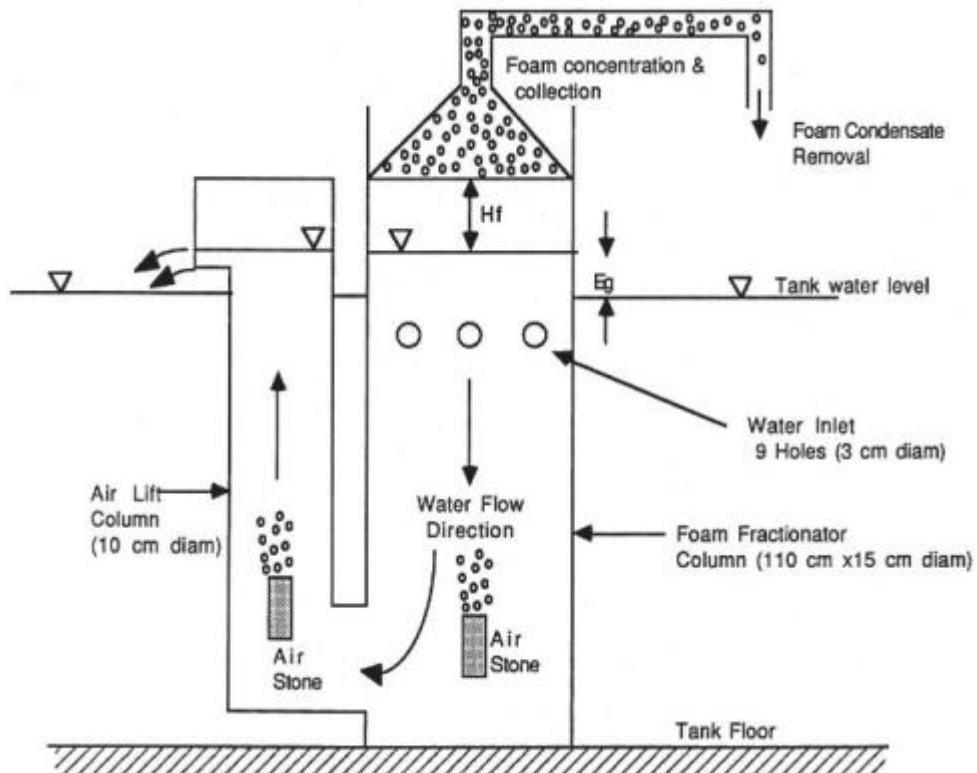


Figura 7- Fracionador de espuma utilizado em sistemas com recirculação de água (TIMMONS et al., 2018).

Como os sólidos suspensos têm diferentes tamanhos, muitas vezes uma única tecnologia não é suficiente para extraí-los; nesse caso, muitas pisciculturas ou estações de pesquisa utilizam duas ou mais tecnologias acopladas em série que removem significativamente os sólidos em suspensão. Além de contar com unidades individuais ou combinadas para remover os sólidos, outra estratégia que tem contribuição significativa nisso é o conhecimento da composição do alimento entregue aos peixes e como isso incide sobre a eficiência de captura e remoção dos sólidos (fezes + restos de alimento).

2.4 COMPOSIÇÃO DO ALIMENTO NA REMOÇÃO DE SÓLIDOS

A captura e remoção dos sólidos pode ser mais eficiente nas etapas anteriores à sua geração, ou seja, através da manipulação da composição do alimento (CHO; BUREAU, 2002). Em outras palavras, a quantidade de matéria fecal produzida pelos peixes depende em grande

medida da composição dietética, da digestibilidade dos ingredientes, da proporção destes na dieta e da quantidade de alimento oferecido aos peixes, sendo estes os principais fatores determinantes da quantidade de resíduos fecais (BUREAU; HUA, 2010).

A adição de aditivos na formulação do alimento pode aumentar ou diminuir a densidade dos sólidos fecais e indicar o tratamento mais adequado para sua remoção. Nesse sentido, Brinker et al (2005a) demonstraram que a inclusão de polissacarídeos obtidos de leguminosas, a denominada goma guar como aglutinante em dietas para truta arco-íris, aumentou a remoção de sólidos em 40% pelo rotofiltro. Em outro estudo, Brinker et al. (2005b) observaram que, ao aumentar a coesão dos pellets fecais, o tamanho de partícula aumenta, o que permite maiores taxas de sedimentação e menor lixiviação. Em um estudo mais recente, Welker e Overturf (2020), ao incorporar goma guar em dietas para truta arco-íris, observaram que o tamanho de partícula fecal aumentou e a produção de sólidos finos diminuiu.

Em um estudo conduzido por Merino et al. (2007) relataram que as propriedades de sedimentação das partículas estão mais correlacionadas com o tipo de alimento do que com o tamanho dos peixes. Meriac et al. (2014) observaram que ao modular a composição de carboidratos em dietas para truta arco-íris, os sólidos eram mais consistentes e fáceis de remover sem necessidade de adicionar aglutinantes, além de menor demanda de trabalho no biofiltro.

Na nutrição dos peixes, a seleção de ingredientes que compõem o alimento formulado é um fator decisivo que determina o sucesso de uma piscicultura e, entre eles, a farinha de peixe é a mais importante devido ao alto valor biológico da proteína e sua exclusão na formulação pode alterar os índices zootécnicos (GOMES et al., 1995; GLENROSS et al., 2011; TURCHINI et al., 2019). No entanto, a farinha de peixe está cada vez mais escassa e seu valor está aumentando (TACON; METIAN, 2015). Nesse contexto, fontes alternativas de alimentos para peixes com valor acessível e que otimizem o desempenho produtivo são importantes (ZHANG et al., 2014; DANIEL, 2018). Entre as fontes de ingredientes vegetais, está a farinha de soja, que é um subproduto da indústria de processamento do óleo de soja com um perfil nutricional quase semelhante à farinha de peixe, mas que precisa equilibrar alguns aminoácidos essenciais como a metionina. Além disso, apresenta fatores antinutricionais (FANs) que limitam sua utilização na alimentação de organismos aquáticos (ZHENG et al., 2017; GHOSH et al., 2019; CHOI et al., 2020). No salmão do Atlântico e na truta arco-íris, foi demonstrado que alguns FANs, como os carboidratos não amiloidéticos, causam diarreia ou enterite e disfunção da mucosa intestinal (HEIKKINEN et al., 2006; BAKKE-MCKELLEP et al., 2007; OPAZO et al., 2012). O que sugere que as fezes fecais provenientes de peixes alimentados com farinha de

soja não são muito compactas e firmes e, portanto, se desintegrariam facilmente ao contato com a água de cultivo.

Diante desses problemas, alimentos para peixes que apresentem a incorporação de ingredientes de origem vegetal devem passar por tratamentos que reduzam ou eliminem os FANs, por meio da exposição ao calor, no entanto, nem todos os FANs são eliminados mediante tratamento térmico (DAWOOD; KOSHIO, 2020). Nesse sentido, existe outro tratamento que, além de eliminar os FANs, diminui a fibra bruta e substâncias tóxicas, além de aumentar o conteúdo de proteína bruta de ingredientes vegetais (DREW et al., 2007; ZHANG et al., 2020). Uma alternativa para esse tratamento é o método de fermentação é uma alternativa validada que pode promover um aumento na qualidade dos ingredientes que compõem o alimento, inativar os FANs, melhorar a biodisponibilidade nutricional para os peixes (CHOI et al., 2020; MUGWANYA et al., 2022).

2.5 FERMENTAÇÃO

A fermentação é um processo catabólico anaeróbico utilizado por microrganismos como fungos, leveduras ou bactérias para extrair energia a partir de compostos orgânicos ricos em açúcares e gerar subprodutos metabólicos como ácidos orgânicos, álcool, gases entre outros (MADIGAN et al., 2016). Entre os tipos de fermentação há dois técnicas de fermentação, uma denominada fermentação submersa que utiliza substratos aquosos e a fermentação em estado sólido que utiliza substratos secos (SUBRAMANIYAM; VIMALA, 2012).

A fermentação em estado sólido (FES) é uma tecnologia que utiliza microrganismos como bactérias, fungos ou leveduras que crescem em substratos sólidos desprovidos ou com quase ausência de água livre, contudo, o substrato deve conter suficiente umidade para suportar o crescimento e metabolismo dos microrganismos (LONSANE et al., 1985; ABDUL MANAN; WEBB, 2017). A FES se emprega em subprodutos agrícolas de baixo valor comercial e nutricional (farelo de soja, trigo, aveia entre outros), transformando-os em ingredientes com maior biodisponibilidade nutricional em dietas para salmonídeos e outras espécies de peixes de interesse na indústria aquícola, como uma alternativa às necessidades de fontes de proteínas de alta qualidade e baixo custo (DAWOOD; KOSHIO, 2020.)

A fermentação melhora a qualidade nutricional e as características funcionais de vários ingredientes (XIAO et al., 2024). Estudos têm mostrado que a fermentação pode melhorar o valor nutricional dos ingredientes ao aumentar o conteúdo de proteína bruta e gordura, enquanto diminui os carboidratos e a fibra bruta (KITESSA, 2024). Além disso, a fermentação pode

aumentar a biodisponibilidade de minerais e fitoquímicos, e reduzir fatores antinutricionais (KITESSA, 2024).

Na aquicultura, os alimentos fermentados têm demonstrado ter vários benefícios (SAMADDAR, 2018). Por exemplo, a farinha de lupin fermentada demonstrou melhorar o desempenho de crescimento, a eficiência alimentar, particularmente a retenção de proteína e melhorou a atividade enzimática digestiva da truta arco-íris (DAVIES et al., 2021). A farinha de soja fermentada, quando incluída na dieta, demonstrou melhorar o ganho de peso e a taxa de conversão alimentar na truta arco-íris (BARNES et al., 2015). Além disso, o uso de resíduos orgânicos fermentados como substituto da farinha de peixe em dietas práticas de aquicultura pode reduzir os custos de produção e melhorar a digestibilidade e a absorção de nutrientes (SAMADDAR, 2018).

2.5.1 Microrganismos fermentadores.

Durante o processo de fermentação, utilizam-se diversos microrganismos em função do substrato ou ingrediente selecionado para confeccionar alimentos para peixes, como fungos (*Aspergillus* sp), leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), bactérias (*Bacillus pumillus*, *Pseudozyma aphidis*, *Bacillus subtilis*) bem como, bactérias ácido lácticas (LAB, sigla em inglês) entre as mais conhecidas estão: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, muito utilizadas na fermentação de ingredientes tanto de origem vegetal como animal visando melhorar o conteúdo nutricional e a palatabilidade, tornando-os mais atraentes para os peixes (DAWOOD; KOSHIO, 2020). Estes microrganismos podem atuar individualmente ou de forma sinérgica com outros microrganismos, potencializando ainda mais sua ação sobre ingredientes convencionais ou alternativos para a elaboração de ração animal (SIDDIK et al., 2024).

2.5.2 Mecanismos de ação da fermentação.

No processo de fermentação, a inoculação de microrganismos permite melhorar o perfil nutricional e estimular a biossíntese de substâncias com propriedades nutracêuticas em ingredientes convencionais (NKHATA et al., 2018; DAWOOD; KOSHIO, 2020; Y POSTIGO et al., 2021). Esta melhoria é possível através de alguns mecanismos da fermentação que implica na quebra de macromoléculas em biomoléculas simples pelos microrganismos, outro mecanismo é a liberação de nutrientes intactos de célula vegetal por enzimas segregadas pelos microrganismos que hidrolisam a parede celular da planta não digerível, tornando os nutrientes mais acessíveis e biodisponíveis. Esse mecanismo pode aumentar a disponibilidade de compostos benéficos como vitaminas, minerais (SIDDIK et al., 2023). Outra forma de aumentar

a extração de nutrientes contidos em fontes vegetais se consegue por meio da fermentação enzimática da celulose, hemicelulose e outros polissacarídeos complexos que são metabolizados “quebrados” em compostos monoméricos como a glicose e outros açúcares simples. Esse mecanismo é importante em ingredientes vegetais que apresentam quantidades significativas de celulose, hemicelulose que não são acessíveis às enzimas digestíveis dos animais não ruminais (NKHATA et al., 2018; SHARMA et al., 2020). Ao transformar esses polímeros em monômeros simples (açúcares), a fermentação aumenta a disponibilidade de nutrientes e torná-los aceitáveis e mais digestíveis para os animais.

Os açúcares extraídos de polissacarídeos, os microrganismos os utilizam como fonte de energia para seu crescimento, onde a característica comum desse processo é a produção de ácido láctico como catabólico único ou majoritário na fermentação dos açúcares realizado por bactérias ácido lácticas (BAL sigla em inglês), denominadas de homofermentativas estritas (SONG et al., 2024). Além de ser responsável pela acidificação do ambiente intestinal, o que inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis e patogênicos (SHARMA et al., 2020). Com a fermentação ocorre a multiplicação de microrganismos com potencial probiótico e paralelamente a produção de metabólitos secundários com propriedades bioativas como prebióticos, antibióticos, peptídeos bioativos de baixo peso molecular, enzimas proteolíticas (DADKHODAZADEH et al., 2024), fatores de crescimento e antimicrobianos, que incluem ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, nisin e bacteriocinas que, em sua ação conjunta, são uma alternativa ao uso massivo de antibióticos comumente utilizados na indústria de salmônidos (SIDDIK et al., 2023). É importante ressaltar que durante o processo de fermentação todos os produtos mencionados proporcionam valor agregado ao alimento entregue aos peixes, o que se reflete em um melhor processo de digestão e absorção dos nutrientes dos alimentos, além de oferecer uma maior proteção à saúde do animal (YANG et al., 2023). (Figura 8).

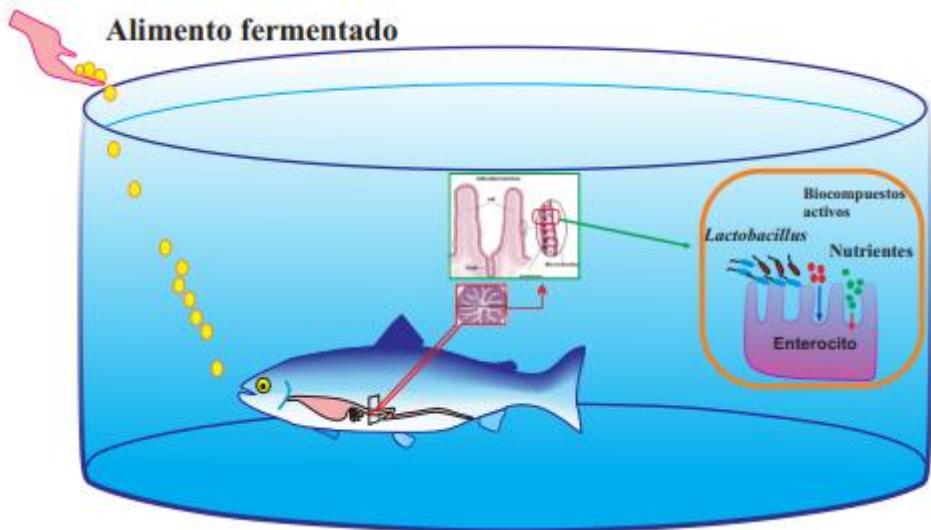


Figura 7 - Ingestão de ração fermentada e mecanismo de ação dos microrganismos no epitélio intestinal do peixe. (Própria Autoria).

No geral, a fermentação é uma técnica promissora que pode melhorar a qualidade tanto dos ingredientes da ração quanto dos peixes que se alimentam de fermentados, levando a um melhor desempenho de crescimento e saúde deles. Também a fermentação aumenta a digestibilidade do alimento e, dessa forma, se produz uma menor quantidade de fezes com características que sejam mais coesas, firmes e resistentes à ação turbulenta da água de cultivo. Por isso, é oportuno e necessário realizar estudos para caracterizar os sólidos produzidos por peixes alimentados com dietas fermentadas que contribuam para o entendimento de seu comportamento sobre as variáveis da qualidade da água e uma melhor gestão de resíduos com menor impacto ambiental.

2.6 CARACTERIZAÇÃO DOS SÓLIDOS

A descrição das características físicas e químicas dos sólidos é fundamental porque permite indicar o real potencial de utilização destes, assim como compreender os fatores que influenciam sua qualidade, além de identificar a fonte de geração e assim definir os mecanismos de remoção e tratamento (DEL CAMPO et al., 2010). Segundo a fonte de procedência, os sólidos produzidos nos sistemas de recirculação apresentam maior concentração de matéria orgânica e nutrientes do que os sistemas convencionais ou de raceways (ZHANG et al., 2013; MONGIRDAS et al., 2017).

Dependendo da tecnologia de remoção, a composição dos sólidos apresenta entre 92 a 97% de umidade (MIRZOYAN et al., 2010; MADARIAGA; MARÍN, 2017), as concentrações

de nitrogênio variam entre 3,6 a 35% e para fósforo entre 15 a 70% (PIEDRAHITA, 2003; MONGIRDAS et al., 2017). Em relação ao impacto ambiental que os sólidos causam, estima-se que para 1,0 kg de alimento consumido pela truta arco-íris, geram-se 0,52 kg de SST; 0,60 kg de DBO, 1,89 kg de DQO; 0,0162 kg de fosfato (PO_4^{3-}); 0,024 kg de nitrito (NO_2^-) e 0,0289 kg de amônia (NH_3) (MONGIRDAS et al., 2017).

Além das características químicas, as propriedades físicas dos sólidos têm implicações importantes na mecânica dos fluidos, visto que sua caracterização determina o mecanismo mais adequado para sua remoção (MERINO et al., 2007) e transporte advectivo (CORTES et al., 2022). Entre as propriedades físicas, os sólidos possuem tamanhos e densidades diferentes, os quais têm uma relação direta na distribuição de velocidades de sedimentação e de tamanhos (WONG; PIEDRAHITA, 2000; CORTES et al., 2022).

Em truta arco-íris, a maioria das partículas sólidas varia entre 5 a 20 μm de diâmetro (MCMILLAN et al., 2003) com densidades entre 1,005 a 1,034 g/cm³, o que reflete baixas velocidades de sedimentação (TIMMONS et al., 2009; UNGER; BRINKER, 2013b). Para truta arco-íris, a velocidade média de sedimentação dos sólidos é de 1,7 cm/s (WONG; PIEDRAHITA, 2000). O tamanho da partícula fecal também afeta a velocidade de sedimentação, a esse respeito, Unger e Brinker (2013b) encontraram que para partículas maiores de 600 μm de diâmetro, as velocidades de sedimentação foram entre 2,05 a 8,44 cm/s, enquanto que partículas entre 100 a 300 μm de diâmetro se correlacionaram com velocidades entre 0,022 a 0,093 cm/s e para partículas < 100 μm , as velocidades estiveram entre 0,0011 a 0,0045 cm/s. Para outras espécies de peixes, foram mencionados valores maiores, por exemplo, para o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) são relatadas velocidades de sedimentação entre 3,2 a 6,4 cm/s (CHEN et al., 2003). O anterior sugere que é importante conservar da melhor forma possível a integridade das fezes fecais, pois fatores como a densidade, tamanho e o transporte advectivo através do tubo influenciam significativamente na eficiência para remover os sólidos suspensos do sistema de cultivo.

REFERÊNCIAS

- AAS, T. S.; ÅSGÅRD, T.; YTRESTØYL, T. Utilization of feed resources in the production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Norway in 2020. **Aquaculture Reports**, v. 26, art. 101317, 2022.
- ABDUL MANAN, M.; WEBB, C. Modern microbial solid state fermentation technology for future biorefineries for the production of added-value products. **Biofuel Research Journal**, v. 4, n. 4, p. 730-740, 2017.
- AHMED, I.; et al. Muscle proximate composition of various food fish species and their nutritional significance: a review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 106, n. 3, p. 690-719, 2022.
- ALI, S. A. Design and evaluate a drum screen filter driven by undershot waterwheel for aquaculture recirculating systems. **Aquacultural Engineering**, v. 54, p. 38-44, 2013.
- BADIOLA, M.; MENDIOLA, D.; BOSTOCK, J. Recirculating aquaculture systems (RAS) analysis: main issues on management and future challenges. **Aquacultural Engineering**, v. 51, p. 26-35, 2012.
- BAKKE-MCKELLEP, A. M.; FRØYSTAD, M. K.; LILLEENG, E.; DAPRA, F.; REFSTIE, S.; KROGDAHL, Å.; LANDSVERK, T. Response to soy: T-cell-like reactivity in the intestine of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 30, p. 13-25, 2007.
- BARNES, M. E.; BROWN, M. L.; NEIGER, R. Comparative performance of two rainbow trout strains fed fermented soybean meal. **Aquaculture International**, v. 23, p. 1227-1238, 2015.
- BERGHEIM, A.; BRINKER, A. Effluent treatment for flow through systems and European environmental regulations. **Aquacultural Engineering**, v. 27, p. 61-77, 2003.
- BLANCO CACHAFEIRO, M. C. **La trucha: cría industrial**. Madrid: Ediciones Omega, 1995.
- BOYD, C. E.; D'ABRAMO, L. R.; GLEN CROSS, B. D.; HUYBEN, D. C.; JUAREZ, L. M.; LOCKWOOD, G. S.; VALENTI, W. C. Achieving sustainable aquaculture: historical and current perspectives and future needs and challenges. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 3, p. 578-633, 2020.
- BRINKER, A.; KOPPE, W.; RÖSCH, R. Optimised effluent treatment by stabilised trout faeces. **Aquaculture**, v. 249, p. 125-144, 2005a.
- BRINKER, A.; KOPPE, W.; RÖSCH, R. Optimizing trout farm effluent treatment by stabilizing trout feces: a field trial. **North American Journal of Aquaculture**, v. 67, p. 244-258, 2005b.
- BUREAU, D. P.; HUA, K. Towards effective nutritional management of waste outputs in aquaculture, with particular reference to salmonid aquaculture operations. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 777-792, 2010.

- CHEN, S.; STECHEY, D.; MALONE, R. F. Suspended solids control in recirculating aquaculture systems. **Developments in Aquaculture and Fisheries Science**, v. 27, p. 61-100, 1994.
- CHEN, S.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI JR, J. J.; ANESHANSLEY, D. J. Suspended-solids removal by foam fractionation. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 55, p. 69-75, 1993.
- CHEN, Y. S.; BEVERIDGE, M. C. M.; TELFER, T. C.; ROY, W. J. Nutrient leaching and settling rate characteristics of the faeces of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and the implications for modelling of solid waste dispersion. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 19, p. 114-117, 2003.
- CHIQUITO-CONTRERAS, R. G.; HERNANDEZ-ADAME, L.; ALVARADO-CASTILLO, G.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, M. D. J.; SÁNCHEZ-VIVEROS, G.; CHIQUITO-CONTRERAS, C. J.; HERNANDEZ-MONTIEL, L. G. Aquaculture—production system and waste management for agriculture fertilization—a review. **Sustainability**, v. 14, n. 12, art. 7257, 2022.
- CHO, C. Y.; BUREAU, D. P. Challenging old aquaculture values. **Feed Mix**, v. 10, p. 10-13, 2002.
- CHOI, D. G.; HE, M.; FANG, H.; WANG, X. L.; LI, X. Q.; LENG, X. J. Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 26, p. 37-46, 2020.
- CORTÉS, C.; BARRAZA, J.; MERINO, G. E. Advective transport of solids from a marine fish-rearing tank using gravity-driven effluent pipelines with various flow regimes. **Aquacultural Engineering**, v. 97, art. 102239, 2022.
- CRIPPS, S. J.; KELLY, L. A. Reductions in wastes from aquaculture. In: BAIRD, D. J.; BEVERIDGE, M. C. M.; KELLY, L. A.; MUIR, J. F. (Ed.). **Aquaculture and Water Resource Management**. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 166-201, 1996.
- CRIPPS, S. J.; BERGHEIM, A. Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. **Aquacultural Engineering**, v. 22, p. 33-56, 2000.
- CYRINO, J. E. P.; BICUDO, Á. J. D. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIK, J. K. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.
- DADKHODAZADEH, V.; HAMIDI-ESFAHANI, Z.; KHAN-AHMADI, M. Improvement of the valuable compounds of fish waste through solid-state fermentation with probiotics. **Applied Food Research**, v. 4, n. 2, art. 100534, 2024.
- DANIEL, N. A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, p. 164-179, 2018.
- DAVIDSON, J.; SUMMERFELT, S. T. Solids removal from a coldwater recirculating system: comparison of a swirl separator and a radial-flow settler. **Aquacultural Engineering**, v. 33, p. 47-61, 2005.
- DAVIES, S. J.; MORRIS, P. C.; KOUSOULAKI, K. A solid-state fermentation (SSF) supplement improved performance, digestive function and gut ultrastructure of rainbow trout

(*Oncorhynchus mykiss*) fed plant protein diets containing yellow lupin meal. **Aquaculture**, v. 545, art. 737177, 2021.

DAWOOD, M. A.; KOSHIO, S. Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 987-1002, 2020.

DEL CAMPO, L. M.; IBARRA, P.; GUTIÉRREZ, X.; TAKLE, H. R. Utilization of sludge from recirculation aquaculture systems. **Nofima rapportserie**, 2010.

DREW, M. D.; BORGESON, T. L.; THIESSEN, D. L. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. **Animal Feed Science and Technology**, v. 138, p. 118-136, 2007.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B. **Recirculating Aquaculture**. Ithaca, NY: Cayuga Aqua Ventures, 2010.

EUMOFA (European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products). **The EU Fish Market**, 2023.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024: La transformación azul en acción**. Roma: FAO, 2024.

FERNANDES, A. C.; SILVEIRA, E. A.; SANT'ANA, L. F. D. Benefits and risks of fish consumption for human health. **Revista de Nutrição**, v. 25, p. 283-295, 2012.

GHOSH, K.; RAY, A. K.; RINGØ, E. Applications of plant ingredients for tropical and subtropical freshwater finfish: possibilities and challenges. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, p. 793-815, 2019.

GLENCROSS, B.; RUTHERFORD, N.; HAWKINS, W. A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin meals in extruded diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, p. e317-e325, 2011.

GODDARD, S. **Feed Management in Intensive Aquaculture**. Springer Science & Business Media, 1995.

GOMES, E. F.; REMA, P.; GOUVEIA, A.; TELES, A. O. Replacement of fish meal by plant proteins in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect of the quality of the fishmeal-based control diets on digestibility and nutrient balances. **Water Science and Technology**, v. 31, p. 205-211, 1995.

HASAN, M. R.; NEW, M. B. On-farm feeding and feed management in aquaculture. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, n. 583, 2013.

HEIKKINEN, J.; VIELMA, J.; KEMILÄINEN, O.; TIIROLA, M.; ESKELINEN, P.; KIURU, T.; VON WRIGHT, A. Effects of soybean meal-based diet on growth performance, gut histopathology, and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 261, p. 259-268, 2006.

HERSHBERGER, W. K. Genetic variability in rainbow trout populations. **Aquaculture**, v. 100, n. 1-3, p. 51-71, 1992.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022.

- KHALILI TILAMI, S.; SAMPELS, S. Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 26, n. 2, p. 243-253, 2018.
- KITESSA, D. A. Review on effect of fermentation on physicochemical properties, anti-nutritional factors and sensory properties of cereal-based fermented foods and beverages. **Annals of Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 32, 2024.
- KUBITZA, F. **Nutrição e Alimentação dos Peixes Cultivados**. 2. ed. Revisão e ampliada. Jundiaí, SP, 257 p., 2024.
- LEKANG, O.-I. **Aquaculture Engineering**. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell, 2019.
- LONSANE, B. K.; et al. Engineering aspects of solid state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 7, n. 6, p. 258-265, 1985.
- LOSORDO, T. M.; MASSER, M. P.; RAKOCY, J. Recirculating aquaculture tank production systems. An overview of critical considerations. **SRAC**, USDA, USA, 1998.
- LOSORDO, T. Recirculating aquaculture tank production systems: a review of component options. **Southern Regional Aquaculture Center**, 1999.
- LOVELL, T.; et al. **Nutrition and Feeding of Fish**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989.
- MADARIAGA, S. T.; MARÍN, S. L. Sanitary and environmental conditions of aquaculture sludge. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 1744-1750, 2017.
- MCMILLAN, J. D.; WHEATON, F. W.; HOCHHEIMER, J. N.; SOARES, J. Pumping effect on particle sizes in a recirculating aquaculture system. **Aquacultural Engineering**, v. 27, p. 53-59, 2003.
- MERIAC, A.; EDING, E. H.; SCHRAMA, J.; KAMSTRA, A.; VERRETH, J. A. Dietary carbohydrate composition can change waste production and biofilter load in recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 420, p. 254-261, 2014.
- MERINO, G. E.; PIEDRAHITA, R. H.; CONKLIN, D. E. Settling characteristics of solids settled in a recirculating system for California halibut (*Paralichthys californicus*) culture. **Aquacultural Engineering**, v. 37, p. 79-88, 2007.
- MIRZOYAN, N.; TAL, Y.; GROSS, A. Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 306, p. 1-6, 2010.
- MOJICA B., H.; et al. **Fundamentos de Innovación Tecnológica en Acuicultura Intensiva**. Oficina de Generación del Conocimiento y la Información, Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca **AUNAP**, 265 p., 2018.
- MONGIRDAS, V.; ŽIBIENĖ, G.; ŽIBAS, A. Waste and its characterization in closed recirculating aquaculture systems—a review. **Journal of Water Security**, Aleksandras Stulginskis University, Riga Technical University, v. 3, art. jws2017002, 2017.
- MONTANHINI NETO, R.; OSTRENSKY, A. Nutrient load estimation in the waste of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in cages in tropical climate conditions. **Aquaculture Research**, v. 46, n. 6, p. 1309-1322, 2015.

- MORTENSEN, H. Drum filter efficiency as particle separator in a recirculated system. **Global Aquaculture Advocate**, 01 June, 2000.
- MUGWANYA, M.; et al. Replacement of fish meal with fermented plant proteins in the aquafeed industry: A systematic review and meta-analysis. **Reviews in Aquaculture**, June, p. 1-27, 2022.
- NKHATA, S. G.; et al. Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. **Food Science & Nutrition**, v. 6, n. 8, p. 2446-2458, 2018.
- OPAZO, R.; ORTUZAR, F.; NAVARRETE, P.; ESPEJO, R.; ROMERO, J. Reduction of soybean meal non-starch polysaccharides and α -galactosides by solid-state fermentation using cellulolytic bacteria obtained from different environments, 2012.
- PIEDRAHITA, R. H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v. 226, p. 35-44, 2003.
- ROJAS-SANDOVAL, J. *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow trout). **CABI Compendium**, 2024. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/71813>.
- ROJAS-TIRADO, P.; PEDERSEN, P. B.; VADSTEIN, O.; PEDERSEN, L. F. Changes in microbial water quality in RAS following altered feed loading. **Aquacultural Engineering**, v. 81, p. 80-88, 2018.
- SAMADDAR, A. A review of fish meal replacement with fermented biodegradable organic wastes in aquaculture. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, n. 6, p. 203-208, 2018.
- SHARMA, R.; et al. Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. **Fermentation**, v. 6, n. 4, art. 106, 2020.
- SIDDIK, M. A. B.; et al. Fermentation in aquafeed processing: Achieving sustainability in feeds for global aquaculture production. **Reviews in Aquaculture**, v. 16, n. 3, p. 1244-1265, 2024.
- SONG, L.; et al. Lactic acid production from food waste: Advances in microbial fermentation and separation technologies. **Bioresource Technology**, art. 131635, 2024.
- SUBRAMANIYAM, R.; VIMALA, R. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. **Int J Sci Nat**, v. 3, n. 3, p. 480-486, 2012.
- TACON, A. G.; METIAN, M. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 23, p. 1-10, 2015.
- TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M. **Recirculating Aquaculture**. 2. ed. Ithaca, NY: Cayuga Aqua Ventures, 2010.
- TIMMONS, M. B.; EBLING, J. M.; PIEDRAHITA, R. H. **Acuicultura en Sistemas de Recirculación**. Ed. espanhol. Ithaca, NY: Editorial Cayuga Aqua Venture, LLC, 2009.
- TIMMONS, M. B.; GUERDAT, T.; VINCI, B. J.; et al. **Recirculating Aquaculture**. 4. ed. Ithaca Publishing Company, 481 p., 2018.

- TINGMAN, W.; JIAN, Z.; XIAOSHUAN, Z. Fish product quality evaluation based on temperature monitoring in cold chain. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 37, p. 6146-6151, 2010.
- TORRISSEN, O.; OLSEN, R. E.; TORESEN, R.; HEMRE, G. I.; TACON, A. G.; ASCHE, F.; LALL, S. Atlantic salmon (*Salmo salar*): the “super-chicken” of the sea? **Reviews in Fisheries Science**, v. 19, n. 3, p. 257-278, 2011.
- TURCHINI, G. M.; TRUSHENSKI, J. T.; GLENROSS, B. D. Thoughts for the future of aquaculture nutrition: realigning perspectives to reflect contemporary issues related to judicious use of marine resources in aquafeeds. **North American Journal of Aquaculture**, v. 81, n. 1, p. 13-39, 2019.
- UNGER, J.; BRINKER, A. Feed and treat: what to expect from commercial diets. **Aquacultural Engineering**, v. 53, p. 19-29, 2013b.
- WELKER, T. L.; OVERTURF, K.; BARROWS, F. Development and evaluation of a volumetric quantification method for fecal particle size classification in rainbow trout fed different diets. **North American Journal of Aquaculture**, v. 82, n. 2, p. 159-168, 2020.
- WONG, K. B.; PIEDRAHITA, R. H. Settling velocity characterization of aquacultural solids. **Aquacultural Engineering**, v. 21, n. 4, p. 233-246, 2000.
- WU, G. **Principles of Animal Nutrition**. CRC Press, 772 p., 2018.
- XIAO, X.; et al. Changes in the structural, physicochemical and functional properties and *in vitro* fecal fermentation characteristics of barley dietary fiber fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* dy-1. **Food & Function**, v. 15, n. 8, p. 4276-4291, 2024.
- Y POSTIGO, L. O. C.; et al. Solid-state fermentation for enhancing the nutraceutical content of agrifood by-products: recent advances and its industrial feasibility. **Food Bioscience**, v. 41, art. 100926, 2021.
- ZHANG, X.; SUN, Z.; CAI, J.; et al. Effects of dietary fish meal replacement by fermented moringa (*Moringa oleifera lam.*) leaves on growth performance, nonspecific immunity, and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). **Fish Shellfish Immunology**, v. 102, p. 430-439, 2020.
- ZHANG, J. B.; ZHENG, L. Y.; JIN, P.; ZHANG, D. N.; YU, Z. N. Fishmeal substituted by production of chicken manure conversion with microorganisms and black soldier fly. In: **Insects to Feed the World**, The Netherlands, p. 14-17, 2014.
- ZHANG, X.; SPANJERS, H.; VAN LIER, J. B. Potentials and limitations of biomethane and phosphorus recovery from sludges of brackish/marine aquaculture recirculation systems: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 131, p. 44-54, 2013.
- ZHENG, L.; LI, D.; LI, Z. L.; KANG, L. N.; JIANG, Y. Y.; LIU, X. Y.; WANG, J. H. Effects of *Bacillus* fermentation on the protein microstructure and anti-nutritional factors of soybean meal. **Letters in Applied Microbiology**, v. 65, p. 520-526, 2017.
- ZIMMERMANN, S.; KIESSLING, A.; ZHANG, J. The future of intensive tilapia production and the circular bioeconomy without effluents: biofloc technology, recirculation aquaculture

systems, bio-RAS, partitioned aquaculture systems and integrated multitrophic aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 15, p. 22-31, 2023.

CAPÍTULO II - O USO DE DIETAS FERMENTADAS PODE MELHORAR O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, O PERFIL METABÓLICO E A SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS *Oncorhynchus mykiss* PRODUZIDOS EM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.

RESUMO

Na produção de peixes, a alimentação representa o maior custo operacional que afeta a rentabilidade do piscicultor. A fermentação de rações com bactérias ácido lácticas (BAL) são estratégias que ainda precisam ser avaliadas como alternativa para melhorar o aproveitamento dos nutrientes e a saúde intestinal dos animais. Por tanto, com o objetivo de viabilizar a produção sustentável de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em sistema intensivo com recirculação de água foram avaliadas dietas comerciais com e sem fermentação. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por quatro dietas, três dietas fermentadas durante os tempos: 4, 6 e 9 horas e uma dieta controle sem fermentar. A fermentação das dietas comerciais foi realizada em estufa a 36°C nos tempos preestabelecidos. Para definir o tempo ótimo de fermentação foram coletadas quatro amostras de ração espaçadas a cada 3 horas (tempos: 0, 3, 6 , 9 e 12 horas) para determinar a curva de crescimento e acidificação de BAL. Foram utilizados 240 juvenis de *O. mykiss* (peso médio inicial de $22,2 \pm 0,90$ g distribuídos em 16 tanques circulares com volume útil de 500 litros na densidade de 15 peixes por tanque. Os tanques foram interligados a um sistema de recirculação. No final do experimento (duração de 60 dias) o desempenho foi avaliado e foram utilizados dois animais por tanque para análises microbiológica do crescimento das bactérias ácido lácticas (BAL) no intestino, atividade enzimática, amônia hepática e muscular. O processo de fermentação alterou a composição bromatológica da ração comercial, observou-se que as dietas fermentadas não alteraram significativamente o peso final dos juvenis de *O. mykiss*. No entanto, o consumo de ração diminuiu significativa assim como a conversão alimentar melhorou no grupo de juvenis de *O. mykiss* que consumiram as dietas fermentadas. Após 60 dias a concentração de BAL intestinais foi mais elevada no intestino nos peixes que receberam a dieta fermentada por 3 horas. A atividade enzimática dos juvenis de *O. mykiss* foi alterada pelas dietas fermentadas e amônia hepática diminuiu em resposta às dietas fermentadas. De forma geral, as BAL demonstraram influenciar na composição bromatológica de rações comerciais e subsequentemente no desempenho produtivo, na eficiência alimentar e no metabolismo da amônia hepática da truta

arco-íris, embora os efeitos podem variar dependendo do tempo de fermentação e da composição da ração utilizada.

Palavras-chaves: Probióticos; Alimentos fermentados; Resistência imune; Ácidos orgânicos; Microrganismos; Aquacultura sustentável.

ABSTRACT

In fish production, feeding represents the highest operational cost that affects the profitability of the fish farmer. The fermentation of feeds with lactic acid bacteria (LAB) are strategies that still need to be evaluated as an alternative to improve nutrient utilization and the intestinal health of the animals. Therefore, with the aim of enabling the sustainable production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in an intensive water recirculation system, commercial diets with and without fermentation were evaluated. The experimental design was a completely randomized block design with four treatments and four replications. The treatments consisted of four diets, three fermented diets for periods of 4, 6, and 9 hours, and one control diet without fermentation. The fermentation of the commercial diets was carried out in an incubator at 36°C for the predetermined times. To determine the optimal fermentation time, samples were collected for bromatological, physicochemical analyses, and counting of lactic acid bacteria populations every 12 hours. 240 juveniles of *O. mykiss* (initial average weight of 22.2 ± 0.90 g) were used, which were distributed in 16 circular tanks with a usable volume of 500 liters at a density of 15 fish per tank. The tanks were interconnected to a recirculation system. At the end of the experiment (lasting 60 days), performance was evaluated and two animals per tank were used for microbiological analyses of BAL growth in the intestine, enzymatic activity, hepatic and muscular ammonia. The fermentation process altered the bromatological composition of the commercial feed, it was observed that the fermented diets did not significantly change the final weight of juvenile *O. mykiss*. However, the feed consumption significantly decreased, and the feed conversion improved in the group of juvenile *O. mykiss* that consumed the fermented diets. After 60 days, the concentration of intestinal BAL was higher in the intestines of fish that received the diet fermented for 3 hours. The enzymatic activity of juvenile *O. mykiss* was altered by the fermented diets, and hepatic ammonia decreased in response to the fermented diets. In general, LAB have been shown to influence the bromatological composition of commercial feeds and subsequently the productive performance, feed efficiency, and hepatic ammonia metabolism of rainbow trout, although the effects may vary depending on the fermentation time and the composition of the feed used.

Keywords: Probiotics; Fermented foods; Immune resistance; Organic acids; Microorganisms; Sustainable aquaculture.

1 INTRODUÇÃO

O consumo de pescado tem aumentado devido ao seu valor nutricional e às propriedades funcionais para a saúde (TINGMAN et al., 2010; FERNANDES et al., 2012; TILAMI; SAMPELS, 2017). Entre os peixes nutracêuticos, os salmonídeos de águas frias destacam-se por serem ricos em ômega 3 (KOLANOWSKI, 2021). Apesar de ser um peixe de água doce, a truta arco-íris tem uma concentração de ácidos graxos poliinsaturados próxima à de salmonídeos marinhos (STEFFENS; WIRTH, 2005; USYDUS; SZLINDER-RICHERT, 2012). A proteína do file é de alta digestibilidade e valor biológico superior que animais terrestres. Sendo uma fonte importante de proteína na dieta humana e por sua vez, um alimento de alto valor de mercado que gera divisas na aquicultura global.

Nativa da costa pacífica da América do Norte e do noroeste da Ásia, a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é cultivada mundialmente (HERSHBERGER 1992; ROJAS-SANDOVAL, 2024). Países como Noruega, Chile, Irã e Turquia lideram sua produção em águas frias (FAO, 2022). No Brasil, a truticultura ainda é incipiente, com Minas Gerais como maior produtor nacional, seguido por Santa Catarina, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (IBGE, 2022).

Devido a seu hábito alimentar carnívoro, a truta arco-íris exige rações com alto teor de proteína (45%), por causa de seu limitado suprimento de fontes de energia não proteicas (HARDY; KAUSHIK, 2022). Além disso, seu sistema digestivo é adaptado para processar eficientemente alimentos com alto teor de proteínas (VERDILE et al., 2020; BETIKU et al., 2023). As rações para essa espécie tendem a ter um preço de venda mais elevado devido a sua qualidade nutricional. Geralmente são derivadas de farinha de peixe ou outros ingredientes de origem animal (GLENROSS et al., 2011; TACON; METIAN, 2015; TURCHINI et al., 2019). Esses componentes são mais caros apresentam alta demanda e possuem uma disponibilidade limitada no mercado o que onera o preço final na fabricação de ração para a truta arco-íris e subsequentemente aumenta os custos de produção (GATLIN, 2003; HASAN; NEW, 2013; BARBOSA et al., 2020). Esses custos são agravados pela dependência de insumos como milho e soja, cotados em dólar, tornando a produção menos rentável. Apesar disso, a soja segue sendo mais barata que a farinha de pescado. Com isso, o núcleo proteico de rações comerciais para peixes carnívoros cada vez mais está sendo constituído pelo farelo de soja (ABOWEI; EKUBO, 2011). Contudo, este insumo possui fatores antinutricionais (ANFs) que limitam sua inclusão na ração, além de prejudicar o desempenho e a saúde de peixes (ZHENG et al., 2017; HEUZÉ et al., 2020a; PICOLI et al., 2024). Por outro lado, a criação intensiva de truta arco-íris requer

rações balanceadas para atender às suas necessidades nutricionais (NRC, 2011). No entanto, esta espécie não aproveita integralmente os nutrientes do alimento devido à sua capacidade digestiva fisiológica. Desse modo, os nutrientes em excesso são convertidos em resíduos, se incorporam à biota aquática sem valor econômico (VALENTE et al., 2021). Diante desses desafios, uma das soluções para aproveitar os resíduos ricos em nutrientes seria incorporar uma ou mais espécies de organismos aquáticos com diferentes hábitos alimentares (BOYD et al., 2020) em unidades acopladas ou desacopladas ao cultivo principal de truta arco-íris. Outra opção é otimizar os nutrientes da ração através de processos tecnológicos de fermentação. Esses processos envolvem a inoculação de microrganismos em substratos orgânicos sob condições específicas de umidade, pH e temperatura, permitindo a máxima extração de nutrientes dos alimentos ((BORRÁS-SANDOVAL; TORRES-VIDALES, 2016)).

A fermentação de ingredientes vê ganhando a atenção na aquicultura como uma alternativa sustentável e viável às rações tradicionais à base de farinha de peixe. Os processos de fermentação podem melhorar a qualidade nutricional dos ingredientes da ração, aumentando o teor de proteína, melhorar a digestibilidade e reduzir os fatores antinutricionais (DAWOOD; KOSHIO, 2019; DAS et al., 2021). Além disso, os alimentos fermentados podem melhorar a saúde dos peixes ao promover efeitos benéficos à microbiota intestinal e aumentar a imunidade (DAS et al., 2021; SIDDIK et al., 2023).

Esta abordagem é particularmente valiosa para enfrentar os desafios do impacto ambiental que gera a produção de farinha de peixe sobre os estoques pesqueiros (SIDDIK et al., 2023). Diversas espécies de peixes têm sido beneficiadas com o processo de fermentação, sendo as espécies onívoras as mais favorecidas devido a ampla oferta de ingredientes alternativos de baixo custo que podem ser tratados por métodos de fermentação para otimizar formulações práticas de rações como a tilápia nilótica (AWA et al., 2024; NEVES et al., 2024), carpa (DAS et al., 2021), bagre do canal (YAMAMOTO et al., 2024; PALADINES-PARRALES et al., 2025). De outro lado, o uso da fermentação na confecção de rações para espécies carnívoras é mais desafiante por causa das exigências nutricionais superiores e dos ingredientes mais densos em nutrientes. A maioria de trabalhos com peixes carnívoros que buscam a substituição da proteína animal por ingredientes proteicos de origem vegetal são focados no uso do farelo de soja como opção principal. Nesse sentido, peixes carnívoros como a truta arco íris tem-se beneficiado ao consumir alimentos fermentados com soja com resultados positivos no desempenho e na saúde intestinal (YAMAMOTO et al., 2010; BARNES et al., 2015; CHOI et al., 2020; DAVIES et al., 2021). Outras espécies carnívoras como o *Micropterus*

salmoides, as rações fermentadas promovem menor consumo e melhor conversão (YANG et al., 2023). No entanto, todos esses estudos foram desenvolvidos com ingredientes fermentados para rações. Uma abordagem que ainda não foi explorada é aplicação da ciência da fermentação em rações comerciais convencionais disponíveis no mercado para peixes carnívoros. Por isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do tempo de fermentação dos microrganismos *lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus* sobre a composição bromatológica de ração comercial para truta arco-íris, assim como, avaliar o desempenho produtivo e a saúde intestinal de juvenis de *Oncorhynchus mykiss*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 RAÇÃO COMERCIAL FERMENTADA

Uma ração comercial para juvenis de truta arco íris com 45% de proteína bruta e 4 mm foi adquirida no comércio local da cidade de Lages. A ração foi fermentada através de uma adaptação metodológica de fermentação do farelo de soja de Azarm e Lee (2014). Os meios de cultura de duas cepas utilizadas na fermentação, o *Lactobacillus acidophilus* DMS 21717 Coana®, *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) foram autoclavados (121°C por 15 min) A inoculação das cepas selecionadas foi realizada através da reativação e replicação em tubos de vidro contendo caldo MRS, a 36°C em jarra de anaerobiose. Após crescimento completo, o caldo com as cepas de *Lactobacillus acidophilus* e *Lb rhamnosus* foram centrifugados (10 min a 4000 rpm). Os pellets foram ressuspensos com o auxílio de água mineral esterilizada, para serem inoculados diretamente nas amostras, na concentração de 8 log UFC/g. A ração previamente foi umedecida a um 15% com água mineral estéril. As amostras com as cepas foram misturadas e dispostas em bandejas, mantendo uma altura máxima de dois centímetros de amostra por bandeja. Importante ressaltar que a ração comercial para truta arco-íris inoculada com os dois tipos de bactérias ácido lácticas foi submetida ao processo de fermentação por 12. A fermentação foi conduzida em estufa a 36°C por até 12 horas para determinar o tempo ótimo de fermentação. Terminado o processo de fermentação, as rações foram secas em estufa (36°C) até atingir peso constante e posteriormente mantidas em freezer (-20°C).

2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS RAÇÕES FERMENTADAS

Durante o período de fermentação foram coletadas amostras a cada 3 horas para contagem das populações das bactérias ácido lácticas, assim como também, foi reservada uma fração de amostra para análises bromatológicas posteriores.

2.3. CONTAGEM DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS

Para as avaliações microbiológicas foram coletadas quatro amostras ao longo de um período de 12 horas do material fermentando, no início da incubação (hora zero), 3, 6, 9 e 12 horas. As amostras foram pesadas e homogeneizadas em sacos estéreis usando água peptonada, e posteriormente diluídas serialmente (1:10), 0,1mL foram semeados em placas de ágar MRS, para a contagem de bactérias ácido lácticas. A incubação foi realizada dentro de jarras de anaerobiose em estufa a 36 °C com a placas invertidas e após 12 horas de incubação foram

realizadas contagens totais de unidades formadoras de colônias (UFC). Foi utilizada a técnica de análise de superfície em triplicata. A contagem será realizada em triplicata por UFC/ g.

2.4 ANÁLISES BROMATOLÓGICAS E DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES

Amostras das rações fermentadas foram coletadas para avaliação da composição centesimal de umidade (estufa 105°C), proteína bruta (método de Kjeldhal), lipídeos (método de Soxhlet) e cinzas (incineração em mufla à 650°C), conforme metodologia descrita da AOAC (2000). Tanto as análises bromatológicas como os aminoácidos livres foram determinados de acordo a metodologia seguidas no laboratório de nutrição da Universidad Católica del Norte de Chile (UCN).

2.5 ANIMAIS

Juvenis de truta arco íris, *Oncorhynchus mykiss* foram adquiridos numa piscicultura comercial do interior do Estado de Santa Catarina. Os peixes foram transportados até as instalações experimentais do laboratório de piscicultura da Universidade Estadual de Santa Catarina Campus III de Lages. Em seguida os peixes foram alojados em oito caixas plásticas circulares de 500L, acopladas a um sistema fechado com recirculação de água aerada e filtrada. Após período de adaptação de duas semanas quando atingiram um peso e comprimento médio de $22.2 \pm 0,90$ g e 12 ± 1.6 cm, respectivamente, os animais foram aleatoriamente distribuídos em 16 caixas em uma densidade de estocagem de 15 peixes por caixa (0.66 kg/m^3) totalizando 240 juvenis de truta arco íris.

2.6 SISTEMA DE CULTIVO

Para o desenvolvimento do experimento de desempenho foi adquirido um sistema de recirculação de pequeno porte da firmar Altamar. O sistema estava constituído por 16 caixas de plástico com volume útil de 500 litros. O fluxo de água no sistema de recirculação se acionava por uma bomba centrifuga com variador de velocidade marca sodramar de 1.5 cv com tensão de 220 volts modelo BBVV-150 (Figura 1). Em cada caixa entrava uma vazão de aproximadamente 1.500 L h^{-1} , isto é, a trocava de água era 3 vezes por hora. Isto permitia manter a qualidade da água exigida para os peixes experimentais. A temperatura da água (faixa de 10 a 22.8°C), oxigênio dissolvido (entre 9.5 e 6.1 mg L^{-1}), pH (entre 8.07 a 8.64) e a salinidade (0.86 a 2.18 ppt) foram monitorados diariamente com uma sonda multiparamétricos marca AK88.

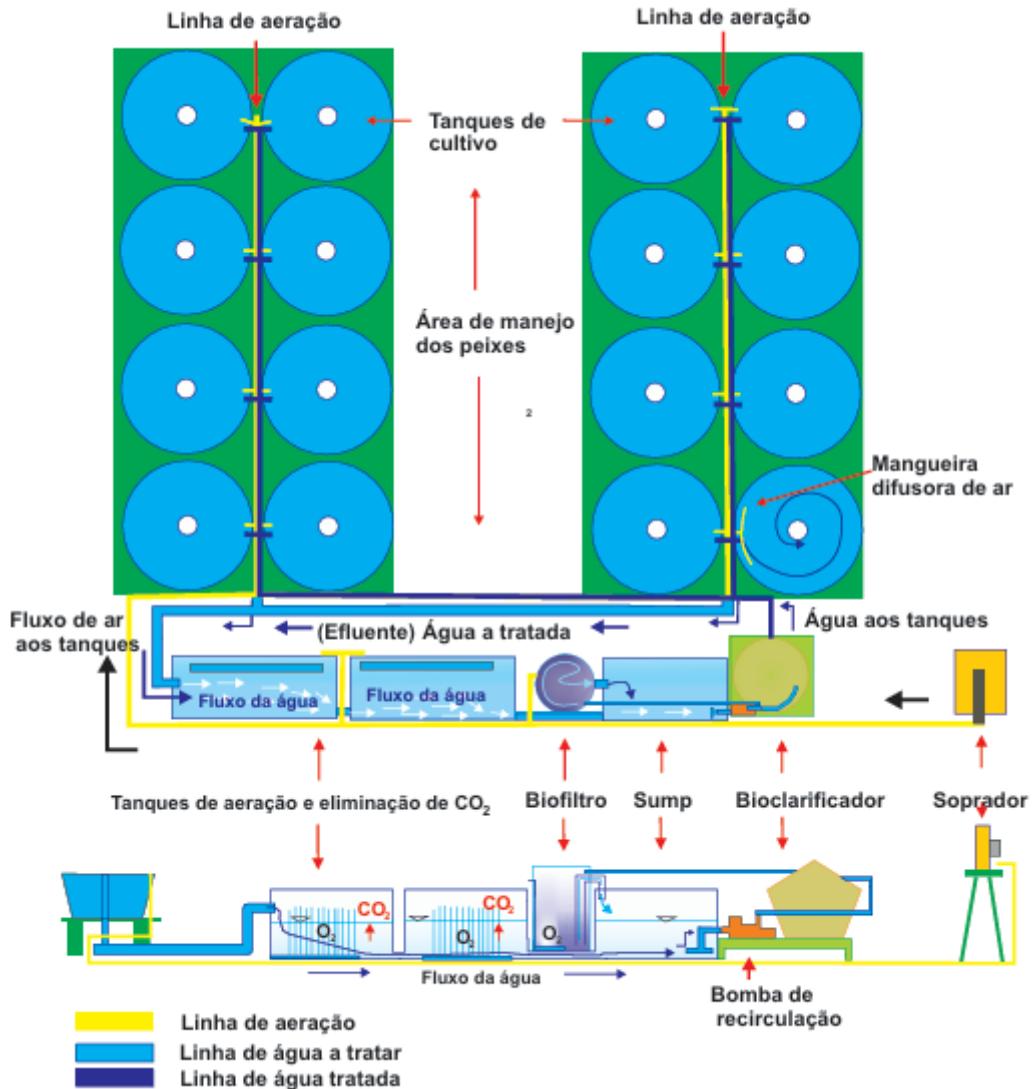


Figura 1 - Plano isométrico (vista aérea e de perfil) dos tanques de cultivo alocados em um sistema de recirculação experimental para o cultivo de juvenis de trucha arco-íris alimentados com dietas fermentadas.

2.7 DESENHO EXPERIMENTAL

Como a infraestrutura do sistema RAS, ainda não é uma área fechada com paredes, unicamente possui uma tela metálica perimétrica que deixa passar a luz do sol e que incidia numa parte das caixas no período da tarde. Desse modo, para controlar a variabilidade presente no experimento e aumentar a precisão dos resultados. Foi utilizado um delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados constituído por quatro tratamentos e quatro repetições. Conformando-se os seguintes tratamentos: T1: dieta comercial sem fermentar; T2: dieta fermentada por 3 horas; T3: dieta fermentada por 6 horas e T4: dieta fermentada durante 9 horas.

Previamente, o tempo de fermentação foi controlado da seguinte maneira: para o tratamento T2, inicialmente se inoculava as BAL na ração, seguidamente se levava a uma estufa a 36°C por 3 horas. Após esse tempo, a ração fermentada retirava-se da estufa e rapidamente era guardada numa geladeira comum afim de paralisar o processo de fermentação, e assim, para os demais tratamentos de 6 e 9 horas de fermentação.

2.8 MANEJO ALIMENTAR

Inicialmente os peixes foram alimentados manualmente próximo a saciedade com ração comercial para truta arco íris (45% proteína bruta, 12% de gordura, 7% de cinzas e 10% de umidade). Como o tamanho original do pellet era de 4 mm de diâmetro foi necessário fragmentar ele para ser consumido por todos os peixes. O experimento teve início, logo após um período de 2 semanas de aclimatação às condições experimentais. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia (15 a 16 horas) segundo o protocolo do setor de piscicultura da UDESC-CAV. Além disso, para prever geração de resíduos de ração foi estimado um tempo de 15 minutos para que os peixes ficarem saciados.

2.9 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Ao final do período experimental de 60 dias, após jejum de 24 horas, oito peixes de cada unidade experimental (caixa) foram coletados e anestesiados com eugenol (óleo de cravo) a uma concentração de 40 mg L⁻¹ (HOSKONE; PIRHONEN, 2004), medidos em régua graduado em mm, e pesados em balança digital com duas casas decimais. Do pool de peixes, dois peixes foram destinados para análises de histomorfometria intestinal, três peixes para contagem de microrganismos intestinais e três exemplares para análises da atividade de enzimas digestivas. Além disso, após anestesia, os peixes foram abatidos, sendo retirados o músculo branco e o fígado, este último foi considerado para quantificar o índice hepatossomático (IHS), a partir da seguinte fórmula: Índice = (peso do tecido/peso corporal) x 100. Tanto o músculo branco como o fígado foram coletados, etiquetados e armazenados em freezer para determinação da amônia tecidual.

Foram realizadas três biometrias no início do experimento, aos 30 dias para fazer ajustes na quantidade de ração ofertada e 60 dias. Para isso, 100% dos peixes de cada tanque foram mantidos em jejum por 24 h, anestesiados com eugenol (40 mg l⁻¹) e pesados individualmente. O desempenho produtivo foi calculado com base nos seguintes parâmetros: ganho de peso (GP, g = peso médio final – peso médio inicial), taxa de crescimento específico (TCE,% dia⁻¹ =

[(peso médio final – peso médio inicial) / experimental período] * 100), conversão alimentar aparente (CA = consumo de ração / ganho de peso total), Índice hepato somático (IHS)= (Peso fígado)/(Peso total)*100 e taxa de sobrevivência (S, % = [total de animais no final / total de animais no início] * 100).

No final do período experimental, após a pesagem, oito animais de cada unidade experimental foram anestesiados e depois submetidos à eutanásia por secção medular para coleta dos materiais biológicos. Serão utilizados três animais por unidade experimental para cada uma das análises descritas abaixo.

2.10 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS

Os intestinos foram removidos, pesados, triturados, homogeneizados e diluídos serialmente (1:10) em tubos de ensaio contendo solução salina estéril (0,65%). Em seguida, os homogenatos intestinais foram semeados em placas de Petri com ágar MRS (Man Rogosa Sharpe), ágar TSA (ágar triptona de soja) e ágar TCBS para quantificar bactérias ácido lácticas, heterotróficas totais e vibriónáceas, respectivamente. Os homogenatos intestinais semeados nas placas de Petri foram incubados em estufa a 35°C. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas após 24 h de incubação nos meios TSA e TCBS e após 48 h no meio MRS.

2.11 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DIGESTIVA

Após a eutanásia, os peixes foram imediatamente colocados em gelo e dissecados para separar o intestino. Os intestinos foram extraídos por meio de uma incisão longitudinal no ventre e imediatamente congelados a -80°C até o momento das análises. Para as análises, os intestinos foram cortados em pequenos pedaços e adicionados em tubos eppendorfs de 2 ml onde foram diluídos em água destilada gelada (1:10, p/v). Os eppendorfs foram submetidos a banhos ultrassônicos durante 5 min (5 vezes de 1 min com intervalos de 1 min em banho de gelo) para rompimento das células intestinais e liberação das enzimas digestivas. Posteriormente, os homogenatos intestinais foram centrifugados a 7000 rpm por 10 min e os sobrenadantes foram separados e utilizados para determinar a atividade das enzimas digestivas.

A atividade da amilase foi medida a $\lambda = 580$ nm usando amido solúvel dissolvido (0,3%) em solução tampão de Na_2HPO_4 (pH 7,4) como substrato (MÉTAIS; BIETH, 1968). Uma unidade de atividade da amilase (U) foi definida como mg de amido hidrolisado em 30 min a 37 °C por ml de extrato enzimático. A atividade da protease alcalina total foi determinada após 30 min de incubação a 25 °C, utilizando caseína a 0,5% (p/v) como substrato em Tris-HCl 50

mM (pH 8.0). A reação foi parada com ácido tricloroacético (20% p/v), o extrato foi centrifugado (5000 rpm, 20 min) e a absorbância do sobrenadante foi medida a $\lambda = 280$ nm à temperatura ambiente. Uma unidade de atividade da protease (U) por ml foi definida como 1 μ mol de caseína hidrolisada por min por ml de extrato enzimático (GARCÍA-CARREÑO; HAARD, 1993). A atividade da lipase foi medida a $\lambda = 410$ nm usando *p*-nitrofenil laurato (3mM) em propanol como substrato (BRABCOVÁ et al., 2013). A reação foi paralisada pela adição de acetona (Pastore et al., 2003). Uma unidade de atividade da lipase (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para a hidrolise de 1 μ mol de *p*-nitrofenil laurato em 20 min a 25 °C por ml de extrato enzimático.

2.12 DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA HEPÁTICA E MUSCULAR

Inicialmente, amostras de extrato neutro de tecido (músculo branco, e fígado) foram desproteinizadas em 1mL de ácido tricloroacético (TCA 20%), processadas em homogeneizador mecânico e centrifugadas (centrifuga refrigerada Loccus modelo L3024) a 12.000 x g por 3 minutos a 4°C. Alíquotas do sobrenadante em um volume apropriado foram transferidas para tubos de eppendorf e completadas com água destilada para um volume final de 2 ml ao qual se adicionava 0,5 mL de reativo de Nessler (Metaquimica), com incubação a temperatura ambiente por 20 minutos. Seguidamente procedeu-se a leitura das amostras em espectrofotômetro (marca thermoscientific- Genesys 150) em uma absorbância a 420 nm, comparada com padrão de concentração conhecida (100 nmoles) de cloreto de amônia (NH₄Cl) (GENTZKOW; MASEN, 1942). Previamente foi necessário realizar uma curva de calibração de amônia com o reativo nessler e uma padronização com os tecidos, músculo branco e fígado. A concentração final de amônia foi expressa em μ moles por mg de tecido.

2.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de cada tratamento foram submetidos a análise de variância (ANOVA) two way e as diferenças significativas entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Valores em porcentagem foram transformados. As análises estatísticas foram executadas utilizando o programa BioEstat, versão 1.3.

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA RAÇÃO FERMENTADA.

De acordo com a figura 2A, a fase exponencial (Log) foi atingida durante 3 horas de fermentação, logo após 6 horas (fase estacionária) as bactérias *Lb acidophilus e rhamnosus* (BAL) alcançaram sua concentração máxima celular. No entanto, a produção máxima atingida pelas BAL foi após 6, 65 horas segundo a equação quadrática da figura 9A. Após esse tempo os microrganismos entraram em fase de declínio.

Por outro lado, na figura 2-B, se observou uma redução no pH durante o processo da fermentação, o qual decai de 6,03 para 5,87 após 9 horas de fermentação. O que indica a geração de ácido lático como subproduto tanto da atividade metabólica das BAL sobre o substrato (ração fermentada) como de sua multiplicação.

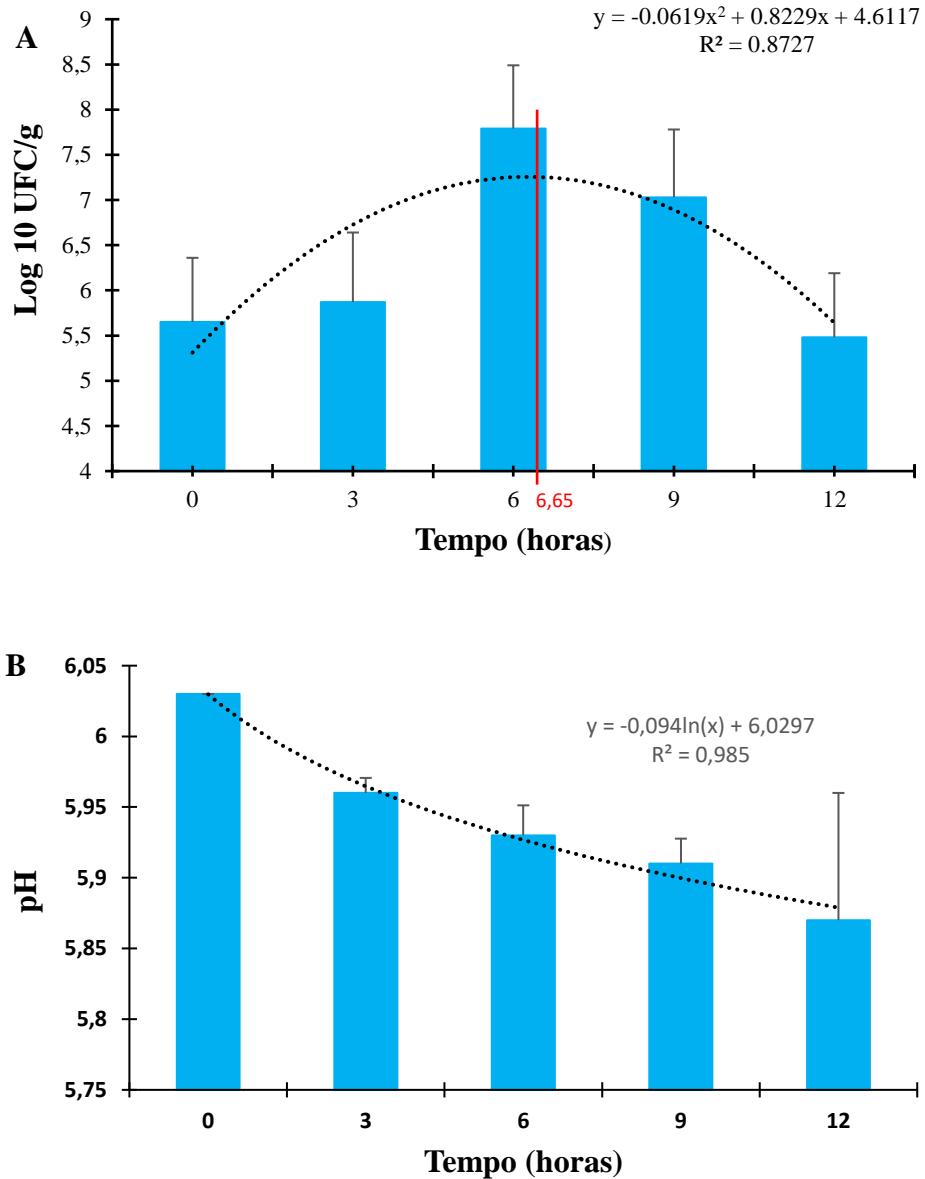


Figura 2 – A) - Curva cinética durante a fermentação de ração com 15% umidade com *Lb. Acidophilus* + *Lb. Rhamnosus* durante 12 horas. B) valores de pH durante a cinética de fermentação com *Lb. Acidophilus* + *Lb. Rhamnosus*.

3.2 COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DAS DIETAS FERMENTADAS.

O processo de fermentação afetou a composição bromatológica das dietas experimentais (Tabela 1). Os teores de proteína bruta (PB) diminuíram ($P<0,05$) nas dietas fermentadas em relação à dieta controle. No entanto, os valores de PB entre as dietas fermentadas foram semelhantes ($P>0,05$). Assim mesmo, os microrganismos inoculados também diminuíram ($P<0,05$) o conteúdo de minerais das dietas em comparação à dieta controle sem fermentar. Entre as dietas experimentais, os menores valores de minerais foram observados na dieta fermentada durante 9 horas e os maiores valores na dieta controle ($P<0,05$).

Uma relação inversa entre as frações da fibra insolúvel e da fibra solúvel foi evidenciada na composição centesimal das dietas experimentais. Sendo que, à medida que o tempo de fermentação nas dietas aumentou, os valores na fibra solúvel foram mais elevados, em detrimento de menores valores na fibra insolúvel ($P<0,05$). Na fração de fibra insolúvel, a dieta controle apresentou os maiores valores, enquanto as dietas fermentadas apresentaram valores decrescentes ($P<0,05$). Com respeito à fração de fibra solúvel, os menores valores foram observados nas dietas controle e na dieta fermentada 9 horas, que não diferiram entre si ($P>0,05$). Ao passo que, os maiores conteúdos de fibra solúvel foram apresentados pelas dietas fermentadas por 3 e 6 horas significativamente superiores às demais dietas experimentais ($P>0,05$).

Tabela 1. Composição centesimal das dietas fermentadas utilizadas na alimentação de juvenis de truta arco íris criados em sistema com recirculação de água. (Média¹ ± Desvpad, número de replicas: 3).

Variável (%)	Dietas Experimentais			
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas
Matéria seca	94,58±0,09	95,10±0,05	94,77±0,10	93,61±0,07
Extrato Etéreo	9,96±0,40	10,13±0,36	10,34±0,28	10,74±0,09
Proteína Bruta	49,84±0,11a	48,42±0,17bcd	48,81±0,19cd	48,56±0,34d
Material				
Mineral	10,24±0,01a	10,03±0,01ab	10,02±0,04ab	10,02±0,03b
Fibra Insolúvel	2,27±0,08a	2,06±0,16abc	1,88±0,06bc	1,51±0,04c
Fibra Solúvel	27,70±1,51bc	32,91±0,52a	32,90±0,89a	26,89±2,16c
Relação ED/PB	8,33	8,06	8,13	8,60
kcal/g peso seco	4,92	4,65	4,72	4,94

¹Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, são significativamente diferentes ($p<0,05$) pelo teste de Tukey; ²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas. ED: (Energia Digestível). Foi calculada de acordo com os valores fisiológicos padrões de energia digestível para peixes: proteína 4,54; lipídios 8,6 e carboidratos 3,58 (DE SILVA; ANDERSON, 1995).

3.3 AMINOÁCIDOS LIVRES DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

Devido ao elevado custo para a análise de aminoácidos livres da dieta experimental, apresenta-se, na tabela dois, uma análise descritiva dos dados observados. Nota-se que os aminoácidos essenciais, como treonina, arginina, valina e isoleucina possuem teores superiores em comparação com a dieta controle

Tabela 2. Perfil de aminoácidos livres das dietas fermentadas utilizadas na alimentação de juvenis de truta arco íris criados em sistema com recirculação de água. (g kg⁻¹ matéria seca).

Aminoácido	Dietas Experimentais			
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas
Aspartato	10.02±0.13	2.49±0.00	9.96±0.00	8.65±1.24
Glutamato	nd	37.15±1.28	nd	46.41±1.41
Asparagina	24.05±1.15	19.67±0.56	21.27±1.04	23.27±1.11
Serina	11.87±0.15	11.36±0.14	4.86±0.32	8.46±0.56
Glutamina	2.54±0.00	2.74±0.25	nd	2.99±0.27
Histidina	nd	nd	nd	nd
Glicina	nd	nd	nd	nd
Treonina	42.93±3.90	40.85±2.55	43.41±0.01	56.74±2.27
Arginina	42.57±2.84	41.78±2.79	46.84±7.84	77.84±1.81
Alanina	204.21±3.81	201.65±2.49	180.37±33.73	160.54±1.66
Tirosina	43.13±1.31	43.61±5.13	44.15±8.23	41.62±3.47
Cistina	4.90±0.00	4.81±0.00	6.74±1.94	nd
Valina	nd	11.28±0.59	15.75±0.87	53.83±1.06
Metionina	856.44±2.31	732.89±10.19	774.63±40.61	768.07±8.83
Triptofano	nd	nd	nd	nd
Fenilalanina	44.73±1.09	43.89±1.07	27.13±5.72	9.79±0
Isoleucina	114.54±2.73	nd	126.29±16.55	146.82±1.65
Leucina	251.45±2.73	222.63±2.68	218.36±1.09	245.53±3.94
Lisina	611.13±1.09	494.98±3.21	557.28±7.19	533.78±2.09

Limite de quantificação (LQ): 2 ± 100 g AA/kg de matéria seca. nd: não detectado.

3.4 RESPOSTA DE DESEMPENHO DOS JUVENIS DE TRUTA ARCO-ÍRIS ÀS DIETAS FERMENTADAS

Após um período experimental de 60 dias, os juvenis de truta arco-íris não apresentaram diferenças significativas em seu peso final ($P>0,05$). Conforme observado na tabela 3, as dietas fermentadas não causaram alterações no crescimento dos animais. Apesar do grupo de peixes que consumiu a dieta fermentada 3 horas, ter atingido o maior peso entre todos os tratamentos, essa diferença não foi estatisticamente diferente. Portanto, o peso final dos peixes foi semelhante entre seus respectivos tratamentos.

O processo de fermentação promoveu menor consumo diário de alimento ($P<0,05$) nos grupos de peixes que ingeriram as dietas fermentadas em relação ao grupo de peixes da dieta controle. De igual forma, as melhores conversões de alimento foram obtidas nos peixes que consumiram as dietas fermentadas por 3 e 6 horas ($P<0,05$) e as conversões alimentares piores foram observadas nos peixes alimentados pelas dietas controle e dieta fermentada de 9 horas (Tabla 3).

Tabela 3. Parâmetros de desempenho da produção de juvenis de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* alimentados com dietas fermentadas (média Desvpad)¹ em um sistema com recirculação de água.

Variáveis	Tratamentos				
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas	CV
Peso inicial (Pi – g peixe ⁻¹)	21.88±1.03	22.08±0.33	22.12±1.28	22.79±0.76	0,01
Peso final (Pf – g peixe ⁻¹)	60.52±6.07	65.07±3.85	62.16±3.42	58.54±3.92	0,04
Aumento de peso diário (g)	0.64±0.0	0.72±0.07	0.67±0.05	0.60±0.07	0,07
Consumo diário de alimento (g)	1.02±0.08a	0.91±0.05b	0.89±0.03b	0.87±0.06b	0,07
Conversão Alimentar Aparente (CAA)	1.56±0.06a	1.28±0.09c	1.33±0.10bc	1.49±0.07ab	0,09
Taxa de crescimento específico (%)	1.44±0.58	1.80±0.12	1.72±0.11	1.57±0.15	0,09
IHS	2,07±0,28	2,10±0,26	2,14±0,61	2,19±0,23	0,02
Sobrevivência (%)	98,3	98,3	98,3	96,6	

Ganho de peso diário (GPD) = (Pf – Pi) / t; consumo alimento diário (CAD) = consumo alimento / ciclo de produção; conversão alimentar aparente (CAA) = consumo de ração/aumento de peso; taxa de crescimento específico (%): coeficiente que mede o aumento do peixe em porcentagem por dia (TCE) = [(Ln Pf- LnPi) x 100]/t; Indice Hepato Somático (IHS)= (Peso fígado)/(Peso total)*100; Sobrevivência (%) = número de peixes vivos no final do ciclo de produção/número de peixes no início do ciclo de produção) x 100. ¹Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, são significativamente diferentes (p<0,05) pelo teste de Tukey. ²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas.

3.5 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS

No final do período experimental de 60 dias, procedeu-se a realizar a contagem de microrganismos do trato intestinal dos juvenis de truta arco íris alimentados com as diferentes dietas experimentais. Observou-se que a concentração de bactérias ácido lácticas (BAL) foi maior nos juvenis de truta arco íris alimentados com as dietas fermentada 3 e 9 horas ($P<0,05$) (Tabela 4). Por outro lado, a contagem de bactérias heterotróficas não diferiu entre as dietas experimentais e a contagem de microrganismos patogênicos da família *Vibrionaceae* não foi detectada.

Tabela 4. Contagem de microrganismos intestinais, bactérias heterotróficas, bactérias ácido lácticas (BAL) e *Vibrio Sp.*, de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas (UFC Log 10 g⁻¹).

Meio de Cultura para	Dietas Experimentais				
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas	CV
Bactérias Heterotróficas	7,1733±0,6804 a	7,4289±0,3216 a	7,4443±0,3345a	6,8761±0,8146 a	0,03 6
BAL	5,0330±0,1367 b	5,3158±0,0872 a	5,1801±0,1020a b	5,2508±0,1742 a	0,02 3

²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas

3.6. ATIVIDADE ENZIMÁTICA INTESTINAL

A fermentação das dietas ocasionou um aumento significativo na atividade da lipase ($P<0,05$). A atividade das demais enzimas digestivas não foi alterada (Tabela 5).

Tabela 5. Atividade enzimática digestiva de juvenis de trucha arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* alimentados com dietas fermentadas após 60 dias de serem criados em um sistema com recirculação de água. (Média¹ ± Desvpad -U g tecido⁻¹)

Enzima digestiva	Dieta Experimental				
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas	CV
Amilase	1,01±0,41	1,38±1,15	1,33±0,86	1,02±0,33	0,16
Lipase	2,53±0,29c	3,40±0,17b	4,06±0,38a	3,55±0,23ab	0,18
Protease	0,14±0,02	0,16±0,04	0,19±0,05	0,17±0,1a	0,12

¹Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, são significativamente diferentes ($p<0,05$) pelo teste de Tukey; ²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas.

3.7 DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA EM FÍGADO E MUSCULO BRANCO

Juvenis de truta arco íris alimentados com as dietas fermentadas apresentaram redução ($P< 0,05$) nas concentrações hepáticas de amônia (Figura 10). A redução foi mais evidente nas dietas fermentadas por 3 e 6 horas. Não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo de peixes que consumiram a dieta controle e a dieta fermentada por 9 horas ($P>0,05$). Por outro lado, as concentrações de amônia no músculo branco não apresentaram diferenças estatísticas.

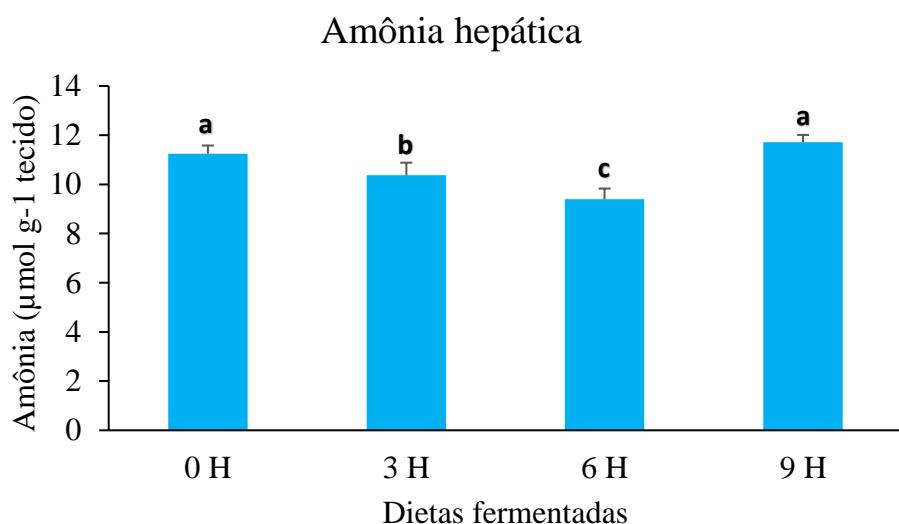


Figura 3- Concentrações hepáticas de amônia em juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentadas em sistema com recirculação de água.

4 DISCUSSÃO

4.1 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

As dietas fermentadas avaliadas não afetaram o desempenho de crescimento das trutas. Não obstante, entre as dietas fermentadas, a D.F 3 horas e D.F 6 horas melhoraram significativamente não somente a conversão alimentar aparente (CAA), mas também o consumo de ração nas trutas. Isto é, o alimento fermentado entregado aos peixes promoveu menor consumo alimentar e favoreceu positivamente a conversão do alimento dos peixes. O que indica que à incorporação das bactérias probióticas em ração comercial, melhora a eficiência alimentar da truta arco-íris. Muito provavelmente durante o processo de fermentação, as bactérias ácido lácticas (BAL) aumentaram a biodisponibilidade de nutrientes da dieta.

Estas respostas de menor consumo de ração fermentada também foram evidenciadas por Yang et al. (2023) em um peixe carnívoro de água doce, (*Micropterus salmonides*) que foi alimentado com ração fermentada sem chegar a afeitar seu crescimento, assim mesmo a eficiência alimentar dos peixes que consumiram o alimento fermentado foi superior ao peixe que consumiram a ração controle sem fermentar. Uns dos benefícios da fermentação é hidrolise da proteína em pequenos peptídeos o que contribui para melhorar sua absorção pelos peixes (SIDDIK et al., 2024).

Uma menor conversão aparente do alimento (CAA) é um indicador primário de eficiência em sistemas intensivos, onde o alimento balanceado é a única fonte de nutrientes para o crescimento dos peixes (DAVIS; HARDY, 2022). Tanto menor CAA como menor consumo de ração indicam menor impacto ambiental, ou seja, há uma diminuição na carga de matéria orgânica (M.O) via efluentes, o que por sua vez, reduz a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), consequentemente, protege-se a qualidade da água da unidade de produção dos peixes (TABRET et al., 2024). Segundo Kelly e Karpinski (1994); Cho e Bureau (2001), a M.O na forma de sólidos suspensos e sólidos dissolvidos afeta o nível de oxigênio da água devido ao fato de que a concentração desse gás pode diminuir significativamente em resposta à oxidação da M.O pelas bactérias heterotróficas (ROJAS-TIRADO et al., 2018), o que cria condições anóxicas severas para a vida aquática. Além disso, durante o processo de biodegradação da M.O pelas bactérias, há um aumento na concentração de dióxido de carbono (CO₂) que é nocivo para os peixes e pode causar uma diminuição no pH da água quando esta apresenta baixa alcalinidade. O efeito sinérgico negativo da M.O sobre as variáveis de qualidade da água, como

o oxigênio dissolvido e o dióxido de carbono, cria condições inadequadas para os organismos aquáticos cultivados em condições confinadas.

Contudo, de um ponto de vista positivo, uma melhor conversão de alimento aliada a um menor consumo de alimento gera menor quantidade de M.O em tanques de cultivo, o que se traduz em uma maior disponibilidade de oxigênio dissolvido que permitiria uma biomassa maior, ou seja, aumenta-se a capacidade de suporte do sistema aquícola. Por sua vez, um menor consumo de alimento por parte dos peixes representaria um menor gasto na aquisição de alimento, o que melhoraria o lucro para o produtor. Dado que a alimentação pode representar mais de 60% dos custos totais na produção de peixes, qualquer estratégia para diminuir o consumo de alimento sem que se afete a produtividade da atividade aquícola é um fator crítico a considerar (GATLIN, 2003; HASAN; NEW, 2013). Essas evidências indicam os efeitos benéficos que podem ter as rações comerciais quando submetidas a um processo de fermentação como uma alternativa valiosa, tanto para o desempenho dos peixes quanto para uma aquicultura mais sustentável e menos impactante ao meio ambiente. Em trabalho conduzido com tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) por Neves et al (2024) observaram que o consumo de rações vegetais fermentadas com *Lb Acidophilus* não diferiu de dietas contendo farinha de peixe, o que indica que a fermentação pode melhorar a palatabilidade de rações a base de ingredientes de origem vegetal, no entanto, a CAA das dietas fermentadas foi inferior às dietas controle, segundo os autores, o processo de fermentação provavelmente não eliminou os fatores antinutricionais o que resultou em menor aproveitamento das dietas vegetais fermentadas por parte da tilápia nilótica.

Por outro lado, a utilização de dietas fermentadas para juvenis de truta arco íris promoveram uma melhor eficiência na deposição de proteína devido a menor catabolismo da proteína como observado pelas menores concentrações de amônia hepática indicando que o peixe provavelmente excretou menor quantidade de resíduos nitrogenados ao ambiente. De acordo com Miranda et al. (2021) a incorporação de probióticos (BAL) na alimentação animal traz efeitos benéficos como incrementar a absorção e digestibilidade de nutrientes e diminuir a excreção de ureia e amônia. Em concordância com estas observações, o uso de rações fermentadas para alevinos de tilápia nilótica melhora a qualidade da água devido ao controle nos níveis da amônia e baixos níveis de nitrito (NEVES et al., 2024). De fato, o processo de fermentação no alimento para peixes reduz possíveis impactos aos ecossistemas aquáticos que possam ser causados por rações com alto teor de proteína bruta.

Portanto, estratégias na fabricação de rações que promovam maior digestibilidade de seus nutrientes como a proteína e minerais e que contribuam a diminuir as descargas de nitrogênio e fósforo são desejadas e valoradas. Nesse aspecto, a abordagem do presente estudo foi utilizar dietas fermentadas para melhorar o aproveitamento dos nutrientes da dieta pelos peixes. O estudo demonstrou que peixes que consumem dietas fermentadas produzem menos amônia hepática que dietas convencionais e consequentemente, a excreção de amônia ao ambiente aquático é menor.

Com base nos resultados obtidos da análise bromatológica das dietas fermentadas, pôde-se observar que os microrganismos inoculados ocasionaram mudanças no perfil de fibra das dietas. À medida que o tempo de fermentação aumentou de 3 a 9 horas, a concentração de fibra insolúvel diminuiu e a fibra solúvel aumentou em relação à dieta controle. Essas mudanças podem modular o consumo de alimento nos animais a níveis onde pode haver um estímulo ou inibição na ingestão de alimento (apetite, saciedade). Segundo Warner (1981), um aumento na quantidade de fibra insolúvel na alimentação pode causar uma redução no tempo de trânsito do quimo através do trato gastrointestinal. Isso poderia ser consequência da estimulação física da fibra insolúvel sobre as paredes do intestino, que costuma incrementar a motilidade e a velocidade de trânsito. A elevação dos níveis deste tipo de fibra também pode causar uma diminuição da energia na dieta, o que leva a um aumento compensatório no consumo para alcançar os níveis energéticos necessários para o crescimento, desenvolvimento e produção (WARPECHOWSKI, 1996). Enquanto um aumento da fibra solúvel no alimento confere uma maior viscosidade, o que ocasiona um trânsito mais lento do quimo pelo tubo gastrointestinal, ou seja, retarda o esvaziamento gástrico, há um maior tempo de permanência do bolo alimentar, o que confere um aumento na sensação de saciedade. Provavelmente, as dietas fermentadas, devido ao seu maior conteúdo em fibra solúvel, induziram nos peixes uma maior sensação de saciedade e ocasionaram uma diminuição no consumo de alimento, como foi observado neste estudo.

Além de aumentar a fibra solúvel do alimento, os microrganismos que atuam no processo de fermentação do alimento transformam compostos complexos em substâncias com propriedades funcionais (ABEDIN et al., 2023). A fermentação ajuda a melhorar a palatabilidade, reduz os fatores antinutricionais (FAN) de ingredientes de origem vegetal (OJOKOH; YIMIN, 2011; MUKHERJEE et al., 2016; DAWOOD; KOSHIO, 2020). Ao respeito, uma boa parte do núcleo proteico da ração comercial para trutas utilizado no presente estudo está constituída por ingredientes a base de subprodutos da soja que podem interferir nas

respostas de desempenho zootécnico dos peixes. Sabe-se que os ingredientes de origem vegetal apresentam uma grande variedade de compostos químicos que diminuem sua inclusão em dietas práticas para aquicultura por interferirem na digestão, absorção, metabolismo e assimilação de nutrientes, além de interferirem no consumo e na conversão do alimento (DAWOOD; KOSHIO, 2020; NTE et al., 2023).

4.2 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS

A inoculação das bactérias probióticas (*Lb. Acidophilus* + *Lb. Rhamnosus*) em ração comercial convencional para truta arco-íris diferiu na contagem das BAL da mesma ração sem os probióticos. Embora o trato gastrointestinal de peixes que consumem ração comercial sem probióticos possa ser naturalmente colonizado por BAL, a quantidade dessas bactérias foi significativamente menor que a ração do que na ração que foi efetivamente inoculada com BAL. Esta evidencia confirma que as bactérias probióticas conseguiram passar, sobreviver e tolerar as condições ambientais acidas do estomago, colonizar e crescer no TGI da truta. O probiótico deve chegar e permanecer vivo, resistir o pH gástrico, as enzimas digestivas e a ação detergente e inibidora dos sais biliares (ANEE et al., 2021). Um aumento na contagem das bactérias intestinais inoculadas sinaliza condições de saúde (EGERTO et al., 2018) e favorece altas taxas de sobrevivência como foi evidenciado por Neves et al. (2024) em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) que foram alimentados com rações compostas por fontes proteicas vegetais fermentadas durante 6 horas. De igual forma, nas trutas que receberam as dietas fermentadas não foi detectada a presença de *Vibrios* o que traz benefícios para a saúde do intestino dos peixes. Estas evidencias foram também corroboradas no trabalho de Neves et al. (2024) que observaram uma redução significativa na contagem de *Vibrios* tanto na ração fermentada como na água. No estudo com as trutas, o processo de fermentação governado pelas bactérias probióticas ácido lácticas muito provavelmente neutralizaram o crescimento desse tipo de microrganismos por mecanismos de exclusão competitiva (ALP; KULEAŞAN, 2020) o que reforçaria a resistência a organismos patogênicos por parte das BAL e aumentar assim, o sistema imune e a resiliência das trutas a desafios.

4.3. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DIGESTIVA

A atividade das enzimas digestivas do trato gastrointestinal (TGI) de juvenis da truta arco-íris foi afetada pela fermentação das dietas experimentais. A inoculação de microrganismos especializados em promover processos de fermentação podem propiciar aumento da atividade do TGI que sinaliza melhor saúde intestinal (RAHIMNEJAD, et al., 2021;

(WATTANAKUL, et al, 2021). Entre as enzimas avaliadas, a lipase foi a única que apresentou aumento significativo na sua atividade mesmo em rações comerciais já prontas para truta arco-íris submetidas ao processo de fermentação. Um estudo conduzido por Mohammadian et al. (2019) envolvendo a inclusão de probióticos como *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* na dieta da truta arco-íris demonstrou melhorar as atividades das enzimas digestivas, incluindo a lipase. Essa melhoria na atividade enzimática estava associada a um melhor desempenho de crescimento e respostas imunológicas nos peixes. Embora no presente estudo não foram avaliadas as respostas do sistema imune nos juvenis de truta arco-íris muito provavelmente as BAL tenham aumentado a resistência imunológica dos peixes. Esta hipótese foi confirmada em um trabalho conduzido por Hajirezaee et al. (2023) onde adicionaram ácido rosmariníco e a bactéria probiótica, *Lactobacillus rhamnosus* em dietas para truta arco iris. O grupo de peixes que consumiram a dieta apresentaram uma maior atividade da lipase quando comparada ao grupo controle. A combinação destes dois suplementos também melhorou o desempenho de crescimento e a resistência ao estresse por amônia, indicando um efeito sinérgico destes suplementos na atividade das enzimas digestivas e na saúde em geral dos peixes.

Um aumento na atividade das enzimas digestivas além de contribuir no aumento do desempenho podem também melhorar a eficiência no aproveitamento do alimento como foi evidenciado no presente estudo onde as dietas fermentadas consumidas pelas trutas apresentaram melhor conversão alimentar e desse modo, beneficiaram-se mais que as trutas alimentadas com a dieta controle. Nesse sentido, um estudo realizado com bactérias probióticas isoladas do trato gastrointestinal da truta, como *Aeromonas sp.*, *Bacillus sp.* e *Citrobacter braakii*, demonstrou que esses microrganismos aumentam a atividade lipásica quando incluídas na dieta. Esse aperfeiçoamento da dieta contribuiu para melhor desempenho de crescimento e conversão alimentar superior em alevinos de truta arco-íris (KOCA et al., 2015).

Por isso, a inclusão de microrganismos probióticos em dietas comerciais para peixes como *Lb. Acidophilus* + *Lb. Rhamnosus* podem modular significativamente a atividade de enzimas digestivas como a lipase em juvenis de truta arco-íris contribuindo para melhorar o desempenho e a saúde intestinal. O significado potencial destes resultados reflexo da intervenção de dietas prontas para peixes de aquacultura se traduz em melhorar a eficiência do processo digestivo. Num cenário atual de mudanças climáticas que estão ocasionando flutuações dos parâmetros da qualidade da água, principalmente a temperatura e o teor do

oxigênio dissolvido, a inovação em rações fermentadas pode influenciar numa nutrição mais robusta que ajude à truta arco-íris a ser mais resiliente.

4.4 AMÔNIA HEPÁTICA E MUSCULAR

Os juvenis de truta arco íris que foram alimentados com as dietas fermentadas por 3 e 6 horas apresentaram menores teores hepáticos de amônia e consequentemente provavelmente houve menor excreção de NH₃ ao ambiente aquático. A literatura científica reporta que os efeitos benéficos dos microrganismos probióticos recaem principalmente na melhoria do valor nutricional do alimento e sua digestibilidade (MIRANDA et al., 2021). Todavia, os benefícios dos microrganismos fermentadores também se estendem na diminuição da excreção de amônia como verificado neste estudo. Como as taxas de excreção de amônia estão diretamente relacionadas ao nível dietético de ingestão de nitrogênio e proteína em peixes de cultivo (HARDY; KAUSHIK, 2021). Assim, rações para peixes carnívoros como a truta arco-íris apresentam alto teor de proteína bruta (45% PB), então é de esperar-se que os peixes excretem amônia proporcional ao teor de proteína que consumem. No entanto, muito provavelmente durante o processo de fermentação, as bactérias ácido lácticas utilizaram parte dessa proteína em seu crescimento. Como foi verificado nos resultados da análise bromatológica das rações fermentadas que apresentaram menores teores de PB que a ração controle. O que sugere as BAL contribuíram na diminuição na concentração de NH₃ hepática neste estudo. De fato, em um estudo avaliando o efeito de ração fermentada inoculada com três cepas de BAL sobre as respostas de crescimento e a capacidade antioxidante de um peixe carnívoro de água doce, o largemouth Bass (*Micropterus salmoides*) foi observada uma diminuição da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST) relacionadas com a desaminação de aminoácidos e produção de amônia hepática, o que indica que a ração fermentada melhora a saúde do fígado dos peixes.

Por conseguinte, as dietas fermentadas podem reduzir efetivamente a excreção de amônia nos juvenis de truta arco-íris e por sua vez, contribuir para a melhoria da qualidade da água, da saúde dos peixes. A adopção de rações fermentadas entre os produtores pode levar a práticas mais sustentáveis e ambientalmente amigáveis.

5 CONCLUSÕES

A composição bromatológica de ração comercial para juvenis de truta arco-íris foi alterada pelo processo de fermentação com *Lactobacillus Acidophilus* e *Lacticaseibacillus rhamnosus*. Os teores de proteína bruta diminuíram, assim como, o material mineral. Ao passo que a fração de fibra insolúvel diminuiu com o tempo de fermentação. Enquanto a porção da fibra solúvel aumentou até 6 horas de fermentação.

Em relação ao desempenho zootécnico, o peso final dos juvenis de truta arco-íris não foi alterado pelas dietas fermentadas. No entanto, as dietas fermentadas durante 3 e 6 horas promoveram nos juvenis de truta arco-íris um menor consumo de alimento, uma melhor conversão do alimento, assim como uma redução nas concentrações da amônia hepática indicando uma maior eficiência alimentar e menor impacto ambiental.

A inclusão de bactérias probióticas na ração comercial aumentaram a atividade enzimática da lipase intestinal nos juvenis de truta arco-íris. Além disso, a contagem das bactérias probióticas fermentadoras se incrementaram nos intestinos dos peixes e diminuiu a presença de bactérias patogênicas da família *Vibrionaceae*, o que melhorou a saúde intestinal dos animais.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considera-se este trabalho como pioneiro ao conseguir fermentar uma ração comercial para juvenis de truta arco-íris. Na pesquisa utilizaram-se dois microrganismos de amplo uso na fermentação de alimentos como são as bactérias ácido lácticas (BAL): *Lactobacillus Acidophilus* e *Lacticaseibacillus rhamnosus*. Estes microrganismos se desenvolveram bem com altas taxas de crescimento, apesar do substrato ter alto teor em proteínas. Resultado de seus ajustes metabólicos, as BAL usaram uma fração mínima de proteína da ração sem ocasionar alterações significativas no crescimento dos juvenis de truta arco-íris. Recomenda-se em futuros trabalhos formular dietas que inclua uma porção mínima de carboidratos que estimule o processo fermentativo das BAL de forma a poupar a fração da proteína da ração.

No experimento com ração fermentada observou-se menor consumo de alimento e melhor conversão alimentar dos juvenis de truta arco-íris. Além disso, houve uma melhoria na saúde intestinal, o que é considera um impacto positivo do trabalho. É oportuno realizar outros experimentos mais refinados que englobe a determinação peptídeos que ajudem a elucidar melhor os mecanismos de ação das BAL em rações comerciais e que validem os resultados obtidos no presente trabalho. Igualmente realizar experimentos alterando variáveis da qualidade da água para avaliar o grau de proteção que as rações comerciais fermentadas com BAL oferecem ao sistema imune dos peixes e determinar a viabilidade econômica e produtiva que pode proporcionar a tecnologia da fermentação com rações comumente utilizadas pelos produtores a nível de campo.

Sabe-se que sistemas intensivos de produção de organismos aquáticos utilizam enormes quantidades de insumos, recursos naturais, energia e geram resíduos que são descartados ao ambiente ocasionam impactos significativos e com o tempo se tornam um desafio para o próprio sistema aquícola. Oportunamente, o trabalho desempenhado pelas BAL fermentando ração, pode auxiliar nesses problemas. Com a pre-digestão dos nutrientes da ração, o sistema digestivo dos peixes passa a ser mais eficiente em absorver e transforma nutrientes em proteína animal. Com isso, a tecnologia de ração fermentada pode contribuir para a transição de um modelo linear de aquicultura para o circular. Onde maximiza a eficiência do alimento fornecido para que seja transformado em peixe e os lodos gerados sejam retidos (reciclando nutrientes), reaproveitando recursos e incorporando-os novamente à cadeia produtora de alimentos e, dessa forma, tornar a produção aquícola mais resiliente e sustentável.

Recomenda-se realizar estudos agronômicos que avaliem os efeitos das BAL dos lodos na microbiota do solo e como repercutem no desempenho produtivo de plantas de ciclo curto como fruteiras ou outras plantas de interesse econômico.

REFERÊNCIAS

- ABOWEI, J. F. N.; EKUBO, A. T. A review of conventional and unconventional feeds in fish nutrition. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2, n. 4, p. 179-191, 2011.
- ALP, D.; KULEAŞAN, H. Determination of competition and adhesion abilities of lactic acid bacteria against gut pathogens in a whole-tissue model. **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, v. 39, n. 4, p. 250-258, 2020.
- AWAD, A.; MOHAMMADY, E. Y.; SOAUDY, M. R.; RABETIMARGHEZAR, N.; EL-HAROUN, E. R.; HASSAAN, M. S. Growth and physiological response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed a fermented mixture of plant protein sources. **Animal Feed Science and Technology**, v. 315, art. 116034, 2024.
- BAKKE-MCKELLEP, A. M.; PRESS, C. M.; BAEVERFJORD, G.; KROGDAHL, Å.; LANDSVERK, T. Response to soy: T-cell-like reactivity in the intestine of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 30, n. 1, p. 13-25, 2007.
- BARBOSA, A. S. B.; LOPES, M. T.; SANTOS, R. T.; SILVA, F. J. Economic analysis of family trout farming in Southern Brazil. **Aquaculture International**, v. 28, n. 1, p. 2111-2120, 2020.
- BARNES, M. E.; BROWN, M. L.; BRUCE, T. J.; SINDELAR, S. C.; NEIGER, R. D. Comparative performance of two rainbow trout strains fed fermented soybean meal. **Aquaculture International**, v. 23, n. 6, p. 1227-1238, 2015.
- BORRÁS-SANDOVAL, L. M.; TORRES-VIDALES, G. Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido-FES. **Orinoquia**, v. 20, n. 2, p. 47-54, 2016.
- CATALÁN, N.; GRANJA, R.; REY, S. Fermented soybean meal increases lactic acid bacteria in gut microbiota of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 10, n. 4, p. 566-576, 2018.
- CHOI, D. G.; LEE, S.; PARK, Y.; CHOI, J. Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 37-46, 2020.
- DAS, K. C.; MOHANTY, S.; SAHOO, P. K.; DAS, R.; SAHOO, L.; SWAIN, P. Effect of solid-state fermented aquafeed on growth performance, digestive enzymes and innate immunity of Rohu, *Labeo rohita*. **Agricultural Science Digest**, v. 41, n. 3, 2021.
- DAVIES, S. J.; MORRIS, P. C.; KOUSOULAKI, K. A solid-state fermentation (SSF) supplement improved performance, digestive function and gut ultrastructure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed plant protein diets containing yellow lupin meal. **Aquaculture**, v. 545, art. 737177, 2021.
- DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S. Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, p. 1-16, 2019.
- FERNANDES, A. C.; SILVEIRA, E. A.; SANT'ANA, L. F. D. Benefits and risks of fish consumption for human health. **Revista de Nutrição**, v. 25, p. 283-295, 2012.

FONTES, A. V.; MENDES, L. D. S.; FERREIRA, R. **Processo de industrialização da soja no Brasil**, 2019.

FREITAS, E. R.; RABELLO, C. B. V.; WATANABE, P. H. Probióticos e prebióticos na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; VILAR DA SILVA, J. H.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K. (Eds.). **Probióticos e Prebióticos na Nutrição de Monogástricos**. p. 313-329, 2014.

FRIAS, J. Y. S.; TAMAYO, F. P.; SILVA, T. A. Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 99-105, 2008.

GATLIN III, D. M. **Nutrition and fish health**. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds.). **Fish Nutrition**. 3. ed. Academic Press, 2003. p. 671-702.

GLEN CROSS, B.; RUTHERFORD, N.; HAWKINS, W. A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin meals in extruded diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 3, p. e317-e325, 2011.

OPAZO, R.; et al. Reduction of soybean meal non-starch polysaccharides and α -galactosides by solid-state fermentation using cellulolytic bacteria obtained from different environments, 2012.

PALADINES-PARRALES, A. R.; NGUYEN, K. Q.; TABBARA, M.; PADENIYA, U.; ADEYEMI, A.; LEE, Y.; DAVIS, D. A. Assessment of different dietary soybean meals and corn fermented protein in practical diets for fingerling channel catfish. **Animal Feed Science and Technology**, art. 116239, 2025.

PEIXE BR. Associação Brasileira da Piscicultura. Anuário 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>. 2020.

PICOLI, F.; LUIZ DEOLINDO, G.; SERAFINI, S.; DE ALCANTARA LOPES, D. L.; PEREZ FABREGAT, T. E. H. Fermented soybean meal (FSFM) and Spirulina (*Arthrosphaera platensis*) biomass as potential substitutes for fishmeal for tilapia and other fish species cultivated in intensive systems. **Revista de Ciencias Agroveterinarias**, v. 23, n. 4, 2024.

ROJAS-SANDOVAL, J. *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow trout). **CABI Compendium**, 2024. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/71813>.

ROSS, P. R.; et al. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, v. 79, p. 3-16, 2002.

SAMTIYA, M.; et al. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2020.

SILVA, S. D.; ANDERSON, T. A. **Fish Nutrition in Aquaculture**. 1995.

STEFFENS, W.; WIRTH, M. Freshwater fish: an important source of n-3 polyunsaturated fatty acids: a review. **Fisheries & Aquatic Life**, v. 13, n. 1, p. 5-16, 2005.

TACON, A. G.; METIAN, M. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 23, p. 1-10, 2015.

TILAMI, S. K.; SAMPELS, S. Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 29, p. 243-253, 2017.

TINGMAN, W.; et al. Fish product quality evaluation based on temperature monitoring in cold chain. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 37, p. 6146-6151, 2010.

TOPIC POPOVIC, N.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; SAUERBORN-KLOBUCAR, R.; BARISIC, J.; JADAN, M.; KAZAZIC, S.; COZ-RAKOVAC, R. The effects of diet supplemented with *Lactobacillus rhamnosus* on tissue parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 48, n. 5, p. 2388-2401, 2017.

TURCHINI, G. M.; TRUSHENSKI, J. T.; GLENROSS, B. D. Thoughts for the future of aquaculture nutrition: realigning perspectives to reflect contemporary issues related to judicious use of marine resources in aquafeeds. **North American Journal of Aquaculture**, v. 81, n. 1, p. 13-39, 2019.

USYDUS, Z.; SZLINDER-RICHERT, J. Functional properties of fish and fish products: a review. **International Journal of Food Properties**, v. 15, n. 4, p. 823-846, 2012.

WANG, P.; et al. Effect of dietary fermented soybean meal on growth, intestinal morphology and microbiota in juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. **Aquaculture Research**, v. 50, p. 748-757, 2019.

YAMAMOTO, F. Y.; HUANG, J.; SUAREZ-BARAZETA, C. C.; CRAIG, S. R.; OLDER, C. E.; RICHARDSON, B. M.; GATLIN III, D. M. Exploring the nutritional value of corn fermented protein as a replacement for soybean meal in diets for juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*): impacts on production performance, intestinal health, and disease resistance. **Aquaculture**, v. 587, art. 740824, 2024.

YAMAMOTO, T.; IWASHITA, Y.; MATSUNARI, H.; SUGITA, T.; FURUITA, H.; AKIMOTO, A.; SUZUKI, N. Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 309, n. 1-4, p. 173-180, 2010.

YANG, Z.; LIU, P.; KONG, Q.; DENG, Y.; ZHANG, W.; XU, G.; TANG, H. Effects of co-fermented feed using *Lactobacillus acidophilus*, *Limosilactobacillus reuteri* and *Lactiplantibacillus plantarum* on growth, antioxidant capacity, fatty acids and gut microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Fishes**, v. 8, n. 9, p. 433, 2023.

ZHENG, L.; et al. Effects of *Bacillus* fermentation on the protein microstructure and anti-nutritional factors of soybean meal. **Letters in Applied Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 520-526, 2017.

CAPITULO III - CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LODOS PROVENIENTES DE JUVENIS DE TRUTA ARCO ÍRIS *Oncorhynchus mykiss* ALIMENTADOS COM DIETAS FERMENTADAS EM UM SISTEMA COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.

RESUMO

A criação de peixes com recirculação de água é uma alternativa tecnológica em expansão no mundo devido ao fato de que pode se proteger das mudanças climáticas cada vez mais imprevisíveis, de pressões ambientais, e a demanda de sistemas de cultivo mais confiáveis e seguros para produzir alimentos nutracêuticos para uma população humana crescente. Enquanto isso, como todo sistema intensivo de cria de peixes, geram-se resíduos metabólicos como NH₃, CO₂ e sólidos suspensos (SS) que impactam o meio ambiente. Entre os resíduos, os SS causam diversos problemas à saúde dos peixes, à qualidade da água e às unidades de tratamento da água, entre outros. Em particular, a remoção dos SS constitui um desafio devido à sua fragilidade em se fracionar e à sua densidade semelhante à da água. Portanto, o objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito de dietas fermentadas sobre as características físico-químicas dos sólidos suspensos produzidos por juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) criados em sistemas com recirculação de água. No experimento, uma ração comercial (45% PB) para truta arco-íris foi inoculada com bactérias probióticas fermentadoras a fim conformar quatro dietas experimentais: três dietas fermentadas durante os tempos: 4, 6 e 9 horas e uma dieta controle sem fermentar. As dietas foram entregues aos juvenis de *O. mykiss* (peso médio de 61,57± 2,40 g) alocados em um sistema com recirculação de água durante 30 dias. Durante período experimental foram coletados os sólidos suspensos sedimentáveis (lodos) para avaliação de sua caracterização físcio química, contagem de bactérias ácido lácticas, alguns parâmetros como a DBO, DQO, velocidade de sedimentação (VS), turbidez e o tempo de sedimentação também foram determinados. O processo de fermentação alterou a composição bromatológica do lodo ($P<0,05$). Observou-se um aumento crescente na contagem de BAL em função do tempo de fermentação das dietas. Assim mesmo, alguns macros elementos como o N e P aumentaram nos lodos das dietas fermentadas. Tanto a DBO como a DQO apresentaram um decaimento em respostas ao tempo de fermentação. A presença de metais pesados foi detectada entre os lodos. A velocidade de sedimentação e a turbidez também foram alteradas ($P<0,05$). Portanto, peixes que consumem dietas fermentadas produzem lodos ricos em nutrientes que podem ser inseridos de novo na cadeia produtiva de alimentos para consumo

humano ou animal, além de gerar um menor impacto ambiental e dessa forma, promover uma aquicultura sustentável.

Palavras-chaves: Matéria Orgânica; Reciclagem de Nutrientes; Economia Circular; Microrganismos; Qualidade da Água; Composição Centesimal.

ABSTRACT

The farming of fish with water recirculation is an expanding technological alternative worldwide due to the fact that it can protect against increasingly unpredictable climate changes, environmental pressures, and the demand for more reliable and safe cultivation systems to produce nutraceutical food for a growing human population. Meanwhile, like any intensive fish farming system, metabolic waste such as NH₃, CO₂, and suspended solids (SS) are generated, which impact the environment. Among the waste, SS causes various problems to fish health, water quality, and water treatment units, among others. In particular, the removal of SS poses a challenge due to its fragility in fracturing and its density similar to that of water. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of fermented diets on the physicochemical characteristics of suspended solids produced by juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) raised in recirculating water systems. In the experiment, a commercial feed (45% CP) for rainbow trout was inoculated with fermenting probiotic bacteria to form four experimental diets: three diets fermented for 4, 6, and 9 hours, and a control diet without fermentation. The diets were delivered to juvenile *O. mykiss* (average weight of 61.57± 2.40 g) allocated in a recirculating water system for 60 days. During the experimental period, the settleable suspended solids (sludge) were collected for the evaluation of their physicochemical characterization, counting of lactic acid bacteria, and some parameters such as BOD, COD, sedimentation velocity (SV), turbidity, and sedimentation time were also determined. The fermentation process altered the bromatological composition of the sludge (P<0.05). A growing increase in BAL count was observed as a function of the fermentation time of the diets. Likewise, some macroelements such as N and P increased in the sludge of the fermented diets. Both BOD and COD showed a decline in responses over the fermentation time. The presence of heavy metals was detected among the sludge. The sedimentation rate and turbidity were also altered (P<0.05). Therefore, fish that consume fermented diets produce nutrient-rich sludge that can be reinserted into the food production chain for human or animal consumption, in addition to generating a lower environmental impact and thus promoting more sustainable aquaculture.

Keywords: Organic Matter; Nutrient Recycling; Circular Economy; Microorganisms; Water Quality; Centesimal Composition.

1 INTRODUÇÃO

Na aquicultura intensiva, como nos sistemas de recirculação (RAS, siglas em inglês), um fator crucial é a alimentação e, nesse sentido, ela representa nesses sistemas o maior custo na produção de peixes, a qual pode oscilar entre 60% a 70% (LOVELL, 1998; HASAN; NEW, 2013; HARDY; KAUSHIK, 2022). Consequentemente, o gerenciamento e qualidade do alimento é um ponto crítico que pode afetar a sustentabilidade financeira de qualquer empreendimento aquícola e deve ser otimizado para máximo crescimento dos peixes (TACON et al., 2021; ONOMU et al., 2024). De acordo com estudos de nutrição animal, entre as espécies de animais domésticos, os peixes são os mais eficientes em transformar o alimento em aumento de peso, ou seja, apresentam menor conversão do alimento (TORRISSEN et al., 2011; WU, 2017).

Apesar disso, do total de alimento ingerido pelos peixes, apenas 30% dos nutrientes são incorporados em biomassa e o restante (70%) é liberado ao ambiente sob a forma de fezes (BOYD; MCNEVIN, 2015; MONTANHINI; OSTRENSKY, 2015, VALENTE et al., 2021). Por tanto, a maior fracção do custo do alimento é descartada em forma de matéria orgânica (M.O) altamente poluente aos ecossistemas aquáticos como ocorre em pisciculturas convencionais. Conforme a fonte de procedência, o teor de M.O presente nos sólidos pode variar segundo o sistema de produção aquícola.

Na situação de peixes criados em RAS, onde predominam altas densidades de peixes por unidade de área ou volume, se produzem altas cargas de M.O e nutrientes que em sistemas convencionais ou de raceways (MARTINS et al., 2010; HJELTNES et al., 2012; ZHANG et al., 2013; MONGIRDAS et al., 2017). Um excesso de M.O pode indicar falhas no design do sistema aquícola, causar problemas na qualidade da água, afetar o bem-estar, a saúde e o desempenho dos peixes (BILLOTTA; BRAZER, 2008; BADIOLA et al., 2012; BECKE et al., 2019).

Em sistemas RAS, os sólidos constituídos por uma maior fração de M.O, podem desfragmentar-se facilmente se não forem removidos rapidamente do sistema aquícola, como reportado por Dalsgaard & Pedersen (2011), quando os sólidos são fracionados em partículas menores, aumenta-se a quantidade de sólidos suspensos totais (SST) que interferem na turbidez da água e, consequentemente, se dificulta a visualização dos peixes pelos funcionários responsáveis pelas operações de cultivo (NOBLE et al., 2020) ou aumentam os sólidos dissolvidos totais (SDT). Uma maior fragmentação dos sólidos implica em aumento da área

superficial das partículas dos SST que serve como substrato para a colonização e crescimento de microrganismos patogênicos causadores de doenças aos peixes de cultivo (WOLD et al., 2014). Além disso, ocasiona aumento da demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) e, portanto, se diminui tanto os níveis de oxigênio dissolvido para os peixes como para o biofiltro que reduz as taxas de nitrificação com consequente aumento nos níveis de nitrito e amônia na água do RAS (KHARTER et al., 2011; ROJA-TIRADO et al., 2018).

Dependendo da tecnologia de remoção, a composição dos sólidos apresenta entre 92 a 97% de umidade (MIRZOYAN et al., 2010; MADARIAGA; MARÍN, 2017), as concentrações de nitrogênio variam entre 3,6 a 35% e para fósforo entre 15 a 70% (PIEDRAHITA, 2003; MONGIRDAS et al., 2017). Em relação ao impacto ambiental causado pelos sólidos, estima-se que para 1,0 kg de alimento consumido pela truta arco-íris, geram-se 0,52 kg de SST; 0,60 kg de DBO, 1,89 kg de DQO; 0,0162 kg de fosfato (PO₄⁻); 0,024 kg de nitrito (NO₂⁻) e 0,0289 kg de amônia (NH₃) (MONGIRDAS et al., 2017).

Considerando os problemas que os sólidos podem causar aos peixes, à qualidade da água e aos componentes unitários de um RAS, necessário realizar estudos para caracterizar as propriedades físico-químicas desses sólidos. Isso permitirá indicar seu o real potencial de utilização e compreender os fatores que influenciam na sua qualidade. Como também, identificar os pontos críticos dentro do sistema de cultivo que perturbam a integridade dos sólidos, além de identificar a fonte de geração. Desse modo, definir os mecanismos de remoção e tratamento mais adequados de acordo com os resultados de uma caracterização detalhada dos sólidos (DEL CAMPO et al., 2010).

Além das características químicas, as propriedades físicas dos sólidos têm implicações importantes no tratamento destes, visto que sua caracterização determina o mecanismo mais adequado para sua remoção (MERINO et al., 2007) e transporte advectivo (CORTES et al., 2022). Entre as propriedades físicas, os sólidos possuem tamanhos e densidades diferentes, os quais têm uma relação direta na distribuição de velocidades de sedimentação e no tempo de sedimentação (WONG; PIEDRAHITA, 2000; CORTES et al., 2022). Por isso, é importante identificar e conhecer os fatores que modulam a consistência dos sólidos.

Nesse sentido, a composição da ração influência aspectos químicos e físicos dos sólidos gerados pelos peixes. Atualmente a farinha de peixe se substitui gradativamente por ingredientes alternativos à base de plantas, ou de insetos, ingredientes que apresentam níveis consideráveis de fatores antinutricionais como os polissacarídeos não amiláceos, que podem

aumentar a geração de sólidos, modificar a microbiota intestinal de peixes como a truta arco-íris, afetar as características das fezes, reduzir a estabilidade fecal, alterar o tamanho das partículas e interferir na velocidade de sedimentação das partículas dos sólidos fecais (BRINKER; FRIEDRICH, 2012; KOKOU; FOUNTOULAKI, 2018; TEROVA et al., 2019; SCHUMANN et al., 2022; WELKER; BARROWS, 2023).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi determinar a caracterização físico-química de lodos provenientes de juvenis de truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água, assim como, avaliar a sua composição bromatológica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. ANIMAIS

Juvenis de truta arco íris, *Oncorhynchus mykiss* foram adquiridos numa piscicultura comercial do interior do Estado de Santa Catarina. Os peixes foram transportados até as instalações experimentais do laboratório de piscicultura da Universidade Estadual de Santa Catarina Campus III de Lages. Após finalizado o experimento de desempenho produtivo de 60 dias, foram transferidos e alocados 112 Juvenis de *O. mykiss* com um peso médio de $61,57 \pm 2,40$ g em quatro caixas circulares em fibra de vidro com 500L de capacidade em uma densidade de estocagem de 28 peixes por caixa ($3,45 \text{ kg m}^{-3}$). As caixas foram acopladas a um sistema fechado com recirculação de água aerada e filtrada.

2.2. SISTEMA DE CULTIVO

Para o desenvolvimento do experimento da caracterização dos lodos foi necessário desenvolver uma metodologia que permitisse capturar as fezes dos peixes cuidadamente sem interferir na sua forma ou estrutura assim como, sem causar estresse aos peixes. Para efeitos da implementação da metodologia foram recuperadas e reutilizadas quatro caixas de fibra de vidro (Figura 1).



Figura 1- Caixas de fibra de vidro recuperadas para o estudo da coleta de fezes

Importante ressaltar que foi necessário fazer uma dupla drenagem em cada caixa. Para isso, no centro de cada caixa foi realizado um orifício de 15 cm de diâmetro para acoplar uma peça desenhada e construída em fibra de vidro em forma de漏斗 com duas saídas (Figura 2), uma saída maior (drenagem principal) para trocar a maior parte da água da caixa, ao redor de 90% da vazão saia pelo overflow e uma segunda saída menor (drenagem secundária) por onde fluía 10 % da vazão a través de um cano pequeno soldado em um漏斗 cuja função era remover o efluente concentrado em sólidos.

Um fator importante decisivo no sucesso para remover os sólidos foi gerar uma correnteza dentro das caixas, para isso, a entrada d'água em cada caixa foi realizada através de um tubo de PVC posicionado em forma vertical com orifícios tipo uma “flauta” por onde passavam uma série de jatos de água a alta velocidade. Dessa forma, a água entrava em forma tangencial à parede da caixa produzindo um efeito vórtice que fazia girar a água a uma velocidade controlada. A força cinética da água nas caixas de cultivo tinha uma dupla finalidade, primeiro ajudar à autolimpeza dos sólidos concentrando-os no fundo da drenagem central para logo serem removidos. Segundo promover o bem-estar dos peixes, pois peixes como a truta arco-íris por ter comportamento migratório, eles gostam de nadar contra a correnteza. Por tanto, os peixes foram estimulados a nadar a uma velocidade de 1,0 C.C.S (comprimento corporal por segundo). A velocidade de nado dos peixes foi determinada com um Fluxómetro mecânico (General Oceanics Inc) (Figura 3).



Figura 2- Processo sequencial da montagem das peças em fibra de vidro responsáveis pela captura das fezes sedimentam na caixa de cultivo.

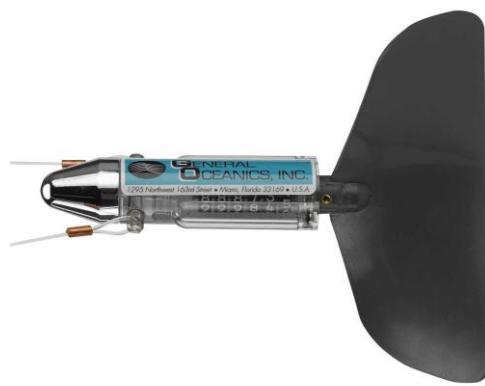


Figura 3- Fluxómetro mecânico utilizado para determinar a velocidade de nado dos peixes.

Em termos gerias, o mecanismo de remoção dos lodos (fezes) demandava um fluxo entre 5 a 10% do fluxo total de cada caixa. O efluente procedente do dreno secundário era transportado por uma mangueira transparente de 25 mm de diâmetro até o coletor de fezes posicionado no lado externo de cada caixa. Um cano acoplado na parte média superior do coletor recebia o efluente com as fezes que as descarregava no centro do coletor. Seguidamente, como uma parte das fezes que eram mais densas que a água sedimentava na porção final do coletor que apresentava um formato de漏斗 (Figura 4). As fezes acumuladas depois no outro dia eram coletadas para análises laboratoriais posteriores.

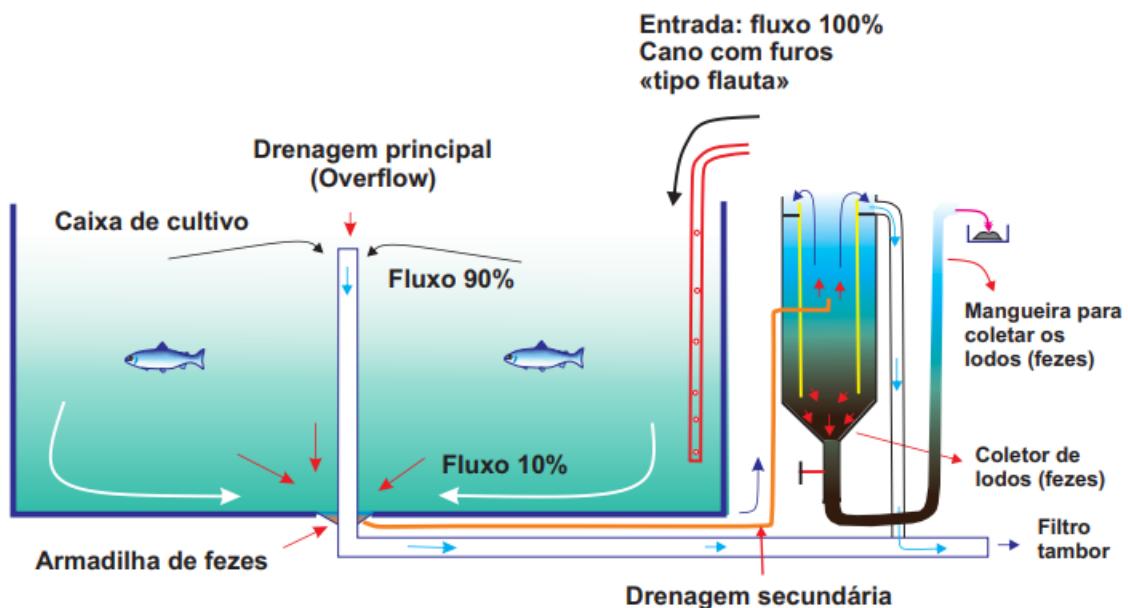


Figura 4 - Vista lateral do sistema hidráulico da coleta de fezes: caixa de cultivo de 500 litros com dupla drenagem com seu respetivo coletor de lodos.

O sistema de recirculação projetado para realizar a coleta de sólidos dos peixes estava conformado por 4 caixas de fibra de vidro com volume útil de 500 litros. O fluxo de água que

recirculava em cada componente do sistema era acionado por uma bomba submersa com variador de velocidade marca Eco Ocean Tech 200 w com tensão de 220 volts, modelo AC-20000 (Figura 5). Cada caixa recebia uma vazão de aproximadamente 1.500 L h^{-1} , isto é, a água era renovada em cada caixa 3 vezes por hora.

Um filtro tambor rotativo marca Altamar, modelo 400/2 com vazão de operação máxima de $25 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ provido de uma tela de aço inox de 90 micras era o responsável por filtrar toda a água das quatro caixas. Seguidamente a água fluía para um filtro biológico que removia os resíduos metabólicos dos peixes como amônia e nitrito. Isto permitia manter a qualidade da água exigida para os peixes. A água após processo de filtração mecânica e biológica, fluía para uma caixa denominada de sumidouro ou sump que estava posicionada no final do biofiltro. Uma bomba submersa situada no fundo do sump recalcava a água através de rede de tubulação em PVC de 1 polegada a cada caixa. Os parâmetros da qualidade da água foram monitorados com uma sonda multiparamétricos marca AK88, a temperatura da água oscilou entre 8 a 23°C , oxigênio dissolvido entre 11.5 e 8.1 mg L^{-1} , pH entre 8.07 a 8.64 e a salinidade 0.86 a 2.18 ppt.

Sistema de recirculação experimental - UDESC-CAV

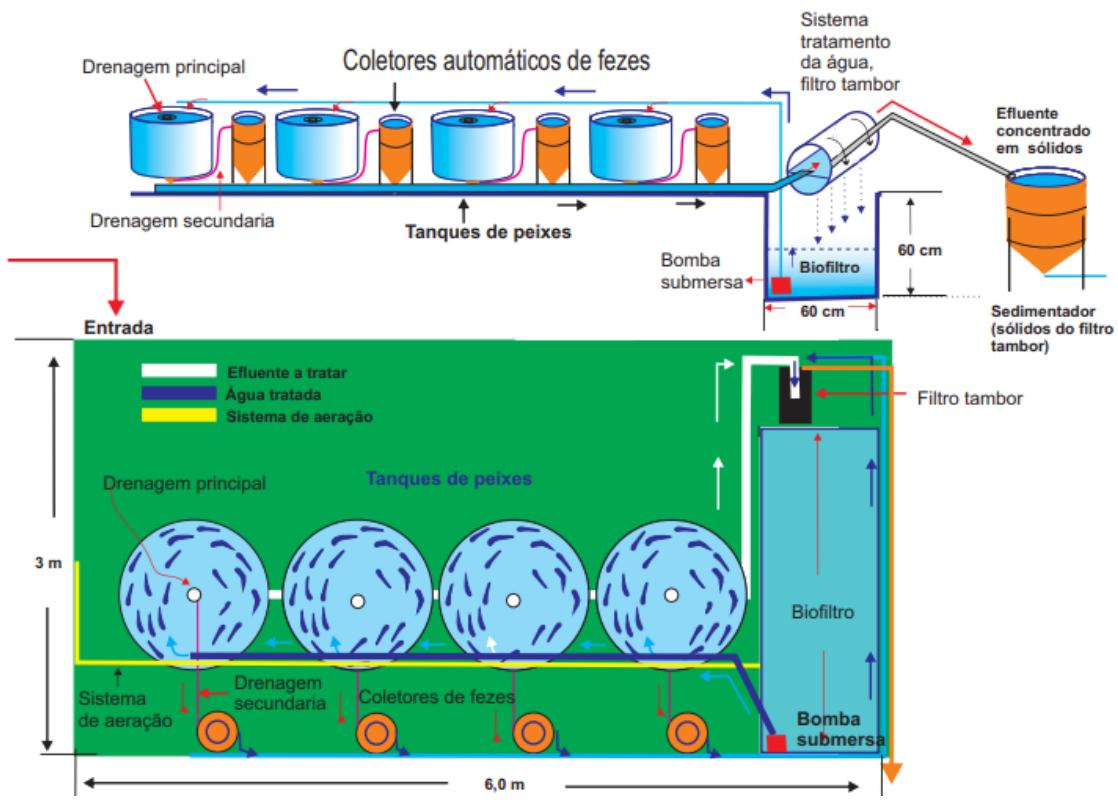


Figura 5- Plano isométrico (vista de perfil e aérea) do sistema de recirculação com os componentes unitários para a captura de sólidos provenientes da truta arco-íris alimentadas com as dietas fermentadas.

2.3. DIETAS EXPERIMENTAIS.

As dietas fermentadas utilizadas no primeiro experimento foram igualmente fornecidas a 112 juvenis de truta arco-íris alocados em um sistema de recirculação menor. Os peixes foram alimentados manualmente próximo a saciedade uma vez ao dia (15 a 16 horas segundo protocolo da piscicultura do CAV) com quatro dietas experimentais: dieta fermentada 3 horas (DF 3h), fermentada 6 horas (DF 6h), fermentada 9 horas (DF 9h) e dieta controle sem fermentar (DCSF). No processo de fermentação, previamente utilizou-se uma ração comercial para truta arco íris (45% proteína bruta, 12% de gordura, 7% de cinzas e 10% de umidade). Além disso, para assegurar que os peixes ficarem saciados foi estimado um tempo de alimentação de 15 minutos. No manejo da alimentação, cuidados foram tomados a fim de garantir que não sobraram pellets de ração no fundo de cada caixa.

2.4 COLETA DE LODOS.

As coletas dos sólidos (fezes) sempre foram feitas no outro dia pela manhã entre as 09 – 10 horas. Seguidamente procedia-se a drenar o coletor de fezes por meio de uma mangueira acoplada na parte inferior do coletor e seguidamente o volume do efluente com as fezes (lodo) foi transferido para um cono de imhoff filtro para quantificar o volume de fezes coletadas (Figura 6).



Figura 6 - Conos de imhoff utilizados nas determinações volumétricas de fezes de truta arco íris.

O cono de imhoff foi preenchido com 1 litro de efluente de cada coletor, a amostra se deixava sedimentando sob a ação da gravidade durante um período de uma hora. Ao final deste tempo se tomava uma leitura do teor de sólidos sedimentáveis que eram expressos mL L^{-1} . Com base neste procedimento o volume de fezes medido foi em torno de 80 mL L^{-1} de efluente.

Posteriormente as fezes procedentes de cada coletor foram vertidas em filtros feitos de nylon de 90 micras para fazer uma drenagem direta *in situ* (figura 7).



Figura 17 - Filtros de nylon utilizados para drenar excedente de água das fezes coletadas.

Seguidamente as amostras das fezes procedentes dos filtros de nylon foram colocadas em estufa de ar forcado por 24 horas para secagem (Figura 8) e posterior moagem para análises laboratoriais.



Figura 8 - Fezes de truta arco íris com 80% de umidade para secagem em estufa.

2.5. ANÁLISE BROMATOLÓGICA DOS LODOS

Para esta análise as amostras de fezes coletadas de cada tratamento foram previamente etiquetadas e colocadas a secar em moldes de papel em estufa de ar forcado por 24 horas a 105°C. Posterior as amostras foram levadas ao laboratório de Bromatologia do CAV-UDESC, para realizar análise da composição centesimal, determinando-se a percentagem de proteína bruta (PB), energia bruta (EB), matéria seca (MS), material mineral, extrato de acordo com A.O.A.C. (1990).

2.6. DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS PELA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS -X -FDX

A preparação das amostras dos lodos para a análise de elementos químicos foi realizada através da técnica de fluorescência de raios -X. Previamente, ao redor de 10 gramas de cada amostra foram submetidas a moagem em almofariz de ágata (figura 9) e seguidamente as amostras foram peneiradas em malha de aço inox com tamanho de orifício < a 0,053 mm (53 μm). Logo, foi utilizada uma massa de 2,0 gramas para cada tipo de amostra (lodo previamente peneirado). Utilizou-se um espectrômetro compacto de energia dispersível de raios -X (EDX), model Epsilon 3 da Panalytical. Além disso, a quantificação dos elementos foi realizada por um programa OMNIAN que faz parte do programa Epsilon.



Figura 9. Processo de moagem e peneiramento de amostras de lodo procedentes de juvenis de truta Arco íris alimentados com diferentes dietas fermentadas.

2.7. ANÁLISE DE METAIS PESADOS

A determinação de metais pesados em amostras de lodo foi realizada no laboratório de análise de água e resíduos do professor Gilmar Conte do Departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária da UDESC-CAV.

Após a coleta das amostras de lodo, estas foram secas em uma estufa a 105°C por 24 horas. Em seguida as amostras foram trituradas em almofariz de ágata, peneiradas objetivando uma granulometria equivalente a 0,053 mm de diâmetro de partícula. Logo foram pesadas 100 mg de amostra por tratamento em tubo de ensaio em balança analítica com quatros casas decimais. Depois em cada tubo de ensaio foram colocados 10 mL de ácido nítrico (HNO_3) concentrado e 3mL de ácido clorídrico (HCl), as amostras foram colocadas em um bloco digestor aquecido a 84 °C durante 60 minutos.

Após o resfriamento, as amostras foram transferidas para tubos falcon de 50 mL, adicionou-se água ultrapura até completar um volume de 25 mL. As soluções resultantes foram submetidas a análise para determinação da concentração dos metais pesados Cd (cádmio), Cu (cobre), manganês (Mn), Fe (ferro), Pb (chumbo) e Zn (zinc), seguindo o método 3550 B, conforme orientação da United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2012). Para cada elemento foi construído uma curva de calibração de forma que a concentração de cada amostra esteja dentro da linearidade da curva determinada.

2.8. DETERMINAÇÃO DA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO₅)

Este parâmetro foi determinado conforme com os procedimentos descritos no “Standar Methods for the Examination of water and wastewater” 21^a edição, método 5210 B (APHA, 2005). Para isso, uma amostra de lodo (80% de umidade) de cada tratamento equivalente a 10 gramas foi diluída em dois litros de água ultrapura e seguidamente uma alíquota de 432 mL do lodo diluído foi transferido para os recipientes de medição da respirometria do gás oxigênio que ficaram em incubação durante 5 dias a 20°C.

2.9. DETERMINAÇÃO DA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO).

A determinação da demanda Química de Oxigênio (DQO) foi conduzida acordo com os procedimentos descritos no “Standar Methods for the Examination of water and wastewater” 21^a edição, método 5220 D – método espectrofotométrico – refluxo fechado (APHA, 2005). Em um *vial*, com fundo plano, de 10 mL foram adicionados 1,5 mL de solução digestora, seguidos de 3,5 mL da solução reagente e 2,5 mL da amostra a analisar. O *vial* foi fechado e agitado cuidadosamente. Em seguida, foi mantido em digestor sob temperatura de 148 °C, por 2 horas. Após o *vial* esfriar, foi realizada a determinação da concentração em espectrofotômetro Pharo 300 (Merck®, Alemanha) no comprimento de onda de 605 nm, com a utilização da própria célula redonda.

2.10 TURBIDEZ

A determinação analítica da turbidez foi conduzida de acordo com os procedimentos descritos no “Standar Methods for the Examination of water and wastewater” 21^a edição, método 2130 B (APHA, 2005). A amostra em temperatura ambiente, foi agitada e pipetada em cubeta de 50 mm. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Nova 60 (Merck®, Alemanha), por meio do método 077 do equipamento. O turbidímetro fornece um valor em unidades de

turbidez nefelométricas (NTU, em inglês). Esse valor reflete a turbidez remanescente na amostra analisada.

2.11 CONTAGEM DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS NO LODO

Para as avaliações microbiológicas foram coletadas amostras de lodo de cada tratamento. As amostras foram pesadas e homogeneizadas em sacos estéreis usando água peptonada, e posteriormente diluídas serialmente (1;10), 0,1mL foram semeados em placas de ágar MRS, para a contagem de bactérias ácido lácticas. A incubação foi realizada dentro de jarras de anaerobiose em estufa a 36 °C com a placas invertidas e após 48 horas de incubação foram realizadas contagens totais de unidades formadoras de colônias (UFC). Foi utilizada a técnica de análise de superfície em triplicata. A contagem foi realizada em triplicata UFC/g (CAVALCANTE, et al., 2020BOMFIM, et al., 2019, KAKTCHAM et al., 2017).

2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de cada variável analisada de seu respectivo tratamento foram submetidos a análise de variância (ANOVA) one way e as diferenças significativas entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Valores em porcentagem foram transformados. As análises estatísticas foram executadas utilizando o programa BioEstat, versão 1.3. Para os parâmetros de composição química do lodo foi feito análise descritiva dos dados.

3 RESULTADOS

3.1. CONTAGEM DE MICRORGANISMOS NO LODO

Nas amostras de lodo de cada tratamento não foram detectadas diferenças significativas ($P>0,05$) na contagem de bactérias ácido lácticas-BAL (*Lb acidophilus* e *Lb rhamnosus*). O crescimento das BAL em resposta ao tempo de fermentação das diferentes dietas foi similar (Figura 10 -A). A presença de bactérias heterotróficas e de *E. coli* (Figura 10 -B, 10 -C) tampouco foi significativa nas amostras do lodo de cada tratamento.

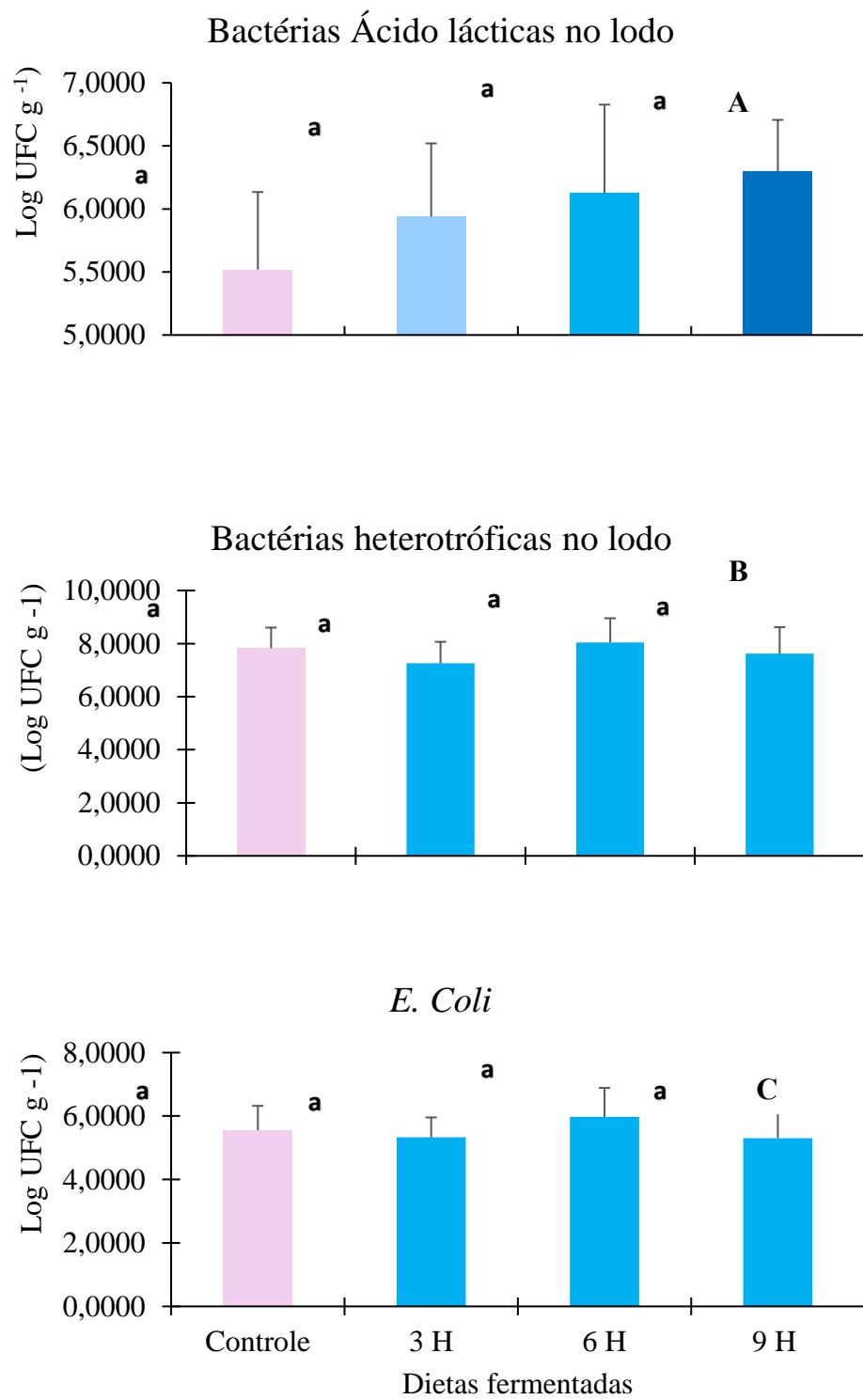


Figura 10 – Contagem de bactérias ácido lácticas (A), heterotróficas (B) e *Escherichia coli* (C) em amostras de lodo provenientes de juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS LODOS.

A caracterização físico-química dos lodos realizada neste trabalho compreendeu a análise da composição bromatológica, análise de macro e micro minerais pela metodologia de Tedesco, a determinação de elementos químicos pela técnica de fluorescência de raios-X e análise de metais pesados por espectrofotometria de absorção atômica.

3.2.1 Composição bromatológica dos lodos de juvenis de truta arco-íris

Conforme os resultados obtidos no laboratório de nutrição animal e bromatologia da UDESC, a composição centesimal dos lodos gerados pelas trutas que consumiram as dietas experimentais diferiu significativamente ($P<0,05$).

De acordo com a tabela 1, o maior conteúdo de material mineral (MM) observado nos lodos, foi dos peixes que consumiram as dietas controle e a dieta fermentada por 9 horas (31,5% e 29,4% respectivamente) ($P<0,05$). Enquanto o menor conteúdo de MM foi no lodo dos peixes que consumiram a dieta fermentada por 3 horas (24,6%), seguido pelo lodo da dieta fermentada por 6 horas (26,9%). Por sua vez, os maiores teores da matéria orgânica (M.O) encontrados foram nos lodos das dietas fermentadas por 3 e 6 horas e os menores teores de M.O foram para os lodos das dietas controle e dieta fermentada por 9 horas ($P<0,05$).

O teor de carbono orgânico (C.O) seguiu o mesmo perfil de resposta que a M.O. Por outro lado, os conteúdos do extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) dos lodos pertencentes às dietas fermentadas diferiram com respeito ao lodo da dieta controle ($P<0,05$). Os maiores valores destas três determinações foram encontrados nos lodos das trutas alimentadas com a dieta fermentada por 3 horas (Tabela 1).

Os teores de fibra entre as amostras de lodo das dietas experimentais não defiram entre si. Houve leve diminuição da fração da FDN entre os lodos das dietas fermentadas e na FDA, a diminuição foi no lodo da dieta fermentada 3 por horas com respeito aos teores do lodo da dieta controle.

Tabela 1. Composição centesimal dos lodos proveniente de juvenis de truta arco-íris criados em sistema com recirculação de água e alimentados com dietas fermentadas. (Média¹ ± Dsvpdr, número de replicas: 3).

Variável	Tratamentos Experimentais				CV	Valor de P	
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas			
Matéria Seca (%)	94,16	94,93	94,70	92,28	0.01		
Matéria Mineral (%)	31,50±0,32a	24,60±1,23b	26,93±0,49bc	29,40±2,99ac	0.10	0.00	
Matéria Orgânica (%)	68,50±0,32a	75,40±1,23b	73,07±0,49bc	70,59±2,99ac	0.04	0.00	
C.O	39,73	43,73	42,38	40,94	0.04		
Extrato Etéreo (%)	5,47±0,53a	8,10±0,27b	6,51±0,28a	6,32±0,23a	0.18	0.01	
Proteína Bruta (%)	32,90±0,49a	36,94±0,45b	33,78±0,52a	36,37±0,18bc	0.05	0.03	
Energia Bruta (Kcal/g)	3834±118,8a	4175±137,3b	3963±75.5ab	4045±62.6ab	0.03	0.00	
Fibra Bruta (%)	FDN (%)	29,55±3,59a	27,69±3,89a	24,56±3,50a	25,97±4,48a	0.08	0.61
	FDA (%)	8,71±2,97a	8,18±3,88a	9,87±0,59a	9,75±1,51a	0.08	0.60

¹Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, são significativamente diferentes ($P<0,05$) pelo teste de Tukey; ²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas.

3.2.2 Determinação de macro e micro minerais pela metodologia de Tedesco

De acordo ao laudo emanado do laboratório de análise de solos do CAV/UDESC, os resultados de macro e microminerais para amostras de fezes coletadas de juvenis de truta arco íris criados em sistema fechado com recirculação de água são apresentadas na tabela 2.

O processo de fermentação ocasionou aumento na capacidade de troca de cátions (CTC) das amostras de fezes com respeito as fezes oriundas da ração controle. Nesse sentido, tanto a CTC pH 7,0 (que indica a quantidade total de cargas negativas que o solo poderia apresentar se o seu pH fosse 7,0) como a CTC efetiva (que indica a quantidade de cargas negativas ocupadas com os cátions trocáveis) foram ambas superiores nas diferentes fezes de dietas fermentadas do

que as das fezes da dieta controle sem fermentação. Alguns macro e micro minerais como cálcio (Ca), fosforo (P), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn) apresentaram maiores teores desses elementos nas fezes das dietas fermentadas que das fezes de dietas não fermentadas. O teor de nitrogênio é normalmente medido por meio do método Kjeldahl.

Tabela 2 - Análise química dos macro e micro minerais das fezes provenientes de juvenis de truta arco íris criados em sistema com recirculação de água.

Elementos	Tratamentos			
	Ração controle (Fezes)	Ração fermentada 3 h (Fezes)	Ração fermentada 6 h (Fezes)	Ração fermentada 9 h (Fezes)
Macrominerais		cmolc/dm ³		
Nitrogênio	5,26	5,91	5,40	5,82
Carbono	39,73	43,73	42,38	40,94
C/N	7,55	7,39	8,21	7,03
Calcio (Ca)	48,28	66,75	53,35	64,36
Magnésio (Mg)	9,37	10.74	10,78	11,65
Fósforo (P)	8.596,9	11,104.3	6,671.5	13,880.5
Sódio (Na)	852	1,106	1,096	609
Potássio (K)	256	214	214	150
Microminerais		(mg/dm ³)		
Cobre (Cu)	0.2	0.8	0.2	0.8
Zinco (Zn)	43.0	35.3	30.7	55.5
Ferro (Fe)	14.2	14.6	14.2	18.3
Manganésio (Mn)	6.1	4.3	6.1	3.3
CTC - efetiva	111.14	64.68	76.56	58.03
CTC - pH 7,0 (cmolc/dm ³)	118.84	68.18	82.76	59.63
K (cmolc/dm ³)	0.655	0.547	0.547	0.384
M.O	5.8	5.8	5.3	4.8
C.O*	3.36	3.07	3.36	3.36

3.2.3 Determinação de elementos químicos pela técnica de Fluorescência de raios-X- FDX

Por meio da técnica de fluorescência de raios-X (FDX), os teores médios dos elementos químicos foram extraídos de amostras de lodo provenientes de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas que podem ser observados na Tabela 3. Eles foram expressos na sua forma elementar visto que este método expressa os elementos sob a forma de óxidos. Os lodos das dietas fermentadas apresentaram uma maior concentração de fósforo (P) com cerca de 2,46% a 5,0%, enxofre (S) com 29, 6% e ferro (Fe) com 12,1% a mais de cada um desses elementos, quando comparado ao lodo da dieta controle. Outros elementos determinados nas amostras de lodo com o cloro (Cl), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) também apresentaram concentrações mais altas que o lodo pertencente à dieta controle (Tabela 8). Por outro lado, observou-se que todas as amostras de lodo das dietas fermentadas apresentaram concentrações de alumínio quase pela metade em relação ao lodo de dieta controle (Tabela 8).

Tabela 3 - Teores médios de elementos químicos dos lodos provenientes de juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentas expressos na forma elementar e analisados por fluorescência de raios-X.

Óxido	Elemento Químico	Dietas Experimentais			
		² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	
	 g/kg.....			
MgO	Mg	6,64	5,84	6,14	6,36
P ₂ O ₅	P	115,66	119,10	118,57	121,84
K ₂ O	K		40,64		
CaO	Ca	423,30	415,74	418,97	413,73
SO ₃	S	14,09	17,97	17,26	
Fe ₂ O ₃	Fe	21,07	23,81	23,97	23,03
	 mg/kg.....			
MnO	Mn	1665,09	1835,47	1974,88	1912,92
Al ₂ O ₃	Al	6056,47	3896,47	3038,82	3949,41
ZnO	Zn	2836,01	3149,33	3277,88	3181,47
SrO	Sr	1133,10	980,89	1048,54	1099,28
ZrO ₂	Zr	22,21	14,81	22,21	29,61
Ag ₂ O	Ag	2020,18	1880,54	1889,85	2076,04
In ₂ O ₃	In	8497,94	8329,66	7722,00	8170,74
TiO ₂	Ti	1362,33	1516,55	1268,08	1396,60
CuO	Cu	295,58	351,50	351,50	319,55
BaO	Ba	609,04	716,52	689,65	662,78
Cl	Cl	3550,00	5810,00	6070,00	3280,00
Rh	Rh		11349470,00	11822730,00	13475260,00
SiO ₂	Si	14210,79	10358,91	10204,65	10854,42
OsO ₄	Os			7,48	

²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas.

3.2.4 Análise de metais pesados por espectrofotometria de absorção atômica.

Realizaram-se três tipos de mensurações de metais pesados: primeiro em amostras das dietas experimentais, segundo em amostras de lodos coletados dos peixes que foram alimentados com as respectivas dietas e terceiro em amostras de cinzas provenientes dos lodos.

Os valores dos metais pesados das amostras foram determinados utilizando a técnica de espectrofotometria de absorção atômica.

3.2.4.1 Determinação de metais pesados nas dietas experimentais

O processo de fermentação alterou os níveis de metais pesados na ração comercial que se utilizou para truta arco íris na presente pesquisa. Metais pesados como o Cd, Pb, Mn, Zn, Fe aumentaram após o processo de fermentação e outros metais como o Cu diminuiu de acordo com as análises feitas no laboratório de espectrofotometria de absorção atômica da UDESC-CAV (Tabela 4).

Tabela 4 - Concentrações de metais pesados nas dietas experimentais determinados por espectrofotometria de absorção atômica.

Elemento	Dietas experimentais*					
	Ração controle	Ração fermentada 3 h	Ração fermentada 6 h	Ração fermentada 9 h	Valor médio	CV
Metalmg kg ⁻¹					
Cd	0,50	2,25	1,75	1,5	2,0	0,50
Cu	13,25	11,75	11,75	19,5	14	0,30
Mn	64,75	69,75	61,50	71,0	67	0,06
Fe	835,75	924,5	916,75	919,25	899	0,04
Pb	57,5	75,0	67,5	72,5	68	0,11
Zn	160,025	164,025	165,95	172,975	166	0,03

3.2.4.2 Determinação de metais pesados nos lodos de juvenis de truta arco-íris alimentados com dietas fermentadas

Na análise dos metais pesados do material mineral dos lodos oriundos das dietas experimentais foi detectado um aumento significativo dos elementos Cd e Pb na amostra do lodo pertencente à DF 9 horas ($P>0,05$) (Tabela 5). Nos demais elementos como Cu, Mn, Fe, e Zn não apresentaram variações significativas de suas concentrações ($P>0,05$).

Tabela 5 - Valores médios de metais pesados dos lodos provenientes de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas e criados em sistema com recirculação de água.

Elemento	Tratamentos			
	Ração	Ração	Ração	Ração
	controle	fermentada 3 h	fermentada 6 h	fermentada 9 h
	(Lodo)	(lodo)	(lodo)	(lodo)
Metalmg kg ⁻¹			
Cd	1,67±0,52ab	2,0±0,25ab	1,42±0,29b	2,5±0,25a
Cu	46,25±4,25	44,17±0,80	39,83±3,14	40,00±3,20
Mn	284,92±31,52	264,83±17,79	259,25±21,32	268,92±10,37
Fe	2755,42±127,56	2987,42±58,03	2904,00±163,89	3001,17±165,42
Pb	44,83±3,78ab	41,67±3,82ab	38,33±2,87b	47,50±2,50a
Zn	479,49±17,13	478,96±10,92	499,88±37,69	502,53±37,43

3.2.4.3 Determinação de metais pesados nas cinzas dos lodos

De acordo com a tabela 6, os lodos resultantes do processo de fermentação das dietas experimentais ocasionaram um aumento dos metais pesados Cd, e Pb, além de uma diminuição no Cu, em relação à dieta controle ($P<0,05$). As concentrações de Mn, Fe, e Zn não apresentaram diferenças significativas entre as dietas experimentais ($P>0,05$).

Tabela 6 - Valores médios de metais pesados das cinzas provenientes de juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas e criados em sistema com recirculação de água.

Elemento	Tratamentos			
	Ração	Ração	Ração	Ração
	controle	fermentada 3 h	fermentada 6 h	fermentada 9 h
	(Lodo)	(lodo)	(lodo)	(lodo)
Metalmg kg ⁻¹			
Cd	2,67±0,29c	2,92±0,63bc	4,25±0,25a	4,42±0,38a
Cu	119,92±7,80a	101,08±8,08ab	117,25±3,88ab	98,92±9,67b
Mn	918,17±103,62a	795,58±40,03a	881,08±88,15a	889,17±20,52a
Fe	8667,5±355,32a	8474,58±311,51a	8722,58±84,26a	8381,25±782,98a
Pb	155,00±7,5b	178,33±a	193,33±1,44a	183,33±3,82a
Zn	1358,91±22,84a	1349,30±26,24a	1332,05±41,87a	1354,75±19,07a

3.2.5 Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio

Os valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) apresentaram uma diminuição conforme aumentou o tempo de fermentação das dietas experimentais (Tabela 7).

Tabela – 7 Valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de lodos gerados por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água

Tempo (dias)	Tratamentos			
	Ração controle 0 h (Lodo)	Ração fermentada 3 h (lodo)	Ração fermentada 6 h (lodo)	Ração fermentada 9 h (lodo)
mg O ₂			
1	8	5	5	5
2	10	7	7	7
3	11	8	7	7
4	12	12	10	9
5	14	13	11	9
DBO₅ (mg L⁻¹)*	2800	2600	2200	1800

*Interpretação das leituras de **DBO₅**: cada valor indica a quantidade de oxigênio consumido para estabilizar a matéria orgânica presente ao longo de 5 dias, a 20°C. Cada amostra corresponde a 10 mL de lodo (densidade de lodo: 1g mL⁻¹).

3.2.6 Determinação da Demanda Química de oxigênio (DQO)

A oxidação do lodo proveniente das dietas fermentas apresentou menor demanda no consumo de oxigênio e as concentrações deste gás diminuíram conforme o tempo de fermentação das rações experimentais tabela 8 e figura 10.

Tabela 8- Demanda química de oxigênio (DQO) de lodos gerados por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água

Elemento	Dieta experimental*			
	Ração	Ração fermentada	Ração fermentada	Ração
	controle	3 h	6 h	fermentada 9 h
.....mg O ₂				
Demandas	904,00±1,12	640±5,26	563,27±1,30	365,75±8,20

No ajuste dos dados para consumo de **DQO** de primeira ordem ou decaimento exponencial, a barra de erro não aparece devido ao ajuste quase perfeito (Figura 11).

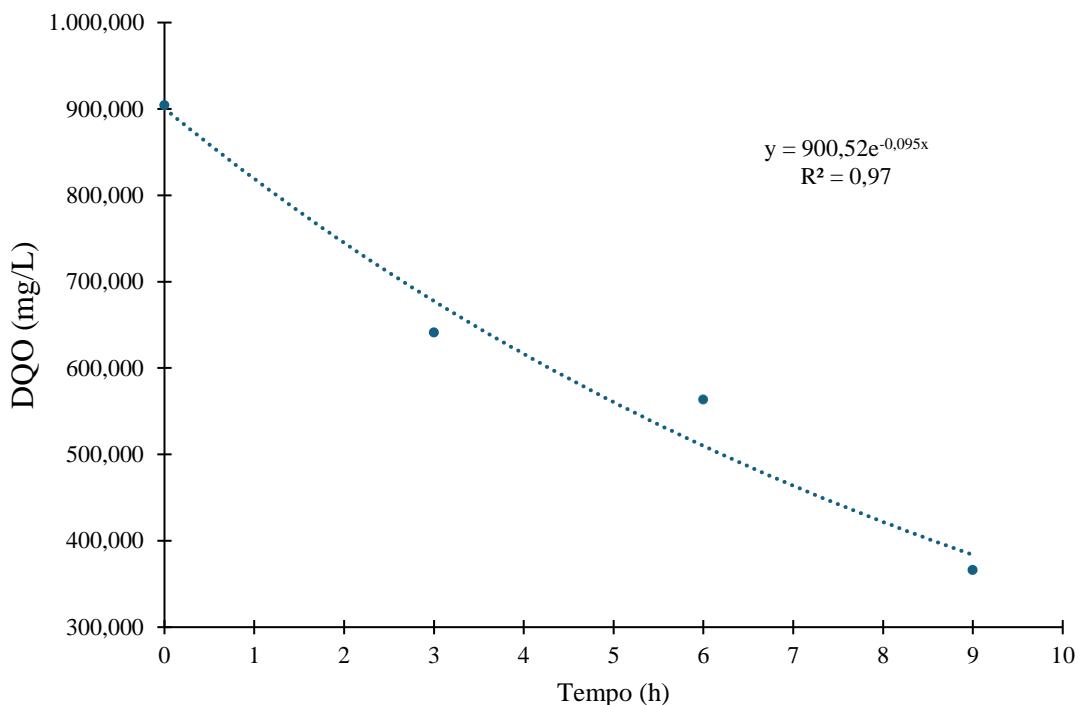


Figura 11 - Decaimento da demanda química de oxigênio (**DQO**) de lodos gerados por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.

3.4.7 Determinação da turbidez e da velocidade de sedimentação do lodo

O processo de fermentação alterou a turbidez da água ($P<0,01$). A amostra de lodo da dieta controle apresentou os maiores valores de turbidez, seguidos pelos lodos pertencentes às dietas 3 h e 6 h respectivamente ($P<0,01$). Ao passo que os menores valores de turbidez foram apresentados em amostras de lodo da dieta 9 h (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores médios de turbidez (NTU) de amostras de lodo provenientes de juvenis de trucha arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* alimentados com dietas fermentadas após 60 dias de serem criados em um sistema com recirculação de água. (Média¹ ± Desvpad).

Parâmetro	Dieta Experimental			
	² D. Controle	³ D.F.3 horas	⁴ D.F.6 horas	⁵ D.F.9 horas
Turbidez (NTU)	266,33±5,68a	195,33±9,60bc	184,67±12,22cd	167,33±3,78d

¹Médias seguidas de letras diferentes, na mesma linha, são significativamente diferentes ($p<0,05$) pelo teste de Tukey; ²Dieta controle (ração comercial 45% PB sem fermentar); ³Dieta fermentada durante 3 horas; ⁴Dieta fermentada durante 6 horas; ⁵Dieta fermentada durante 9 horas.

Por sua vez, na avaliação das diferentes amostras dos lodos pelo *Jar test* foi observado que a velocidade de sedimentação das partículas do lodo, influenciou na turbidez remanescente (Figura 12). O lodo das dietas controle e dieta fermentada por 6 horas apresentaram maior velocidade de sedimentação que o lodo das dietas fermentadas por 3 e 9 horas.

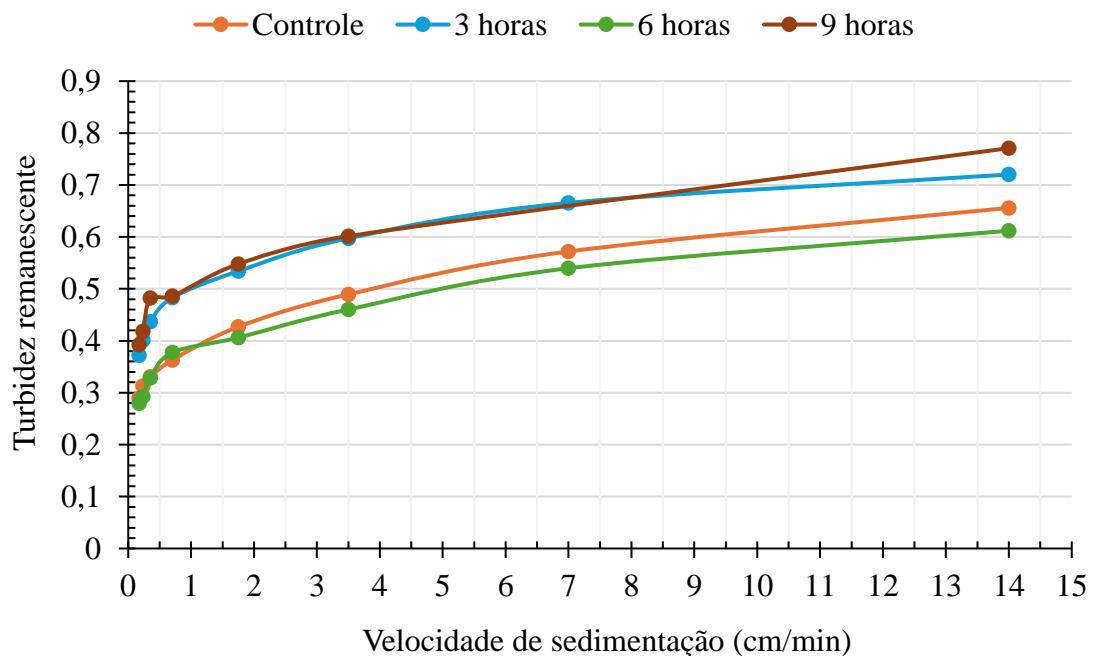


Figura 12. Variação da turbidez remanescente* em função da velocidade de sedimentação do lodo produzido por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água. *Quantidade de partículas em suspensão que permanecem na coluna da água após processo de tratamento e que não foram completamente removidas. Quanto menores os níveis de turbidez, maior será a transparência da água.

3.2.8 Determinação da turbidez remanescente causada pelo lodo

A figura 13 representa os valores de turbidez remanescente em função do tempo que demoram as partículas para sedimentar. Tanto no início como no final das series de tempos determinadas no experimento, observa-se claramente como as partículas tanto do lodo da dieta controle como da dieta 6 horas sedimentam em menor tempo que as demais amostras de lodo (lodo 3 horas e lodo 9 horas). Ao final dos 40 minutos, a turbidez remanescente foi 28% menor para lodo controle e lodo 6 horas enquanto para o lodo 3 h e 9 horas a turbidez remanescente foi ao redor de 40%.

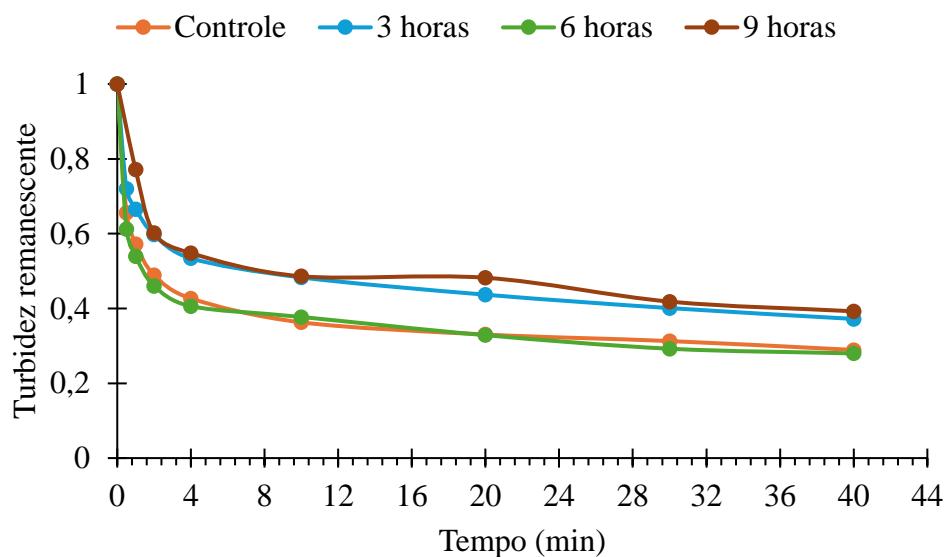


Figura 13 - Variação da turbidez remanescente em função do tempo de sedimentação do lodo produzido por juvenis de truta arco íris alimentados com dietas fermentadas em um sistema com recirculação de água.

4. 5 DISCUSSÃO

4.1 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS NO LODO

A presença de bactérias ácido-lácticas (BAL) no lodo já é um indicador importante de saúde intestinal de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Apesar de não haver sido detectadas diferenças significativas entre as amostras de lodo oriundas das dietas fermentadas. O crescimento populacional de BAL aumenta em densidade a medida que estas colonizam a parte posterior do trato gastrointestinal precisamente onde há condições anaeróbicas e substratos para fermentar (RINGØ et al., 2018; ZHANG et al., 2024). Muito provavelmente o substrato para seu desenvolvimento como fibras estava exaurido o que pode haver afetado seu crescimento em níveis significativos. De fato, os resultados da análise bromatológica dos lodos, especificamente da poção de fibra tampouco foram capazes de detectar diferenças significantes entre os tratamentos. Um aspecto positivo de fermentação, foi a não verificação da presença de bactérias heterotróficas nem de *E.coli* em níveis significativos nas amostras de lodo pertencente às dietas experimentais. Estes benefícios das BAL também foram confirmados com a inoculação da bactéria probiótica *Lactobacillus paracasei* em dietas para alevinos de truta arco-íris (LOPEZ CAZORLA et al., 2015). Os autores analisando as fezes das trutas observaram uma diminuição de fungos e de enterobactérias e paralelamente um aumento das BAL. Um dos mecanismos das BAL que ajudam a diminuir a presença de microrganismos patogênicos é a redução do pH do meio, o que é um indicador da produção de ácidos orgânicos como o ácido láctico, pirúvico, acético, entre outros (DEGEES et al., 2001). Em estudos com BAL isoladas dos intestinos da truta arco-íris verificou-se uma redução significativa da mortalidade devido ao *Lactococcus garvieae*, oferecendo uma alternativa para o controle dessa bactéria patogênica nos animais (PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2011; DIDINEN et al., 2018).

Portanto, o crescimento das BAL nos lodos não variou em função do tempo de fermentação, isso provavelmente tenha sido devido à composição centesimal da ração para truta arco-íris que se caracteriza por altos níveis de proteína bruta (45% PB) e baixos teores de carboidratos que tenha limitado a colonização das BAL nas diferentes amostras de lodos.

4.2 COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO LODO

Na composição centesimal do lodo, foi encontrado um aumento no teor de proteína bruta (PB) entre as amostras de lodo pertencentes às dietas fermentadas. A contribuição do

aumento do teor de PB provavelmente foi devida a restos de ração que tenha escapado da captura pelos peixes e acabaram acumulando-se com os lodos.

Há poucos reportes de literatura sobre como o processo de fermentação incrementa o conteúdo em proteína de lodos de piscicultura, não obstante, em cama aviária de frango foi demonstrado que a incorporação da levedura *Candida utilis* em seu processo fermentativo, melhorou a qualidade nutricional do material associado a um incremento no conteúdo de proteína (EL-DEEK et al., 2009). Em outro estudo, a co-digestão de esterco de vaca leiteira e de aves de postura para produção de biogás, houve melhoria no perfil nutricional das classes de resíduos reflexados em aumento do teor de proteína bruta que foi devido à liberação de nitrogênio de frações não nitrogenadas, além da proteína unicelular microbiana que se desenvolveu durante o processo anaeróbio (CHOMI et al., 2015).

De acordo com os resultados e as evidências da literatura se pode afirmar que as bactérias probióticas para a truta arco-íris, continuaram a crescer além da ração comercial fermentada. Uma vez sua população aumentou significativamente no sistema digestivo dos peixes e sua ação metabólica fermentativa provavelmente ajudou na assimilação de nutrientes para o peixe. Apesar disso, muitos dos nutrientes escapam do processo de digestão e compõem a matéria orgânica que se fermenta e mineraliza por ação das BAL remanescentes. Alguns minerais como P, Ca e Mg aumentaram nos lodos das dietas fermentadas como evidenciado pelas análises de macro e microminerais. Por isso, a continuação do processo fermentativo pelas BAL nos lodos foi importante porque se aumentou o valor nutricional do lodo, tornando-o um recurso mais valioso para aplicações agrícolas.

Por outro lado, conforme com os resultados das análises bromatológicas e de elementos minerais dos lodos, indicam que a ração atualmente comercializada para a produção de truta arco-íris comumente cultivada em raceway no Brasil, apresenta concentrações consideráveis em nutrientes que o animal não aproveita eficientemente, razão pela qual uma quantidade significativa macro e micronutrientes inorgânicos como o fósforo ou sob a forma de sólidos suspensos são liberados ao ambiente aquático. Nesse sentido, as formulações de rações devem ser modificadas e confeccionadas com ingredientes de maior digestibilidade ou normativas mais estritas que limitem a carga de nutrientes dos efluentes devem ser necessárias (HARDY & KAUSHIK, 2022).

4.3 DETERMINAÇÃO DE MACRO E MICROMINERAIS PELA METODOLOGIA DE TEDESCO

A caracterização físico-química dos lodos de truta arco-íris envolve a análise de seu teor de nutrientes e metais. Essa caracterização é importante para entender seu potencial uso como fertilizante e seu impacto ambiental. De acordo à análise da composição química, os lodos provenientes das rações fermentadas apresentaram maior concentração em nitrogênio que o lodo de amostras da ração controle. Provavelmente o teor mais elevado de nitrogênio provém da biomassa bacteriana que se desenvolveu devido a processos fermentativos sobre a ração. Os teores de N nos lodos fermentados variaram entre 5,4% a 5,91% ao passo que o teor de N do lodo normal foi de 5,26%. Esta diferença permitiu incrementos que vão desde 2,6% a 10,9%. Ao comparar dados de estudos sobre a composição química de fezes em truta arco-íris. Observa-se que os teores de N reportados por Moccia et al. (2007) são similares ao conteúdo de N do lodo não fermentado, ao passo que, o teor de N dos lodos fermentados foi superior. Isso indica que a inoculação de microrganismos probióticos na ração promoveu aumento nos teores de N dos lodos fermentados. Em outro estudo tempo atras Naylor et al. (1999) reporto valores de N fecal na ordem de 2,83% bem menores ao presente estudo

4.4 DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS NA RAÇÃO E LODOS

De acordo com os valores máximos permitidos de elementos químicos tóxicos provenientes de fontes de lodo destinadas ao uso agronômico, estabelecidos pela Resolução No 375 do CONAMA de 2006. Observou-se que os níveis de cobre na caracterização do lodo de truta arco-íris estão bem abaixo do limite estabelecido, que é de 1500 mg kg^{-1} para uso agrícola. Isso, sugere que a dose aplicada pode ser aumentada até 12 vezes sem ultrapassar o nível crítico deste elemento. Para o elemento zinco, cujo limite máximo permitido é de 2800 mg kg^{-1} , verificou-se que as concentrações encontradas nas amostras de lodo avaliadas foram duas vezes inferiores ao limite estabelecido. Em relação ao chumbo, as leituras da concentração máxima deste elemento estão 36% abaixo do limite permitido, que é de 300 mg kg^{-1} de lodo seco, conforme estabelecido pela Resolução No 375 de CONAMA. Já para o Cádmio, cujo limite máximo permitido é de 39 mg kg^{-1} de lodo seco, o conteúdo máximo determinado na análise foi de 8,8 vezes inferior ao limite, indicado que este elemento está presente em quantidades mínimas. Portanto, todos os teores de metais pesados mensurados encontram-se abaixo dos limites estipulados pela da Resolução No 375 do CONAMA para elementos químicos tóxicos provenientes de fontes de lodo destinadas ao uso agronômico.

Em estudo realizado por Moccia et al. (2007), ao avaliar a composição química de fezes de truta arco-íris (peso inicial 400 g) alimentada com três tipos de rações comerciais canadense. Detectou-se que uma das amostras de lodo dessas rações apresentavam níveis mais elevados de Cu, Fe e Zn que outras. Contudo, ao comparar esses dados com os resultados do presente estudo, constatou-se que as concentrações de todos os elementos analisados (Cd, Cu, Mn, Fe, Pb e Zn) foram 2,8; 2,6; 1,3; 8,5; 35,5 e 2,2 vezes superiores, respectivamente, às concentrações observadas nos lodos de rações canadenses. Além disso, Moccia et al. (2007), avaliaram também metais pesados nas três rações comerciais canadenses para truta arco-íris, eles encontraram que a maioria desses elementos estavam abaixo do limite de detenção, exceto para o Cu,e Zn. Quando comparado os valores de metais pesados dessas rações canadenses com a ração comercial fermentada para juvenis de truta arco-íris. Foram detectados níveis de Cd, Fe e Pb 2,0; 4,4 e 13,6 vezes mais altos que o estudo de Moccia et al. (2007). Muito provavelmente, alguns desses metais pesados como o Cd e Pb, os juvenis de truta arco íris podem estar bioacumulado devido à ingestão de ração contaminada por metais pesados. Assim como verificado por Majlesi et al. (2019 e Lehel et al. (2024) em truta arco-íris alimentada com ração com altos teores de metais pesados e subsequentemente acumulo nos peixes.

Cabe a indústria brasileira de rações para peixes carnívoros como a truta arco-íris tomar medidas necessárias para garantir a qualidade nutricional e proteger a ração de contaminação. Ainda necessitam melhorar a digestibilidade de seus ingredientes, bem como aprimoramento na adição de elementos traço às formulações de suplemento premix -mineral atualmente disponíveis no mercado. Nesse sentido, entre as fontes de contaminação por metais pesados figura a corrosão de equipamentos, e principalmente a proveniente de aditivos incorporados na formulação da ração (GLENROSS et al., 2020; YANG et al., 2024).

Em um estudo conduzido por Sarkar et al. (2022) avaliando a presença de metais pesados em rações utilizadas em pisciculturas em Bangladesh, encontraram níveis abaixo da normatividade para ração animal e de aquicultura nesse país. No entanto, em outro estudo em Bangladesh, foram encontrados níveis aumentados de Cd e Pb em ração para tilápia nilótica que ultrapassaram os limites preconizados pela Organização Mundial da Saúde (WHO) e pela Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA). Alguns dos fabricantes de rações sempre estão aquém dos padrões exigidos para a fabricação de rações para peixes e, de muitas maneiras, os ingredientes usados na produção de rações são frequentemente contaminados com metais pesados (ADENIJI; OKEDEY, 2017; GLENROSS et al., 2020). O Brasil é um dos principais produtores mundiais de milho, soja e seus subprodutos, o qual fornece insumos para a

fabricação de ração animal (AVILEIS; MALLORY, 2022). No entanto, sua agricultura moderna baseia-se no uso intensivo de fertilizantes e pesticidas empregados para proteger as culturas (GABOARDI et al., 2023; Souza et al., 2023). Como resultado, muitos resíduos químicos percolam-se e persistem nos solos agriculturáveis. Subsequentemente, diversas culturas utilizadas como fonte de ingredientes para a aquicultura crescem em solos contaminados por metais pesados, resultando na translocação desses elementos para as plantas cultivadas (EMENIKE et al., 2022). Inclusive, metais pesados podem ser transferidos para os seres humanos através do consumo de produtos de origem animal contaminados, como os peixes. Isso destaca a importância de garantir alimentos seguros para os animais durante a produção. Este problema é um desafio crítico e persistente para a sustentabilidade da aquicultura no Brasil, especialmente considerando que os consumidores estão cada vez mais conscientes e exigentes quanto à qualidade dos alimentos e aos processos envolvidos em sua produção.

De acordo com Araujo et al. (2021), alevinos de truta arco-íris para satisfazer seus requerimentos nutricionais demanda $1,4 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cobre; $19,0 \text{ mg kg}^{-1}$ em Manganês, $0,35 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zinco e $1,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de Selênio, entre outros. No entanto, ao comparar esses microminerais com os valores determinados na análises de amostras de ração comercial, observou-se que Cu estava 90%, o Mn 99,5% e Zn 99,2% mais elevados que os requerimentos desses elementos traça para a alevinos de truta arco-íris. Isso indica que o premix mineral utilizado na formulação de ração comercial para a truta arco-íris está muito além das reais necessidades da espécie. Além disso, grande parte desses elementos que o peixe não assimila, é excretada, contribuindo para a poluição dos corpos hídricos.

A quantificação de metais pesados tanto na ração como no lodo de truta evidenciou a presença de cádmio que podem ocorrer como resultado do uso de fertilizantes durante a produção de cereais utilizados na fabricação de ração para peixes (CHOI et al., 2019). No trabalho não foi mensurado o mercúrio, mas este elemento geralmente é uma preocupação em ingredientes como a farinha de peixe (HARDY & KAUSHIK, 2022).

Concentrações de determinados minerais podem ser tóxicos para os peixes quando presentes em elevados níveis na ração. Entre os requerimentos dietéticos, alguns minerais como selênio, ferro, cobre e zinco e manganês são essenciais para o crescimento e saúde dos peixes, mas tornam-se tóxicos quando presentes em altos níveis (NRC, 2011).

Na análise de metais pesados foi observada a presença de Cd, Mn, Fe, Pb e Zn em níveis levemente maiores nas dietas fermentadas que na dieta controle. Estes elementos normalmente

são constituintes do premix mineral utilizado como suplemento na alimentação dos peixes, e nos últimos tempos, as rações estão sendo formuladas cada vez mais com ingredientes proteicos de origem vegetal, o que demanda maior nível de suplementação mineral (HARDY; KAUSHIK, 2022) e muitas vezes há excessos desses metais pesados que podem ser liberados dos equipamentos normalmente empregados na fabricação da ração animal e causar efeitos adversos quando se ultrapassa o limiar tolerado pelos peixes (BAEVERFJORD et al., 2019).

As concentrações de elementos como Cu, Mn, Zn estavam 77%, 80% e 85% maiores aos requerimentos dietéticos para alevinos de truta arco-íris (NRC, 2011). Observa-se altas concentrações no teor de teor de Fe que estava 24 vezes mais alto que seu requerimento dietário. Estes altos valores encontrados podem ser devidos à inclusão de farinha de peixe em dietas para peixes carnívoros como a truta arco-íris, embora no rotulo da ração comercial, a composição do premix reporta um teor mínimo de Fe de 45 mg kg^{-1} que atende aos requerimentos para a truta arco-íris ($30\text{-}60 \text{ mg kg}^{-1}$) (ROJAS-SANDOVAL, 2022). No entanto, dependendo da qualidade da farinha de peixe pode ter concentrações de Fe maiores a 300 mg kg^{-1} (SOEVIK et al., 1981). Dependendo da tecnologia e da variabilidade da matéria prima utilizada na elaboração da farinha de peixe, pode afeitar a o conteúdo em cinzas ou minerais e elevar os valores de Fe (De LIMA, 2012). A contaminação cruzada por equipamentos ou com outros alimentos tampouco pode ser descartada.

4.5 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO₅) e demanda química de Oxigênio (DQO)

Os lodos das dietas fermentadas apresentaram menores valores de DBO, a quantidade de oxigênio utilizado para estabilizar a matéria orgânica foi um 7%, 21% e 35% menor entre as amostras de lodo das dietas 3, 6 e 9 horas em relação a amostras de lodo da dieta controle. Estes menores valores de DBO foram corroborados pela análise da DQO onde foi observada uma alta correlação (97%) entre a diminuição do consumo de oxigênio pelas amostras de lodo em função do tempo de fermentação das dietas experimentais. O que significa que a de matéria orgânica (M.O) dos lodos sofreu processos de mineralização por parte dos microrganismos, ou seja, os lodos excretados pelos peixes muito provavelmente já estavam parcialmente digeridos ou oxidados. O que indica que demanda por O₂ para oxidar a M.O dos lodos das dietas fermentadas era menor que a demanda pelo gás do lodo da dieta controle. De fato, muitos dos macros e microminerais determinados no laboratório de análise de solos da UDESC como o Ca⁺², Mg⁺², K⁺, Na, Mn foram encontrados em maior concentração o que corrobora o grau de mineralização da M.O nos lodos provenientes dos peixes que foram alimentados com as dietas fermentadas.

4.6 Turbidez remanescente e velocidade de sedimentação do lodo

De acordo com os resultados apresentados pela figura 22, o processo de fermentação das dietas influenciou na velocidade de sedimentação dos lodos. Observa-se que para a amostra controle, 50% das partículas possuem velocidade de sedimentação na ordem de $4,0 \text{ cm min}^{-1}$. Para a amostra de tempo 6 horas, esse valor foi próximo de $5,0 \text{ cm min}^{-1}$, e para as amostras de 3 e 9 horas, foi na ordem de $1,0 \text{ cm min}^{-1}$. O anterior significa que a amostra de 6 horas estava constituída de partículas maiores/mais densas, isto é, quanto maior a magnitude da densidade entre as partículas dos lodos de cada dieta, a que tenha mais densidade sedimentará a uma maior velocidade. Por outra parte, as amostras, controle e 6 horas apresentaram por volta de 28% de partículas com velocidade menor que $0,175 \text{ cm min}^{-1}$ e as amostras de 3 e 9 horas em torno de 38% apresentaram velocidade menor que $0,175 \text{ cm min}^{-1}$. Quer dizer que as amostras de lodo 3 e 9 horas apresentaram uma maior turbidez remanescente, ou seja, havia um maior fracionamento dos sólidos na coluna da água. Um aumento na turbidez da água obstaculiza a visualidade dos peixes em capturar o alimento e no manejo por parte dos funcionários (NOBLE et al., 2020). Além de interferir na qualidade da água (DALSGAARD; PEDERSEN (2011).

O processo de fermentação além de alterar as características químicas do lodo pode também, modificar as propriedades físicas dos lodos como a densidade que está diretamente relacionada com a distribuição da velocidade de sedimentação (WONG; PIEDRAHITA, 2000; CORTES et al., 2022). Em termos práticos, entre as amostras de lodo avaliadas, a dieta fermentada por 6 horas, proporcionou maior estabilidade fecal e maior velocidade de sedimentação das partículas. O que sugere que a truta arco-íris alimentada com dietas fermentadas durante 6 horas, produz sólidos que se fragmentam menos, favorecendo uma maior transparência da água e, sedimentam a maior velocidade. O que facilita o processo de remoção mais rapidamente e com isso, a qualidade da água se preserva melhor.

5 CONCLUSÕES

O processo de fermentação não altera o crescimento das BAL entre as amostras de lodo avaliadas.

A inoculação das bactérias ácido lácticas *Lb. Acidophilus* e *La. rhamnosus* melhora o perfil bromatológico do lodo, promovendo um aumento significativo nos teores de matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo e energia bruta, evidenciando seu potencial de nutrientes para futuras aplicações.

A fermentação de ração comercial com bactérias ácido lácticas age sobre a qualidade do lodo produzido por juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Altera suas características físico-químicas. Observa-se um aumento na capacidade de troca catiônica, bem como no teor de elementos essenciais como fósforo, enxofre, cálcio, cobre, zinco e manganês. Essas mudanças podem contribuir para um lodo mais rico em nutrientes, tornando um resíduo em um recurso. Que possibilita a produção de produtos comerciais que auxiliem na compensação dos custos operacionais do empreendimento aquícola.

A fermentação aumenta os teores de Cd nos lodos das dietas fermentadas por 6 e 9 horas e, de forma similar, eleva os níveis de Pb em todas as amostras de lodo das dietas fermentadas. Contudo, os teores desses metais pesados permanecem abaixo dos níveis estabelecidos pela resolução CONAMA 375/06.

A demanda de oxigênio para estabilizar a matéria orgânica reduz conforme o tempo de fermentação das dietas, resultando na diminuição dos valores da DBO e a DQO entre as amostras de lodo oriundas das dietas fermentadas.

A dieta fermentada por 6 horas produz sólidos que ajudam a reduzir a turbidez remanescente, favorecendo uma maior transparência da água. Além disso, aumenta a velocidade de sedimentação, acelerando o processo de remoção e preservando a qualidade da água.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A incorporação de microrganismos em ração comercial animal é uma tecnologia viável que pode aumentar a eficiência da gestão dos resíduos ou lodos gerados por peixes quando criados em sistemas intensivos com recirculação de água (RAS). Isto é, aumentar a extração de nutrientes principalmente o nitrogênio e o fósforo e assim, ajudar a minimizar o potencial poluidor dos lodos e de rações que se caracterizam por apresentar alta concentração de proteína bruta que são destinadas à alimentação de espécies carnívoras com a truta arco-íris. Desse modo, os lodos provenientes de rações fermentadas concentram mais nutrientes os quais não devem ser mais vistos como um problema, mas sim como uma oportunidade para reduzir custos operacionais.

Futuros trabalhos de pesquisa podem avaliar o potencial dos lodos para produzir produtos com alto valor de mercado como biogás, fertilizantes orgânicos recuperadores do solo, compostagens, soluções concentradas de macro e micronutrientes para produção de microalgas, cogumelos ou fruteiras de clima temperado ou como matéria-prima para a produção de farinha de insetos e, dessa forma, tornar o modelo da truticultura mais sustentável. No entanto, o processo de fermentação tem seus limites e outros aspectos como a qualidade da ração para a truta arco-íris deve ser melhorada, aumentando a digestibilidade dos nutrientes contidos nos ingredientes e, assim, a eficiência alimentar. Rações mais ajustadas aos requerimentos nutricionais da truta arco-íris e com nutrientes mais biodisponíveis para o animal possa aproveitar melhor devem ser promovidas entre os fabricantes de ração animal.

REFERÊNCIAS

- ADENIJI, C. A.; OKEDEYI, O. O. Preliminary assessment of heavy metal concentrations in selected fish feed ingredients in Nigeria. **Journal of Fisheries & Livestock Production**, v. 5, n. 1, p. 1-4, 2017.
- ARAUJO, B. C.; SYMONDS, J. E.; GLENROSS, B. D.; CARTER, C. G.; WALKER, S. P.; MILLER, M. R. A review of the nutritional requirements of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 57, n. 2, p. 161-190, 2023.
- AVILEIS, F. G.; MALLORY, M. L. The impact of Brazil on global grain dynamics: A study on cross-market volatility spillovers. **Agricultural Economics**, v. 53, n. 2, p. 231-245, 2022.
- AXLER, R.; TIKKANEN, C.; HENNECK, J.; SCHULDT, J.; McDONALD, M. Characteristics of effluent and sludge from two commercial rainbow trout farms in Minnesota. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 59, p. 161-172, 1997.
- BADIOLA, M.; MENDIOLA, D.; BOSTOCK, J. Recirculating aquaculture systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. **Aquacultural Engineering**, v. 51, p. 26-35, 2012.
- BAEVERFJORD, G.; JESU PRABHU, P. A.; FJELLDAL, P. G.; ALBREKTSEN, S.; HATLEN, B.; DENSTADLI, V.; WAAGBØ, R. Mineral nutrition and bone health in salmonids. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 740-765, 2019.
- BASHIR, O.; ALI, T.; BABA, Z. A.; RATHER, G. H.; BANGROO, S. A.; MUKHTAR, S. D.; BHAT, R. A. Soil organic matter and its impact on soil properties and nutrient status. In: **Microbiota and Biofertilizers: Ecofriendly Tools for Reclamation of Degraded Soil Environ**, v. 2, p. 129-159, 2021.
- BECKE, C.; SCHUMANN, M.; STEINHAGEN, D.; ROJAS-TIRADO, P.; GEIST, J.; BRINKER, A. Effects of unionized ammonia and suspended solids on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 499, p. 348-357, 2019.
- BIOTTA, G. S.; BRAZIER, R. E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 2849-2861, 2008.
- BLANCO CACHAFEIRO, M. C. **La trucha: cría industrial**. Madrid: Ediciones Omega, 1995.
- BOYD, C. E.; D'ABRAMO, L. R.; GLENROSS, B. D.; HUYBEN, D. C.; JUAREZ, L. M.; LOCKWOOD, G. S.; VALENTI, W. C. Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 3, p. 578-633, 2020.
- BOYD, C.; McNEVIN, A. **Aquaculture, Resource Use, and the Environment**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2015.

- BRINKER, A.; FRIEDRICH, C. Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed. Part II: Effects on faeces stability and rheology. **Biorheology**, v. 49, n. 1, p. 27-48, 2012.
- CARNEIRO, G.; OPAZO, C.; SANTOS, G.; PEREIRA, H.; MONNERAT, G.; OPAZO, R. Influence of lactic-acid bacteria feed supplementation on free amino acid levels in serum and feces of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792). **Frontiers in Marine Science**, 2023.
- CHOI, S. H.; KIM, J. Y.; MI CHOI, E.; LEE, M. Y.; YANG, J. Y.; HO LEE, G.; SU PARK, K. Heavy metal determination by inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP-MS) and direct mercury analysis (DMA) and arsenic mapping by femtosecond (fs)–laser ablation (LA) ICP-MS in cereals. **Analytical Letters**, v. 52, n. 3, p. 496-510, 2019.
- CHOMINI, M. S.; OGBONNA, C. I. C.; FALEMARA, B. C.; MICAH, P. Effect of co-digestion of cow dung and poultry manure on biogas yield, proximate and amino acid contents of their effluents. **Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)**, v. 8, n. 11, p. 48-56, 2015.
- CORTÉS, C.; BARRAZA, J.; MERINO, G. E. Advective transport of solids from a marine fish-rearing tank using gravity-driven effluent pipelines with various flow regimes. **Aquacultural Engineering**, v. 97, 102239, 2022.
- CYRINO, J. E. P.; BICUDO, Á. J. D. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIK, J. K. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.
- DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P. Solid and suspended/dissolved waste (N, P, O) from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 313, p. 92-99, 2011.
- DE LIMA, R. Redução de fósforo em rações para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2010.
- DEGEEST, B.; VANINGELGEM, F.; DE VUYST, L. Microbial physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 747-757, 2001.
- DEL CAMPO, L. M.; IBARRA, P.; GUTIÉRREZ, X.; TAKLE, H. R. Utilization of sludge from recirculation aquaculture systems. **Nofima rapportserie**, 2010.
- DIDINEN, B.; ONUK, E.; METIN, S.; ÇAYLI, Ö. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792), with inhibitory activity against *Vagococcus salmoninarum* and *Lactococcus garvieae*. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, p. 400-407, 2018.
- EL-DEEK, A. A.; GHONEM, K. M.; HAMDY, S. M.; ASER, M. A.; ALJASSAS, F. M.; OSMAN, M. M. Producing single cell protein from poultry manure and evaluation for broiler chickens diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 11, p. 1062-1077, 2009.

EMENIKE, E. C.; IWUOZOR, K. O.; ANIDIOBI, S. U. Heavy metal pollution in aquaculture: sources, impacts and mitigation techniques. **Biological Trace Element Research**, p. 1-17, 2022.

FAO. **Achieving blue growth**. FAO, p. 23, 2018.

FAO. Agriculture Organization of the United Nations. **Fisheries Department. The state of world fisheries and aquaculture**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2024.

GABOARDI, S. C.; CANDIOTTO, L. Z. P.; PANIS, C. Agribusiness in Brazil and its dependence on the use of pesticides. **Hygiene and Environmental Health Advances**, v. 8, 100080, 2023.

GALEZAN, F.; BAYATI, M.; SAFARI, O.; ROHANI, A. Modeling oxygen and organic matter concentration in the intensive rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) rearing system. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, 2020.

HARDY, R. W.; KAUSHIK, S. J. **Fish Nutrition**. 4. ed. Academic Press, 2022.

HASAN, M. R.; NEW, M. B. On-farm feeding and feed management in aquaculture. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, n. 583, 2013.

HJELTNES, B.; BÆVERFJORD, G.; ERIKSON, U.; MORTENSEN, S.; ROSTEN, T.; ØSTERGÅRD, P. Risk assessment of recirculating systems in Salmonid hatcheries. **Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM)**, Doc 09-808, 2012.

KHATER, E. S. G.; ALI, S. A.; BAHNASAWY, A. H.; AWAD, M. A. Solids removal in a recirculating aquaculture system. **Misr Journal of Agricultural Engineering**, v. 28, p. 1178-1196, 2011.

KOKOU, F.; FOUNTOULAKI, E. Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. **Aquaculture**, v. 495, p. 295-310, 2018.

LEHEL, J.; PLACHY, M.; PALOTÁS, P.; BARTHA, A.; BUDAI, P. Possible metal burden of potentially toxic elements in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on aquaculture farm. **Fishes**, v. 9, n. 7, p. 252, 2024.

LETELIER-GORDO, C.; LARSEN, B.; DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P. The composition of readily available carbon sources produced by fermentation of fish faeces is affected by dietary protein: energy ratios. **Aquacultural Engineering**, v. 77, p. 27-32, 2017.

LOPEZ CAZORLA, A.; SICA, M. G.; BRUGNONI, L. I.; MARUCCI, P. L.; CUBITTO, M. A. Evaluation of *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* isolated from Jenyn's sprat (*Ranunculus arcuata*) as probiotic for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 31, n. 1, p. 88-94, 2015.

LOVELL, T. Fish nutrition and feeding experiments. In: **Nutrition and feeding of fish**. Boston, MA: Springer US, 1998. p. 123-134.

MADARIAGA, S. T.; MARÍN, S. L. Sanitary and environmental conditions of aquaculture sludge. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 1744-1750, 2017.

MAJID, M.; JANMOHAMMAD, M.; ENAYAT, B.; AKBARTABAR, T. M. Heavy metal content in farmed rainbow trout in relation to aquaculture area and feed pellets. **Foods and Raw Materials**, v. 7, n. 2, p. 329-338, 2019.

MAJLESI, M.; MALEKZADEH, J.; BERIZI, E.; TOORI, M. A. Heavy metal content in farmed rainbow trout in relation to aquaculture area and feed pellets. **Foods and Raw Materials**, v. 7, n. 2, p. 329-338, 2019.

MARTINS, C. I. M.; EDING, E. H.; VERDEGEM, M. C.; HEINSBROEK, L. T.; SCHNEIDER, O.; BLANCHETON, J. P.; VERRETH, J. A. J. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: a perspective on environmental sustainability. **Aquacultural Engineering**, v. 43, p. 83-93, 2010.

MERICAN, Z.; PHILLIPS, M. Solid waste production from rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson), cage culture. **Aquaculture Research**, v. 16, p. 55-69, 1985.

MERINO, G. E.; PIEDRAHITA, R. H.; CONKLIN, D. E. Settling characteristics of solids settled in a recirculating system for California halibut (*Paralichthys californicus*) culture. **Aquacultural Engineering**, v. 37, p. 79-88, 2007.

MIRZOYAN, N.; TAL, Y.; GROSS, A. Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 306, p. 1-6, 2010.

MONGIRDAS, V.; ŽIBIENĖ, G.; ŽIBAS, A. Waste and its characterization in closed recirculating aquaculture systems—a review. **Journal of Water Security**, v. 3, art. jws2017002, 2017.

MONTANHINI NETO, R.; OSTRENSKY, A. Evaluation of commercial feeds intended for the Brazilian production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): nutritional and environmental implications. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 311-320, 2015.

NGUYEN, L.; WARD, A.; LEWIS, D. Utilisation of turbidity as an indicator for biochemical and chemical oxygen demand. **Journal of Water Process Engineering**, v. 4, p. 137-142, 2014.

NGUYEN, N. T.; VO, T. S.; TRAN-NGUYEN, P. L.; NGUYEN, M. N.; PHAM, V. H.; MATSUHASHI, R.; VO, T. T. B. C. A comprehensive review of aeration and wastewater treatment. **Aquaculture**, art. 741113, 2024.

NOBLE, C.; GISMERVIK, K.; IVERSEN, M. H.; KOLAREVIC, J.; NILSSON, J.; STIEN, L. H.; TURNBULL, J. F. Welfare indicators for farmed rainbow trout: tools for assessing fish welfare. **Aquaculture Research**, 2020.

NRC. Nutrient Requirements of Fish. National Research Council, **The National Academies Press**, Washington, D.C., 2011.

ONOMU, A. J.; OKUTHE, G. E. The role of functional feed additives in enhancing aquaculture sustainability. **Fishes**, v. 9, n. 5, p. 167, 2024.

PÉREZ-SÁNCHEZ, T.; BALCÁZAR, J.; GARCÍA, Y.; HALAIHEL, N.; VENDRELL, D.; BLAS, I.; MERRIFIELD, D.; RUIZ-ZARZUELA, I. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), with inhibitory

- activity against *Lactococcus garvieae*. **Journal of Fish Diseases**, v. 34, n. 7, p. 499-507, 2011.
- PIEDRAHITA, R. H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. **Aquaculture**, v. 226, p. 35-44, 2003.
- RINGØ, E.; HOSEINIFAR, S. H.; GHOSH, K.; DOAN, H. V.; BECK, B. R.; SONG, S. K. Lactic acid bacteria in finfish—an update. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1818, 2018.
- ROJAS-SANDOVAL, J. *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow trout). **CABI Compendium**, 2024. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/71813>.
- ROJAS-TIRADO, P.; PEDERSEN, P. B.; VADSTEIN, O.; PEDERSEN, L. F. Changes in microbial water quality in RAS following altered feed loading. **Aquacultural Engineering**, v. 81, p. 80-88, 2018.
- SARKAR, M. M.; ROHANI, M. F.; HOSSAIN, M. A. R.; SHAHJAHAN, M. Evaluation of heavy metal contamination in some selected commercial fish feeds used in Bangladesh. **Biological Trace Element Research**, p. 1-11, 2022.
- SCHUMANN, M.; HOLM, J.; BRINKER, A. Effects of feeding an all-plant diet on rainbow trout performance and solid waste characteristics. **Aquaculture Nutrition**, 2022.
- SINGH, S.; FERNS, P. Accumulation of heavy metals in rainbow trout *Salmo gairdneri* (Richardson) maintained on a diet containing activated sewage sludge. **Journal of Fish Biology**, v. 13, p. 277-286, 1978.
- SOEVIK, T.; OPSTVEDT, J.; BRAEKKAN, O. R. Biological availability of iron found in fish-meals. **J. Sci. Food Agric.**, v. 32, p. 1063-1068, 1981.
- SOUZA, M. C. O.; CRUZ, J. C.; CESILA, C. A.; GONZALEZ, N.; ROCHA, B. A.; ADEYEMI, J. A.; BARBOSA, F. Recent trends in pesticides in crops: A critical review of the duality of risks-benefits and the Brazilian legislation issue. **Environmental Research**, v. 228, 115811, 2023.
- TACON, A.; METIAN, M.; McNEVIN, A. Future feeds: Suggested guidelines for sustainable development. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 30, p. 271-279, 2021.
- TEROVA, G.; RIMOLDI, S.; ASCIONE, C.; GINI, E.; CECCOTTI, C.; GASCO, L. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gut microbiota is modulated by insect meal from *Hermetia illucens* prepupae in the diet. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 29, p. 465-486, 2019.
- TORRISEN, O.; OLSEN, R. E.; TORESEN, R.; HEMRE, G. I.; TACON, A. G.; ASCHE, F.; LALL, S. Atlantic salmon (*Salmo salar*): the “super-chicken” of the sea? **Reviews in Fisheries Science**, v. 19, n. 3, p. 257-278, 2011.
- WELKER, T.; BARROWS, F. Improved fecal particle size profile in rainbow trout fed feeds containing different ratios of animal meal and plant protein concentrates: Effect on nitrogen and phosphorus partitioning. **North American Journal of Aquaculture**, 2023.
- WOLD, P. A.; HOLAN, A. B.; ØIE, G.; ATTRAMADAL, K.; BAKKE, I.; VADSTEIN, O.; LEIKNES, T. O. Effects of membrane filtration on bacterial number and microbial diversity

in marine recirculating aquaculture system (RAS) for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) production. **Aquaculture**, v. 422, p. 69-77, 2014.

WONG, K. B.; PIEDRAHITA, R. H. Settling velocity characterization of aquacultural solids. **Aquacultural Engineering**, v. 21, n. 4, p. 233-246, 2000.

WU, G. **Principles of Animal Nutrition**. CRC Press, 2018.

YANG, H.; TAN, T.; DU, X.; FENG, Q.; LIU, Y.; TANG, Y.; ZHANG, Y. Advancements in freshwater aquaculture wastewater management: A comprehensive review. **Aquaculture**, art. 741346, 2024.

ZHANG, H.; ZHANG, Q.; LI, Y.; XU, Z. Z.; HUANG, X. Screening of lactic acid bacteria from freshwater fish intestines and their effects on growth, immunity, and disease resistance in zebrafish. **Aquaculture International**, v. 32, n. 2, p. 1647-1664, 2024.