UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

VITÓRIA APARECIDA GONÇALVES

ESTUDO DE CASO - MATURAÇÃO DE BIOFILTROS EM RAS: INFLUÊNCIA DE SUBSTRATOS COM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE HORTELÃ-VERDE (*Mentha spicata*)

ALEGRE
ESPÍRITO SANTO
2026

VITÓRIA APARECIDA GONÇALVES

ESTUDO DE CASO - MATURAÇÃO DE BIOFILTROS EM RAS: INFLUÊNCIA DE SUBSTRATOS COM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE HORTELÃ-VERDE (*Mentha spicata*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Profa. Dra. Taís da Silva Lopes

ALEGRE
ESPÍRITO SANTO
2026

VITÓRIA APARECIDA GONÇALVES

ESTUDO DE CASO - MATURAÇÃO DE BIOFILTROS EM RAS: INFLUÊNCIA DE SUBSTRATOS COM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE HORTELÃ-VERDE (*Mentha spicata*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em 10 de julho de 2026

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br
TAIS DA SILVA LOPES
Data: 17/07/2026 20:23:37-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Taís da Silva Lopes
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Documento assinado digitalmente
gov.br
PRISCILLA CORTIZO COSTA PIERRO
Data: 21/07/2026 11:46:42-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Priscilla Cortizo Costa Pierro
Instituto Federal do Espírito Santo

Documento assinado digitalmente
gov.br
MARIA VERONICA PACHECO
Data: 17/07/2026 20:45:08-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Eng. de Aquicultura Maria Verônica Pachêco
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Valquíria, e ao meu pai, Jorge, que não mediram esforços para que eu tivesse a oportunidade de me dedicar aos meus estudos. Graças ao amor, ao apoio e à confiança de vocês, tive força para chegar até aqui. Sei de tudo o que fizeram por mim, e esta conquista também é de vocês.

"A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original".

Albert Einstein.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder força, sabedoria e por me guiar ao longo dessa jornada. Em momentos desafiadores, foi a fé que me manteve firme para seguir em frente.

Aos meus pais, por todo o amor, apoio e pelos esforços incansáveis para que eu pudesse chegar até aqui. Cada incentivo, cada renúncia e cada gesto de cuidado foram essenciais para essa conquista. Tudo o que sou e alcanço tem muito de vocês.

Aos meus avós, tios e irmãos, pelo carinho, apoio e companheirismo ao longo dessa trajetória. A presença, o incentivo e os momentos em família foram fundamentais para tornar essa caminhada mais leve, especial e significativa, renovando minhas energias nos momentos em que mais precisei.

Ao meu namorado, Layon, pelo apoio, paciência e por estar comigo em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis. Sua presença, incentivo e compreensão foram essenciais para que eu não desistisse diante dos desafios.

À minha orientadora, Profª Dr. Tais Lopes, pela orientação, dedicação e paciência durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço pelos ensinamentos, pela confiança e por toda contribuição para a minha formação acadêmica e profissional.

Ao grupo Aquali, pelos aprendizados proporcionados ao longo da minha jornada acadêmica e pela oportunidade de fazer parte dessa equipe. As experiências vividas e a troca de conhecimentos contribuíram significativamente para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao pessoal do Laboratório de Bromatologia, pela convivência, apoio e colaboração durante essa trajetória, em especial à Elziane, por toda a ajuda, paciência e disposição em auxiliar sempre que necessário. Sua contribuição foi fundamental para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos, em especial Liz, Beatriz e Jheyly, pelo apoio, parceria e por estarem presentes nessa caminhada. O tempo, incentivo e carinho que cada um pôde oferecer foram extremamente valiosos e fizeram toda a diferença para a realização deste trabalho.

RESUMO

Os sistemas convencionais de aquicultura enfrentam desafios devido ao elevado consumo hídrico e descarte de nutrientes nos corpos hídricos. O Sistema de Recirculação Aquícola (RAS) surge como alternativa sustentável, tratando e reutilizando a água. O objetivo deste estudo de caso foi avaliar a influência de dois substratos, com ou sem a presença de hortelã-verde (*Mentha spicata*), na estimativa de bactérias nitrificantes durante a maturação de biofiltros. Foram utilizadas duas unidades de RAS, cada uma equipada com filtros biológicos contendo dois tipos de mídias: brita 1 e mídia comercial MBRR2. A unidade 1 recebeu seis mudas de hortelã-verde, enquanto a unidade 2 manteve-se sem a presença de planta. A maturação dos biofiltros foi acompanhada durante 35 dias, com monitoramento diário de temperatura, oxigênio dissolvido, pH, sólidos totais dissolvidos (TDS) e condutividade elétrica (CE). A estimativa populacional de Bactérias Oxidadoras de Amônia (BOA) e de Nitrito (BON) foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP) no início e ao final do período, utilizando um controle de esterilidade (branco) com água destilada, para validar a assepsia do processo. Os parâmetros físico-químicos de qualidade da água mantiveram-se dentro da faixa ideal para a atividade das bactérias nitrificante. A presença da hortelã-verde promoveu uma redução acentuada nos níveis de amônia e nitrito, evidenciando seu papel como substrato complementar. A brita sem planta apresentou a maior densidade de BOA (1100 NMP/mL), enquanto a brita com planta favoreceu a maior população de BON (120 NMP/mL). Conclui-se que a integração da *Mentha spicata* reduz o período de maturação dos biofiltros, verificado pela maior capacidade nitrificante, e que a brita é um substrato economicamente viável e eficiente para a colonização microbiana em sistemas RAS.

Palavras-chave: Piscicultura capixaba. Aquaponia. Microbiologia. Biofiltração. Qualidade da água.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS vii
LISTA DE FIGURAS viii
1 INTRODUÇÃO 1
1.1 Objetivos 2
1.1.1 Objetivo geral 2
1.1.2 Objetivos específicos 3
2 REVISÃO DE LITERATURA 4
2.1 Aquicultura: Cenário Atual e Sustentabilidade 4
2.2 Sistemas de Recirculação de Água (RAS) 6
2.3 Qualidade da Água 8
2.4 O Ciclo do Nitrogênio 10
2.5 Substratos naturais e Mídias comercial de Biofiltração 11
2.6 Maturação do Biofiltro 13
2.7 Interação Planta-Bactéria 14
3 MATERIAL E MÉTODOS 17
3.1 Local e montagem dos sistemas 17
3.2 Parâmetros físico-químicos da água 19
3.3 Estimativa de BOA e BON 22
3.4 Desenvolvimento das plantas 27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 28
4.1 Parâmetros físico-químicos 28
4.2 Bactérias nitrificantes 35
4.3 Desenvolvimento da Hortelã-Verde (Mentha spicata) 39
5 CONCLUSÃO 42
6 REFERÊNCIAS 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das soluções estoque utilizadas no preparo do meio de cultura para bactérias oxidadoras de amônia. 24

Tabela 2. Composição das soluções estoque utilizadas no preparo do meio de cultura para bactérias oxidadoras de nitrito. 25

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos da água que foram avaliados em nossas unidades com e sem hortelã-verde durante o período de maturação. 28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Modelo de sistema de recirculação aquícola (RAS). 7

Figura 2. Parâmetros físico-químicos chave a serem monitorados em RAS. 10

Figura 3. Unidades experimentais 1 e 2 do Sistema de Recirculação de Água (RAS), vedadas com papel pardo e tela de sombreamento (80%) para controle da luminosidade, destacando os principais componentes do sistema: A) tanque de cultivo; B) biofiltro; C) filtro mecânico; D) conexões hidráulicas; e E) bomba submersa. 18

Figura 4. (A) Oxímetro digital para determinação do oxigênio dissolvido e temperatura da água; (B) pHmetro para aferição do pH;(C–D) medidor digital B-MAX para determinação da condutividade elétrica e dos sólidos totais dissolvidos (TDS). 20

Figura 5. Análises dos compostos nitrogenados: nitrito (a) amônia (b), nitrato (c), realizados no laboratório de Bromatologia Animal, UFES - Campus Alegre, por colorimetria. 21

Figura 6. Fluxograma esquemático das etapas de análise de estimativa de bactérias nitrificantes. 22

Figura 7. Procedimento de remoção do biofilme por escovação suave dos substratos filtrantes. 23

Figura 8. Dinâmica temporal das concentrações da amônia na água dos sistemas experimentais durante o período de maturação dos biofiltros. 31

Figura 9. Dinâmica temporal das concentrações de nitrito na água das unidades de RAS durante o período de maturação dos biofiltros. 32

Figura 10. Acúmulo progressivo das concentrações de nitrato na água dos sistemas experimentais como indicador de fechamento do ciclo do nitrogênio. 34

Figura 11. Densidade populacional de Bactérias Oxidadoras de Amônia (BOA) nos substratos avaliados, com e sem a presença de plantas, ao início (0 dias) e ao final (30 dias) do período de maturação dos biofiltros. 36

Figura 12. Densidade populacional de Bactérias Oxidadoras de Nitrito (BON) nos substratos avaliados, com e sem a presença de plantas, ao início (0 dias) e ao final (30 dias) do período de maturação dos biofiltros. 38

Figura 13 – Desenvolvimento da Mentha spicata nos substratos Brita (A) e Mídia Comercial MBRR2 (B) após 35 dias. 40

1 INTRODUÇÃO

O aumento na demanda global por alimentos exige que a produção agropecuária cresça de forma sustentável, minimizando a degradação ambiental e a pressão sobre os recursos hídricos. Nesse contexto, a aquicultura destaca-se no fornecimento de proteína animal, apresentando taxas de crescimento superiores às da pecuária tradicional e consolidando-se como base importante para a segurança alimentar global. Dados da FAO (2022) indicam que o setor aquícola já fornece mais da metade do pescado destinado ao consumo humano, o que demanda o desenvolvimento de sistemas capazes de alinhar alta produtividade à responsabilidade socioambiental.

Por outro lado, os métodos convencionais de produção de peixes enfrentam limitações devido ao elevado consumo de água doce e pelo descarte contínuo de efluentes ricos em nutrientes, como nitrogênio e fósforo. Para contornar esses problemas, uma alternativa é optar pelo uso de Sistemas de Recirculação Aquícola (RAS), que operam em circuitos fechados onde a água passa por tratamento contínuo antes de retornar aos tanques. Essa configuração não apenas reduz drasticamente a demanda hídrica da atividade, mas também assegura um monitoramento rigoroso das variáveis ambientais, conferindo maior previsibilidade e biosseguridade ao ciclo produtivo (BREGNBALLE, 2022).

Neste contexto, um RAS eficiente depende da maturação do biofiltro, período crítico em que os microrganismos nitrificantes colonizam as mídias disponíveis. Esse processo é fundamental para que o biofiltro consiga converter a amônia em nitrito e, posteriormente, em nitrato e, impedindo que a introdução inicial de biomassa animal resulte em picos de toxicidade. Conforme reportado por Van Rijn (2013), a dinâmica de nitrificação promovida pela colonização bacteriana converte a amônia, metabólito altamente tóxico excretado pelos peixes, em nitrito e, sequencialmente, em nitrato, uma forma química consideravelmente menos prejudicial aos organismos aquáticos.

Nessa perspectiva, a eficiência dessa filtração biológica está relacionada às características do substrato utilizado para a fixação do biofilme. Diante disso, torna-se necessário avaliar o desempenho de mídias comerciais em comparação a materiais alternativos de baixo custo, a exemplo da brita. De acordo com Timmons e Ebeling

(2018), a natureza do substrato determina a área superficial específica voltada à colonização bacteriana, exercendo influência direta sobre o tempo necessário para o início da maturação do biofiltro, e sobre a estabilidade sistêmica prévia ao povoamento.

Para aumentar a sustentabilidade desses sistemas, a integração com a hidroponia permite o reaproveitamento de nutrientes. Nessa configuração integrada, a fração vegetal atua como um mecanismo complementar de filtragem, assimilando o nitrato gerado na etapa bacteriana como fonte de fertilização natural. Segundo Rakocy *et al*. (2006), essa associação tripartida entre peixes, bactérias e plantas estabelece uma relação de simbiose que otimiza a eficiência do uso de recursos, transformando resíduos em produtos de valor comercial e apelo ecológico.

Neste trabalho, avalia-se o papel da hortelã-verde (*Mentha spicata*), na dinâmica de nitrificação. O sistema radicular vai além do suporte físico, atuando na oxigenação local e na liberação de exsudatos orgânicos capazes de estimular o nicho microbiano. Sob essa perspectiva, Atique *et al*. (2023) sugerem que o cultivo de representantes do gênero Mentha possui a capacidade de modular a composição do microbioma e acelerar o estabelecimento do processo nitrificante, despontando como uma alternativa promissora para reduzir o período de ativação biológica e elevar a estabilidade das unidades de produção.

Compreender as interações sinérgicas entre plantas e microrganismos constitui o caminho para consolidar sistemas de recirculação eficientes, autônomos e menos dependentes de aportes externos. Pretende-se, com este trabalho, fornecer subsídios que auxiliem na otimização do tempo de maturação, diminuindo riscos operacionais e impulsionando uma aquicultura sustentável.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a dinâmica de colonização de bactérias nitrificantes, durante a maturação, em diferentes substratos de biofiltros em RAS, verificando a influência da presença de hortelã-verde (*Mentha spicata*) no processo.

1.1.2 Objetivos específicos

-Adaptar uma metodologia para a coleta e concentração de biomassa bacteriana aderida aos substratos sólidos (brita e mídia comercial MBBR 2) para análise microbiológica;

-Estimar, pela técnica do Número Mais Provável (NMP), as populações de bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e oxidadoras de nitrito (BON) no início e ao final do período de maturação dos sistemas;

-Comparar a densidade bacteriana na fase sólida (substrato), verificando a eficiência de colonização nos diferentes compartimentos e entre as unidades 1 e 2(com e sem *Mentha spicata*);

-Avaliar a influência do tipo de substrato (brita *versus* mídia comercial MBBR 2) na colonização e atividade das bactérias nitrificantes.

-Investigar o efeito da presença e ausência das raízes de *Mentha spicata* na comunidade bacteriana nitrificante;

-Monitorar os parâmetros físico-químicos da água (pH, temperatura, oxigênio dissolvido e amônia total) para relacioná-los com a evolução da maturação biológica do sistema.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aquicultura: Cenário Atual e Sustentabilidade

Segundo a FAO (2022), a aquicultura define-se pela produção de organismos aquáticos sob condições controladas, abrangendo o manejo otimizado de peixes, macro e microalgas, além de diversos grupos de invertebrados. Longe de se restringir a uma prática histórica, essa atividade consolidou-se como um setor indispensável para assegurar o abastecimento alimentar no século XXI. Frente ao esgotamento e à estabilização dos estoques pesqueiros decorrentes da atividade extrativa convencional, a aquicultura surge como a principal estratégia para suprir a demanda global por proteínas de elevado valor biológico (FAO,2024).

A distinção fundamental entre piscicultura e a pesca extrativa reside na capacidade de intervenção direta sobre o ciclo biológico e as variáveis bioambientais. Ao exercer o controle sobre parâmetros nutricionais e ambientais, que ocorre na aquicultura, o sistema permite a otimização da conversão alimentar e a redução substancial dos ciclos de cultivo. Essa previsibilidade operacional traduz-se em uma eficiência produtiva superior, maximizando a biomassa gerada por volume de recurso hídrico utilizado, sem colocar em comunidades aquáticas (TIMMONS; EBELING, 2018).

No panorama brasileiro, a atividade vivencia uma fase de expansão robusta, impulsionada por fatores edafoclimáticos favoráveis e pela vasta disponibilidade de bacias hidrográficas. Nesse contexto, a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) consolidou-se como a principal espécie produtiva do país, justificável por características de rusticidade, eficiência reprodutiva e ampla demanda de mercado (KUBITZA, 2006).

De acordo com dados da Associação Brasileira da Piscicultura (PEIXEBR, 2026), a produção nacional atingiu o marco histórico de 1,01 milhão de toneladas em 2025, representando um crescimento de 4,41% em relação ao ano anterior. Esse avanço é devido a profissionalização dos produtores e a incorporação de pacotes tecnológicos garantindo assim recordes sucessivos no volume de biomassa despescada, posicionando a piscicultura como uma relevante geradora de empregos e renda em regiões rurais.

Por outro lado, o adensamento dos plantéis e a busca por altas produtividades expõe o ambiente a riscos severos. A intensificação inadequada dos sistemas de cultivo pode resultar no descarte de efluentes saturados de compostos nitrogenados e fosfatados. Esses resíduos metabólicos, quando lançados sem tratamento prévio, desencadeiam processos de eutrofização nos corpos receptores, culminando na perda de biodiversidade aquática e em episódios críticos de depleção do oxigênio dissolvido. Adicionalmente, o ambiente de alta densidade amplia a suscetibilidade a patógenos, tornando os protocolos profiláticos e o manejo sanitário variáveis determinantes para mitigar riscos ecológicos e desestimular o uso indiscriminado de quimioterápicos na produção (SOMERVILLE *et al*., 2014).

Por isso, conciliar o aumento da produtividade por unidade de área, com a conservação ambiental tornou-se uma exigência técnica e comercial. A reconfiguração da aquicultura moderna passa pelo desenvolvimento de modelos que priorizem a circularidade de nutrientes e a economia de água (SOMERVILLE *et al.*, 2014).

Além da sua importância econômica, a aquicultura desempenha um papel social vital, especialmente em comunidades de baixa renda. Peixes e outros organismos aquáticos são fontes acessíveis de proteína de alta qualidade, ácidos graxos ômega-3, vitaminas e minerais essenciais, contribuindo significativamente para a segurança nutricional e a redução da desnutrição. Em muitas regiões, o cultivo de peixes representa a principal fonte de proteína animal disponível, melhorando a dieta e a saúde das populações (KUBITZA, 2014).

Atualmente, o fortalecimento da cadeia aquícola tem sido impulsionado pela diversificação de métodos e estruturas de criação. Essa amplitude metodológica engloba desde o policultivo em viveiros escavados, operados de forma semi-intensiva, até sistemas de engenharia complexa, a exemplo dos Sistemas de Recirculação Aquícola (RAS) e das unidades aquapônicas (YUAN *et al.*, 2025).

Essa versatilidade na adaptação a diferentes escalas e realidades geográficas confere resiliência ao setor. O desafio atual reside em equilibrar os custos operacionais com a eficiência biológica e a sustentabilidade ambiental, garantindo que a atividade continue sendo rentável e segura a longo prazo, contribuindo para um futuro alimentar mais seguro e equitativo (COSTA, 2024).

2.2 Sistemas de Recirculação de Água (RAS)

Os Sistemas de Recirculação Aquícola (RAS) representam o que há de mais avançado na união entre engenharia e biotecnologia para a produção de alimentos (MARTINS *et al*., 2019). Diferenciando-se dos modelos convencionais de cultivo, o RAS opera como um ecossistema fechado ou semifechado no qual o recurso hídrico é submetido a tratamentos contínuos para reaproveitamento. A ideia central é remover os resíduos produzidos pelos peixes e tratar a água para que ela retorne ao tanque com parâmetros ideias de qualidade da água. Esse recondicionamento constante permite criar organismos aquáticos em altas densidades, mantendo o bem-estar e crescimento.

A principal vantagem dessa tecnologia é a capacidade de controlar rigorosamente as variáveis ambientais. O isolamento proporcionado pelos sistemas RAS protege o cultivo contra variações climáticas abruptas e reduz a vulnerabilidade a patógenos externos, garantindo maior biosseguridade e controle sobre os parâmetros de qualidade da água (OWATARI *et al.*, 2022; BREGNBALLE, 2022). Na prática, esse isolamento permite a implantação de unidades aquícolas em locais antes considerados inviáveis, incluindo regiões com escassez hídrica severa ou áreas urbanas consolidadas.

A arquitetura de um RAS é composta por módulos funcionais interdependentes de tratamento. Ao deixar o tanque de cultivo, o efluente é inicialmente direcionado às unidades de filtragem mecânica, projetadas para a retenção de sólidos suspensos, tais como restos de dietas artificiais e excretas sólidas. A eficiência dessa clarificação inicial é determinante, uma vez que a permanência e a consequente mineralização desses resíduos orgânicos elevam os níveis de amônia na água, sobrecarregando os estágios subsequentes e comprometendo a higidez dos plantéis (MOORE *et al*., 2001).

Após a separação física dos sólidos, a fração líquida flui para o biofiltro, considerado um dos componentes mais críticos para o equilíbrio biológico do sistema. Nesse compartimento, colônias de microrganismos especializados realizam o processo de nitrificação, convertendo a amônia residual em nitrito e, sequencialmente, em nitrato, que representa uma forma nitrogenada de baixa toxicidade (LOH *et al.,* 2021). O funcionamento integrado entre tanque de criação, filtro mecânico, biofiltro, sistema de

bombeamento e aeração garante a recirculação contínua da água e a manutenção da qualidade do ambiente de cultivo assim como ilustrado na figura 1.

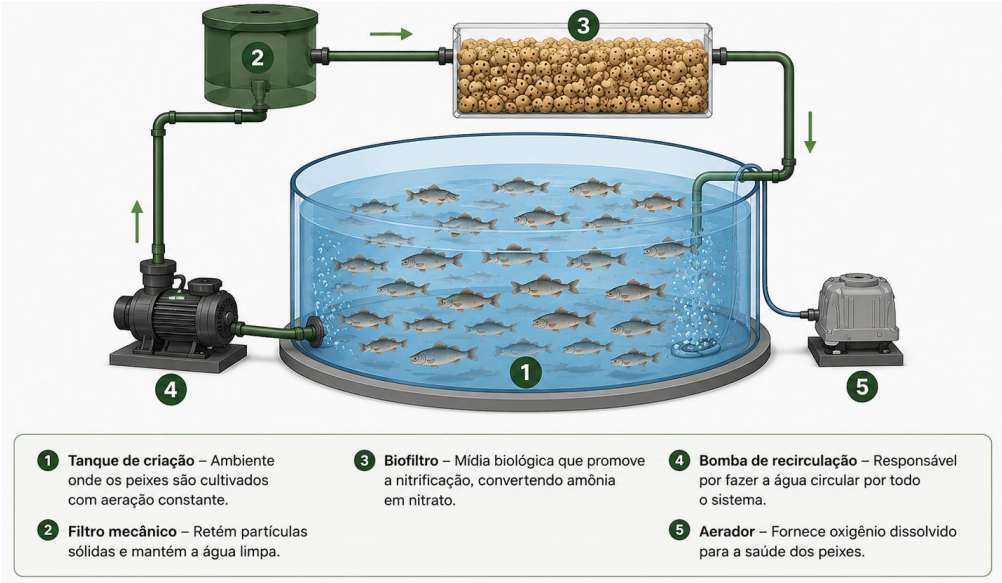

Figura 1 – Modelo de sistema de recirculação aquícola (RAS).

Fonte: Elaborado pela autora, com base em Marques *et al.* (2023), com auxílio do ChatGPT (OpenAI, 2026).

O ponto-chave e ecológico do RAS é a economia de água. Enquanto sistemas convencionais consomem grandes volumes hídricos, um sistema adequadamente operado pode funcionar com renovação diária de aproximadamente 1% do volume total de água (PIRES, 2023). Essa característica contribui para a preservação dos recursos hídricos e possibilita a instalação da produção próxima aos centros consumidores, reduzindo custos logísticos e emissões de poluentes associados ao transporte.

Em contrapartida, a viabilização técnica do RAS requer aportes financeiros substanciais e planejamento operacional rigoroso. Os custos de implantação estrutural podem ser elevados e a rotina produtiva exibe dependência estrita de fornecimento contínuo de energia elétrica. Em cenários de alta densidade biológica, interrupções no funcionamento de motobombas ou aeradores podem resultar em mortalidade massiva em curtos intervalos de tempo (SANTOS, 2025). Consequentemente, o manejo demanda monitoramento técnico capacitado para interpretar sensores em tempo real, e realizar

ajustes precisos na dinâmica química da água, mitigando falhas que possam desequilibrar o ecossistema artificial.

Mesmo com esses desafios, por ser um sistema isolado, o controle de doenças é muito mais rígido, uma vez que é possível a utilização de luz ultravioleta (UV) ou ozônio para desinfecção acoplado às unidades de RAS. Isso reduz drasticamente a necessidade de antibióticos, entregando um produto final mais limpo e seguro (MENDONÇA, 2002). Com o avanço da automação e do monitoramento inteligente, o RAS se consolida como o caminho para uma aquicultura intensiva, sustentável e cada vez mais integrada a outros sistemas, como a aquaponia.

2.3 Qualidade da Água

Na aquicultura, a água é muito mais do que o lugar onde os peixes vivem, ela funciona como uma extensão do próprio corpo do animal. Como os peixes respiram, excretam e mantêm a homeostase de acordo com esse meio, qualquer pequena variação química ou física impacta imediatamente sua saúde e crescimento. Segundo Kubitza (2003), a água deve ser vista como o insumo principal do cultivo, pois é ela que determina se o animal conseguirá expressar seu potencial produtivo ou se ficará vulnerável a doenças. Dentre os indicadores que exigem atenção constante, destacam-se:

Temperatura: para a tilápia do Nilo, a faixa de conforto térmico está entre 24°C e 30°C (SILVA, 2020). Fora dessa janela, o peixe gasta energia apenas para tentar se estabilizar, deixando de crescer. Além disso, a temperatura mexe na física da água: quanto mais quente, menos oxigênio ela consegue segurar e mais tóxica a amônia se torna. Se a água esfria demais, as bactérias do filtro reduzem a atividade cinética, o que deixa o sistema menos eficiente.

pH: ele controla como as substâncias se comportam na água. A própria filtragem biológica é um processo que naturalmente acidifica o meio, pois as bactérias liberam íons de hidrogênio ao processar a sujeira. Se o pH cair abaixo de 6.0, as bactérias param de trabalhar; se subir acima de 8.5, a amônia se transforma em sua forma gasosa (NH_3), que é extremamente agressiva às brânquias dos peixes (SANTOS; SALMITO-VANDERLEY, 2021). Diante desse estreito limite de tolerância biológica, a

manutenção desse parâmetro na faixa ideal entre 6.8 e 7.5 consolida-se como um dos principais desafios operacionais no manejo desses sistemas.

Oxigênio Dissolvido: constitui um dos fatores mais limitantes em sistemas intensivos devido à alta demanda biológica. Peixes e microrganismos do biofiltro competem diretamente por esse recurso, sendo indispensável para as funções vitais dos animais e como aceptor final de elétrons na oxidação da amônia promovida pelas bactérias. Concentrações inferiores a 5,0 mg/L configuram situações de estresse fisiológico agudo, exigindo sistemas de aeração mecânica contínuos e eficientes para evitar o colapso por anoxia no sistema (BOYD, 2015).

Compostos Nitrogenado: o monitoramento da amônia e do nitrito é a maior prioridade. A amônia ataca o sistema nervoso e respiratório, enquanto o nitrito um intermediário perigoso impede que o sangue do peixe carregue oxigênio, desencadeando quadros clínicos de meta-hemoglobinemia (KUBITZA, 2003; VAN RIJN, 2013). Já o nitrato é o estágio final e menos tóxico, embora seu acúmulo excessivo também exija atenção no longo prazo.

Quando o RAS evolui para a aquaponia, a gestão da água passa a exigir maior equilíbrio biológico entre os diferentes organismos do sistema. O que é bom para a bactéria (pH mais alto) pode não ser o ideal para a planta (que prefere pH mais baixo para absorver nutrientes). O sucesso desses sistemas integrados depende de encontrar um meio-termo, geralmente um pH próximo de 7.0 que garanta a sinergia perfeita entre peixes, vegetais e microrganismos (ITO, 2024). Um resumo da importância das características físico-químicas da água pode ser visto na Figura 2.

INDICADOR	VALORES ÓTIMOS	PRINCIPAIS IMPACTOS QUANDO FORA DA FAIXA	REFERÊNCIA
1. TEMPERATURA	**24 – 30 °C** (Faixa de conforto térmico para tilápia do Nilo)	• Fora dessa faixa, o peixe gasta energia para se estabilizar e deixa de crescer. • Quanto mais quente, menos oxigênio a água dissolve e mais tóxica a amônia se torna. • Se a água esfria demais, as bactérias do filtro reduzem a atividade cinética, deixando o sistema menos eficiente.	SILVA, 2020; KUBITZA, 2003
2. pH	**6,8 – 7,5** (Faixa ideal)	• A filtragem biológica acidifica naturalmente o meio. • **pH < 6,0:** as bactérias param de trabalhar. • **pH > 8,5:** a amônia se transforma em NH_3 (forma gasosa), extremamente agressiva às brânquias.	SANTOS; SALMITO-VANDERLEY, 2021
3. OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD)	**≥ 5,0 mg/L** (Concentração mínima recomendada)	• Fator altamente limitante em sistemas intensivos. • Peixes e microrganismos do biofiltro competem pelo oxigênio. • **< 5,0 mg/L:** causa estresse fisiológico agudo e pode levar à anoxia e colapso do sistema.	BOYD, 2015
4. COMPOSTOS NITROGENADOS	**Amônia (NH_3/NH_4^+)** Ideal: não detectável	• Altamente tóxica. • Ataca o sistema nervoso e respiratório dos peixes.	KUBITZA, 2003; VAN RIJN, 2013
	Nitrito (NO_2^-) Ideal: não detectável	• Intermediário perigoso. • Impede o transporte de oxigênio no sangue dos peixes, causando meta-hemoglobinemia.	
	Nitrato (NO_3^-) Ideal: manter em níveis baixos	• Estágio final e menos tóxico. • Seu acúmulo excessivo exige atenção no longo prazo.	

Figura 2. Parâmetros físico-químicos chave a serem monitorados em RAS.

Fonte: Elaborado pela autora com auxílio do ChatGPT (OpenAI, 2026).

2.4 O Ciclo do Nitrogênio

O gerenciamento dos resíduos nitrogenados representa um dos principais desafios no manejo de sistemas aquícolas intensivos. O ciclo do nitrogênio atua como o mecanismo biológico central de conversão desses compostos, transformando metabólitos altamente tóxicos em formas químicas significativamente mais seguras para os organismos cultivados (VAN RIJN, 2013). Em sistemas modernos como o RAS e unidades aquapônicas, esse mecanismo biológico ocorre essencialmente no interior dos biofiltros, cuja eficiência operacional é estritamente dependente da manutenção de variáveis ambientais estáveis, tais como oxigênio dissolvido, temperatura e pH (EBELING; TIMMONS, 2013).

O processo inicia-se a partir do metabolismo da fração proteica presente nas dietas artificiais. Após a digestão e absorção, os peixes excretam o nitrogênio residual majoritariamente na forma de amônia não ionizada (NH3) através do epitélio branquial. Essa forma química livre exibe elevada toxicidade, sendo capaz de induzir lesões

histológicas severas nas brânquias e mortalidade massiva dos plantéis mesmo quando presente em baixas concentrações no meio (OLIVEIRA, 2025).

A conversão da amônia em compostos estáveis é realizada no biofiltro por meio da nitrificação, um processo aeróbico quimioautotrófico dividido em duas etapas distintas:

• Nitritação: consiste na primeira fase do ciclo, mediada por bactérias oxidadoras de amônia (BOA), com destaque para o gênero Nitrosomonas. Esses microrganismos convertem a amônia em nitrito (NO2-), um íon intermediário que, embora menos tóxico que a amônia livre, é capaz de interferir no transporte de oxigênio celular ao oxidar a hemoglobina dos peixes em meta-hemoglobina (RUIZ *et al*., 2020).

• Nitratação: constitui a etapa final do processo, conduzida pelas bactérias oxidadoras de nitrito (BON), predominantemente representadas pelo gênero Nitrobacter. Esse grupo bacteriano é responsável pela oxidação do nitrito a nitrato (NO3-), uma forma nitrogenada inorgânica estável e de baixa toxicidade, tolerada em concentrações expressivamente mais elevadas pelas espécies aquícolas (VAN RIJN, 2013).

Em arranjos aquapônicos, o nitrato assume uma função biofertilizante estratégica. O composto deixa de configurar um resíduo poluente e passa a ser assimilado pelo sistema radicular dos vegetais para a síntese proteica. Essa extração biológica promove a purificação contínua da água que retorna aos tanques de criação, reduzindo a necessidade de renovações hídricas e mitigando o descarte de efluentes ricos em nutrientes no ambiente externo (TIMMONS; EBELING, 2018).

A estabilidade dessa dinâmica biológica requer o equilíbrio cinético entre a taxa de alimentação, a área superficial do biofiltro e a densidade de biomassa vegetal. Em suportes de fixação bacteriana, a espessura do biofilme e o fluxo de oxigênio desempenham papéis determinantes. Quando o biofilme atinge elevada espessura, a difusão de oxigênio para as camadas mais internas torna-se limitada, favorecendo a formação de zonas anóxicas. Nessas condições, a atividade das bactérias nitrificantes pode ser reduzida, favorecendo o desenvolvimento de comunidades microbianas com metabolismo alternativo (Vlaeminck *et al.,* 2010).

2.5 Substratos naturais e Mídias comercial de Biofiltração

A escolha do material que compõe o biofiltro é, talvez, a decisão mais estratégica de um sistema de recirculação (RAS) ou aquapônico. O substrato funciona como a matriz de sustentação biológica do sistema, fornecendo a superfície necessária para a fixação e o desenvolvimento das colônias de bactérias nitrificantes (OWATARI, 2022). Para garantir a eficiência biológica, o substrato deve apresentar ampla área superficial para a colonização microbiana, proteger o biofilme contra forças de cisalhamento e permitir adequada transferência de oxigênio e nutrientes.Dessa forma, a seleção criteriosa entre mídias sintéticas comerciais e substratos naturais alternativos impacta diretamente a viabilidade técnica e o custo operacional da estrutura de biofiltração (SANTOS; SALMITO-VANDERLEY, 2021).

Historicamente, a brita (pedra britada) consolidou-se como o substrato padrão, especialmente em sistemas de aquaponia de pequeno e médio porte. Sua popularidade deve-se ao baixo custo e à facilidade de aquisição (SILVA, 2020). Além de sua rugosidade natural favorecer a adesão inicial dos microrganismos, a brita desempenha um papel duplo em leitos cultivados, servindo tanto como meio de filtragem biológica quanto como suporte físico para o enraizamento e sustentação das plantas (EMBRAPA, 2021).

Entretanto, o uso da brita traz desafios logísticos e operacionais. Por ser um material pesado, exige estruturas de sustentação robustas e caras. Além disso, o risco de entupimento é maior, o acúmulo de sólidos nos espaços entre as pedras pode criar zonas sem oxigênio, prejudicando a nitrificação e exigindo limpezas manuais exaustivas. Apesar dessas limitações, quando associada a um manejo adequado de sólidos, a brita pode apresentar eficiência de remoção de compostos nitrogenados comparável à observada em mídias comerciais especializadas (SANTOS; SALMITO-VANDERLEY, 2021).

As mídias tipo MBBR2, embora originalmente projetadas para reatores de leito móvel, são amplamente utilizadas em biofiltros estáticos devido à sua elevada Área Superficial Específica (ASE). Essa característica geométrica proporciona uma vasta superfície protegida para a colonização por bactérias nitrificantes, permitindo a

formação de um biofilme estável mesmo na ausência de movimentação mecânica. O uso estático dessas mídias favorece a retenção de sólidos finos e a manutenção de uma matriz biológica eficiente, garantindo a estabilidade operacional do sistema em configurações de biofiltração fixa (MARQUES, 2023; BIOCELL, 2025).

2.6 Maturação do Biofiltro

A maturação do biofiltro, denominada na engenharia aquícola como fase de start-up, constitui o período de maior vulnerabilidade operacional em Sistemas de Recirculação Aquícola (RAS) e unidades aquapônicas (COSTA, 2025). É nesse intervalo que as populações de bactérias nitrificantes se estabelecem em densidade suficiente para processar a carga de resíduos que será gerada. Sem essa comunidade bacteriana funcional, ocorre acúmulo progressivo de compostos nitrogenados tóxicos, comprometendo a qualidade da água e o bem-estar dos organismos cultivados.

Longe de ser apenas um período de espera, a maturação é um fenômeno complexo de sucessão biológica. O ambiente atua como um selecionador, conforme a amônia se torna disponível, as Bactérias Oxidadoras de Amônia (BOA) começam a colonizar as superfícies das mídias, seguidas pelas Bactérias Oxidadoras de Nitrito (BON). Esse escalonamento é o que garante a estabilidade futura do sistema (RUIZ *et al.*, 2020).

Durante essa fase adaptativa, verifica-se um padrão clássico e previsível de oscilação nas concentrações dos compostos nitrogenados inorgânicos. Inicialmente, observa-se uma elevação exponencial nos níveis de amônia total devido à ausência de mecanismos de depuração biológica. Com o estabelecimento e o incremento da atividade enzimática das BOA, as concentrações de amônia declinam concomitantemente ao aumento acentuado nos teores de nitrito. A estabilização sistêmica ocorre apenas após a completa fixação e maturação das BON, que convertem o nitrito em nitrato, reduzindo os teores das frações nitrogenadas mais tóxicas a valores próximos de zero (YUAN *et al*., 2025).

O tempo requerido para a conclusão desse ciclo sucessional varia em função das características físicas e químicas da água. Sob condições ótimas de temperatura (24 °C a 30 °C) e pH ligeiramente alcalino, o start-up biológico completa-se usualmente em um

período de três a seis semanas, ao passo que águas com temperaturas subótimas ou caráter ácido podem prolongar essa fase por mais de sessenta dias (TIMMONS; EBELING, 2018). Estratégias como o uso de inóculos biológicos (*bio-starters*) ou a introdução de mídias já maturadas de outros sistemas podem acelerar significativamente essa fase.

Um biofiltro é considerado tecnicamente maduro quando exibe a capacidade de manter as concentrações de amônia e nitrito estáveis e seguras, mesmo sob o incremento progressivo do aporte alimentar diário. Contudo, a estrutura biológica do biofilme continua a evoluir por meses subsequentes, tornando-se mais espessa, diversificada e resiliente a estresses operacionais (SOMERVILLE *et al.,* 2014). Negligenciar esse processo, ou seja, a imaturidade microbiológica do sistema pode resultar em falhas no processo de nitrificação, onde picos tóxicos causam mortalidade em massa e prejuízos econômicos (BREGNBALLE,J. 2022).

A compreensão detalhada dessa cinética permite ao pesquisador e ao produtor planejar o alojamento gradual e escalonado dos animais, evitando a saturação da capacidade adaptativa das colônias bacterianas em sua fase mais crítica. O monitoramento contínuo deve estender-se ao longo de todo o ciclo de cultivo, visto que flutuações bruscas na taxa de alimentação, alterações drásticas nos parâmetros físico-químicos da água ou falhas no fluxo hidráulico podem desestabilizar o biofilme estabelecido, demandando novos períodos de reestabilização biológica (KUBITZA, 2006).

2.7 Interação Planta-Bactéria

A aquaponia configura-se como um sistema integrado de produção baseado na simbiose ecológica entre peixes, bactérias nitrificantes e vegetais mantidos sob condições controladas (RAKOCY; MASSER; LOSORDO, 2006). Nesse ecossistema, os vegetais desempenham a função de unidade secundária de biofiltração, assimilando o nitrato dissolvido no efluente aquícola e convertendo esse resíduo nitrogenado em biomassa vegetal de interesse comercial (GODDEK,S *et al.*, 2015).

No centro dessa integração biológica encontra-se a rizosfera, região de influência direta do sistema radicular no ambiente aquático, que atua como uma importante zona

de colonização microbiana e fornece área superficial adicional para a fixação e o desenvolvimento do biofilme nitrificante (MARTINS *et al*., 2019).

Os mecanismos pelos quais os exsudatos radiculares da *Mentha spicata* influenciam as bactérias nitrificantes, envolvem a liberação de compostos orgânicos, que servem como fonte de carbono para microrganismos heterotróficos, que por sua vez podem auxiliar na estruturação do biofilme. Além disso, a arquitetura radicular da hortelã promove microambientes oxigenados na rizosfera, favorecendo a atividade das bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e de nitrito (BON). Estudos recentes, como o de Atique *et al.* (2023), sugerem que esses exsudatos podem atuar como moduladores do microbioma, potencialmente acelerando o início da nitrificação em sistemas aquapônicos comparados a sistemas RAS convencionais.

Diferente dos substratos inertes dos biofiltros tradicionais, as raízes influenciam ativamente a microbiota circundante por meio da exsudação radicular. As plantas secretam compostos orgânicos como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que servem como fonte de carbono e energia para microrganismos benéficos (MOORE *et al.*, 2001; PIRES, 2023).

A interação entre as raízes da hortelã e as bactérias nitrificantes pode otimizar a nitrificação, seja pelo fornecimento de um ambiente mais estável ou pela liberação de compostos estimulantes (LOH *et al.,* 2021). A eficiência desta interação é um reflexo direto da saúde do sistema.

Entre os principais benefícios socioambientais da dinâmica da aquaponia, destaca-se a acentuada eficiência hídrica, uma vez que a recirculação contínua viabiliza uma redução no consumo de água superior a 90% em comparação à agricultura convencional em solo. Adicionalmente, o reaproveitamento biológico de nutrientes pelas plantas mitiga o potencial poluente da atividade, evitando o descarte de efluentes ricos em frações nitrogenadas e fosfatadas, mitigando processos de eutrofização em corpos d'água receptores (BOYD; TUCKER, 1998). Sob a ótica da segurança alimentar, a capacidade de obter simultaneamente proteína animal e vegetais folhosos, em um mesmo espaço físico, confere versatilidade ao sistema, tornando-o estratégico para áreas com limitações territoriais e cenários de agricultura urbana (SOMERVILLE *et al.,* 2014).

Apesar do elevado potencial zootécnico e agronômico, a manutenção do equilíbrio homeostático na aquaponia exige monitoramento constante, visto que pequenas oscilações nos parâmetros físico-químicos da água afetam simultaneamente as três comunidades biológicas do sistema. A estabilidade a longo prazo desse modelo integrado depende da compreensão profunda de tais processos microbiológicos e fisiológicos (AVNIMELECH, 2015). Assim, a sincronização entre o metabolismo animal, bacteriano e vegetal viabiliza a transformação de resíduos metabólicos em alimentos de alto valor agregado, fechando o ciclo de nutrientes de forma ecológica e sustentável (MENDONÇA, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e montagem dos sistemas

O estudo de caso foi conduzido nas instalações da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Campus de Alegre. Em atividades acadêmicas prévias, foi observada a ocorrência de proliferação excessiva de fitoplâncton por excesso de luminosidade em sistemas de cultivo aquícola, o que comprometeu a qualidade da água, e consequentemente a estabilidade do sistema.

Para garantir que a ciclagem do nitrogênio ocorresse predominantemente por via bacteriana e reduzir a interferência da produção primária, adotou-se um protocolo de controle de luminosidade. As unidades experimentais foram revestidas com papel pardo (Kraft) e cobertas com tela de sombreamento (sombrite 80%). A medida visou reduzir a incidência de luz para limitar o crescimento do fitoplâncton e minimizar a competição pelo nitrogênio amoniacal total (NAT), conforme a Figura 3. Essa estratégia é amplamente utilizada na aquicultura para conter a produção primária e otimizar a qualidade da água (BOYD, 2015).

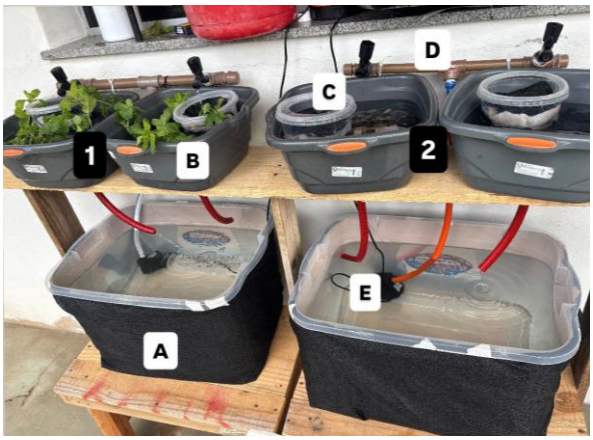

Figura 3. Unidades experimentais 1 e 2 do Sistema de Recirculação de Água (RAS), vedadas com papel pardo e tela de sombreamento (80%) para controle da luminosidade, destacando os principais componentes do sistema: **A)** tanque de cultivo; **B)** biofiltro; **C)** filtro mecânico; **D)** conexões hidráulicas; e **E)** bomba submersa.

Fonte: Autoria própria.

O sistema de criação foi operado sob o modelo de Sistema de Recirculação de

Água (RAS), sendo constituído por dois RAS, compostos por: uma caixa de criação com volume de 56 litros (sem a presença de peixe), e volume útil de aproximadamente 50 litros, interligadas a dois filtros mecânico, dois biofiltros (em cada unidade de RAS) e bomba submersa com vazão de 1000 L h^{-1}, garantindo a circulação contínua da água (Figura 3). Os biofiltros apresentaram capacidade de 6 litros e foram preenchidos com dois tipos distintos de substratos, utilizados separadamente: brita número 1, como mídia natural, e mídia plástica comercial do tipo MBBR 2.

A escolha da brita como substrato justifica-se pelo seu baixo custo e ampla disponibilidade para produtores locais, apesar de possuir menor área superficial específica em comparação a mídias comerciais. Em contrapartida, a mídia comercial MBRR2 foi selecionada por sua alta tecnologia de design, visando maximizar a colonização bacteriana em espaços reduzidos. A comparação entre esses dois materiais permite avaliar a eficiência biológica em condições de maturação na presença ou não de plantas.

Antes da montagem do sistema, os substratos utilizados nos biofiltros foram submetidos a um processo de higienização, sendo inicialmente lavados com água corrente e posteriormente imersos em solução de água sanitária-hipoclorito de sódio (2%), visando reduzir a presença de microrganismos indesejáveis e possíveis contaminantes. Da mesma forma, as unidades de criação e os demais componentes do sistema foram devidamente lavados e higienizados antes do início do experimento, a fim de proporcionar condições adequadas para o desenvolvimento da comunidade microbiana de interesse.

Foram utilizadas 12 plantas no total, sendo seis inseridas em cada filtro biológico experimental (brita e mídia comercial MBBR2) na unidade 1. Os espécimes apresentaram comprimento médio, da parte aérea, de 15 cm no início do estudo de caso, enquanto o sistema radicular estava totalmente ausente.

O controle dos parâmetros operacionais foi mantido de forma rigorosa para garantir a padronização entre os sistemas experimentais. A vazão média de circulação da água foi estabelecida em 33,5 L/h ±5,05 L/h para a Unidade 1 e 35,0 L/h ±5,28 L/h para a Unidade 2. Com base no volume útil de cada biofiltro (50 L), o Tempo de Retenção Hidráulica (TRH) foi calculado pela relação entre o volume e a vazão,

resultando em períodos de retenção de 1,50 horas e 1,43 horas, respectivamente.

A reposição de água, necessária para compensar as perdas por evaporação e evapotranspiração, foi monitorada periodicamente. Ao longo do ciclo do estudo de caso,que teve um período de 35 dias, houve uma demanda hídrica distinta entre as unidades 1 e 2: o sistema com a presença de hortelã-verde (*Mentha spicata*) exigiu uma reposição total de 35,35 L (média de 11,78 L por medição), enquanto o sistema sem vegetação demandou 22,18 L (média de 7,39 L por medição)

Ou seja, a perda de água na unidade 1 que não havia planta decorreu unicamente da evaporação direta na interface água-ar; enquanto no sistema com hortelã-verde houve também uma demanda hídrica da planta. A planta utiliza o sistema radicular como uma bomba hidráulica natural: para suprir a transpiração estomática foliar e manter a pressão de turgor celular (TAIZ *et al.,* 2017).

3.2 Parâmetros físico-químicos da água

Durante o esse estudo, também foram monitorados parâmetros físico-químicos da água, a cada sete dias, incluindo temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e sólidos totais dissolvidos, utilizando equipamentos portáteis apropriados como mostra a figura 4.

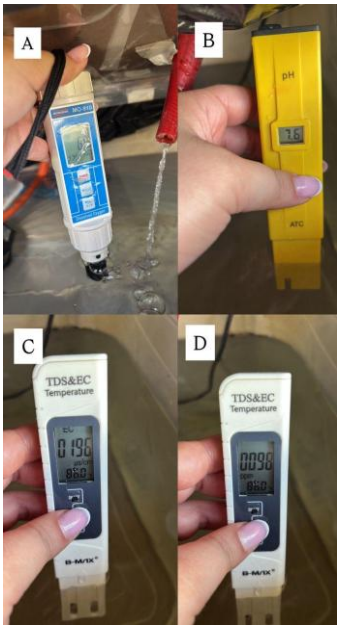

Figura 4. (A) Oxímetro digital para determinação do oxigênio dissolvido e temperatura da água; (B) pHmetro para aferição do pH;(C–D) medidor digital B-MAX para determinação da condutividade elétrica e dos sólidos totais dissolvidos (TDS).

Fonte: Autoria própria.

Para o monitoramento da qualidade da água e suporte às avaliações do sistema, foram realizadas coletas de água semanais diretamente na saída de cada biofiltro, ocorrendo nos dias D1 (12/03), D7 (19/03), D14 (26/03), D21 (02/04), D28 (09/04) e D35 (16/04). Esse cronograma de amostragem permitiu acompanhar a dinâmica dos nutrientes e a eficiência das unidades 1 e 2 ao longo do período experimental de 35 dias.

As análises seguiram os protocolos de Sipaúba-Tavares (1994), garantindo a precisão necessária para a interpretação dos dados. Durante o manejo laboratorial, utilizou-se uma pipeta exclusiva para cada solução padrão e reagente, visando impedir contaminações cruzadas.

Os métodos empregados foram colorimétricos como mostrados na figura 5 , com leituras realizadas em espectrofotômetro UV/Vis modelo UV1600PC e concentrações obtidas por meio de regressão linear em curva padrão, conforme os procedimentos descritos por Sipaúba-Tavares (1994).

A determinação da amônia utilizou uma solução estoque de sulfato de amônia (10 mM) para a construção da curva padrão. O procedimento consistiu na pipetagem de

5 ml da amostra em triplicata, seguidos da adição de 0,2 ml do Reagente A (ácido fenóico e nitroprussiato de sódio). Após repouso de 2 a 10 minutos, adicionou-se 0,2 ml do Reagente B (citrato de sódio, NaOH e hipoclorito). As amostras foram mantidas em ambiente escuro por, no mínimo, 1h30, com leitura final em 630 nm.

A análise partiu de uma solução estoque de nitrito de sódio (20 mM). Em tubos de ensaio com 5 ml da amostra, adicionou-se 0,1 ml de sulfanilamida e, após 2 a 10 minutos, 0,1 ml de naftil (bicloridato N-1-naftiletilenodiamina). A leitura foi realizada a 540 nm, entre 20 a 30 minutos após a reação.

A quantificação do nitrato exigiu sua redução prévia a nitrito via contato com cádmio amalgamado. Para isso, 10 ml da amostra foram agitados por 20 minutos com 0,6 g de cádmio e 0,1 ml de cloreto de amônia (3 M). Do sobrenadante, retirou-se 5 ml para o procedimento colorimétrico (adição de sulfanilamida e naftil), com leitura a 540 nm em um intervalo de 20 minutos a 2 horas.

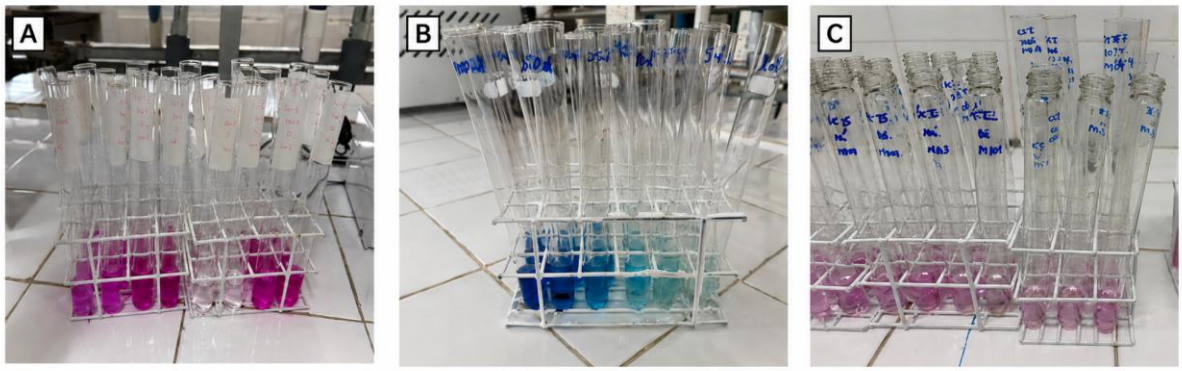

Figura 5. Análises dos compostos nitrogenados: nitrito (a) amônia (b), nitrato (c), realizados no laboratório de Bromatologia Animal, UFES - Campus Alegre, por colorimetria.

Fonte: Autoria própria.

3.3 Estimativa de BOA e BON

A estimativa das bactérias nitrificantes foi realizada pelo método do Número Mais Provável (NMP), conforme descrito por Schmidt e Belser (1984). O resumo das etapas experimentais realizadas, desde a coleta das amostras no biofiltro do sistema de recirculação de água até a incubação dos tubos, encontra-se apresentado na Figura 6.

Figura 6. Fluxograma esquemático das etapas de análise de estimativa de bactérias nitrificantes.

Fonte: Elaborado pela autora com auxílio do ChatGPT (OpenAI, 2026).

Considerando que esses microrganismos se desenvolvem predominantemente aderidos a superfícies sólidas, formando biofilmes nos materiais filtrantes, foi necessária a adoção de uma metodologia específica para sua remoção e estimativa, uma vez que as bactérias nitrificantes se estabelecem em superfícies úmidas e com elevada área específica nos sistemas de cultivo (SOMERVILLE *et al.*, 2014).

Para a obtenção da biomassa aderida, amostras dos substratos foram submetidas à remoção mecânica do biofilme por meio de escovação suave, utilizando uma escova, instrumento de cerdas macias, na presença de água proveniente do próprio sistema, como mostra a Figura 7. Esse procedimento possibilitou o desprendimento das comunidades microbianas sem comprometer significativamente sua integridade. Em seguida, a fração líquida em suspensão foi coletada e utilizada como amostra para as análises microbiológicas subsequentes.

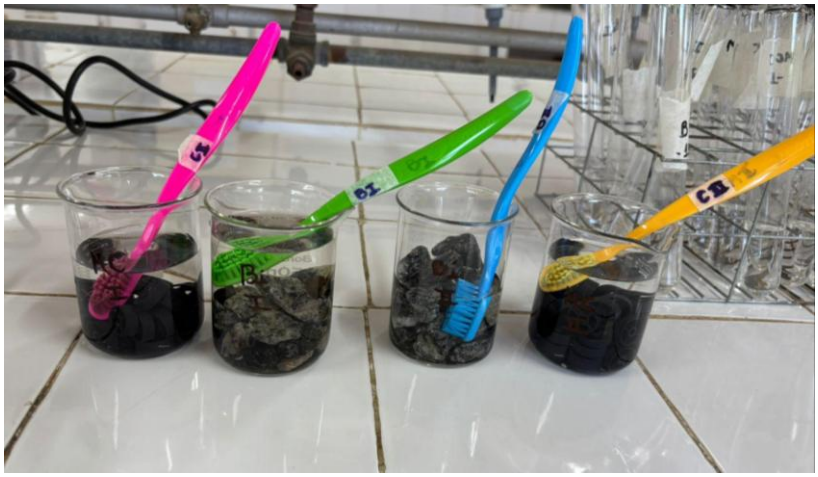

Figura 7. Procedimento de remoção do biofilme por escovação suave dos substratos filtrantes.

Fonte: Autoria própria.

Foram avaliadas bactérias oxidadoras de amônia (BOA), utilizando-se meio de cultura contendo sulfato de amônio [$(NH_4)_2SO_4$] como fonte de nitrogênio. O preparo do meio foi realizado com base na metodologia descrita por Mendonça (2002), com ajuste proporcional dos volumes em função do volume final adotado no experimento. A composição do meio de cultura para BOA está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição das soluções estoque utilizadas no preparo do meio de cultura para bactérias oxidadoras de amônia.

Constituinte químico	Concentração da solução estoque (g/100mL)	Volume da solução para 2000 mL de meio(mL)
$(NH_4)_2\ SO_4$	5,0	7,5
$CaCl_2.2H_2O$	1,34	2,0
$MgSO_4.7H_2O$	4,0	2,0
Azul de bromotimol	0,04	2,0
KH_2PO_4 (0,2 M)	2,72	15,0
Ferro quelante		
$FeSO_4.7H_2O$	0,246	2,0
EDTA dissódico	0,331	2,0
Elementos traços		
$NaMoO_4.2H_2O$	0,01	2,0
$MnCl_2$	0,02	2,0
$CoCl_2.6H_2O$	0,0002	2,0
$ZnSO_4.7H_2O$	0,01	2,0
$CuSO_4.5H_2O$	0,002	2,0

Fonte:Adaptado de Mendonça (2002).

Para as bactérias oxidadoras de nitrito (BON), empregou-se meio de cultura contendo nitrito de sódio ($NaNO_2$), seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. A composição do meio de cultura para BON está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição das soluções estoque utilizadas no preparo do meio de cultura para bactérias oxidadoras de nitrito.

Constituinte químico	Concentração da solução estoque (g/100mL)	Volume da solução para 2000 mL de meio(mL)
$NaNO_2$	0,69	2,0
$CaCl_2.2H_2O$	1,34	2,0
$MgSO_4.7H_2O$	4,0	10,0
K_2HPO_4 (0,2 M)	3,48	8,0
KH_2PO_4 (0,2 M)	2,72	2,0
Ferro quelante		
$FeSO_4.7H_2O$	0,246	2,0
EDTA dissódio	0,331	2,0
Elementos traços		
$NaMoO_4.2H_2O$	0,01	2,0
$MnCl_2$	0,02	2,0
$CoCl_2.6H_2O$	0,0002	2,0
$ZnSO_4.7H_2O$	0,01	2,0
$CuSO_4.5H_2O$	0,002	2,0

Fonte: Adaptado de Mendonça (2002).

Os meios de cultura foram preparados a partir da mistura das soluções constituintes, com volume final ajustado para 2000 mL com água Milli-Q. O pH foi ajustado para aproximadamente 7,5 no meio destinado à BOA e entre 7,2 e 7,5 no meio de BON, utilizando-se solução super saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3). A solução utilizada para se fazer as diluições foi preparada com adição de 4 mL de K_2HPO_4 e 1,0 mL de KH_2PO_4, com volume final de 1000 mL completado com água Milli-Q.

Para o cultivo microbiano, tubos de ensaio foram preparados contendo 9 mL de meio específico e cinco cubos de espuma de poliuretano (0,5 cm de aresta), utilizados como suporte para o crescimento bacteriano. Tubos adicionais contendo 18 mL da solução de diluição foram utilizados nas etapas de diluição seriada. Para cada condição experimental, os ensaios foram realizados em triplicata, incluindo os diferentes substratos avaliados (brita e mídia comercial MBR2), na presença e ausência do hortelã-verde, além do controle em branco contendo água destilada. Todo o material foi previamente esterilizado em autoclave a 120 °C, sob pressão de 1 atm, por 20 minutos.

As amostras foram processadas em condições assépticas no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Previamente ao início das atividades de preparo e inoculação dos meios de cultura, o bico de Bunsen foi aceso com antecedência de aproximadamente 10 minutos, a fim de estabelecer uma zona estéril de trabalho. A bancada e os materiais utilizados, incluindo suportes para tubos de ensaio, foram previamente desinfetados com álcool 70%. Os materiais esterilizados, tais como tubos contendo meio de cultura, tubos com água de diluição e caixas com ponteiras, foram retirados da autoclave somente após a realização desses procedimentos, minimizando o risco de contaminação.

A diluição seriada foi realizada a partir da adição de 2 mL da amostra em 18 mL de solução de diluição estéril, obtendo-se a diluição inicial (10^{-1}), seguida de diluições sucessivas até atingir a diluição de 10^{-5}. Para cada diluição, alíquotas de 1 mL foram inoculadas em triplicata em tubos contendo os meios específicos.

Após o período de incubação de 35 dias em estufa bacteriológica, a atividade bacteriana foi avaliada por meio da adição de 2 gotas de cada um dos reagentes indicadores: sulfanilamida em HCl 2,4 N e N-naftil-etilenodiamina hidrocloreto em HCl 0,12 N. A formação de coloração rosada ou avermelhada indicou a presença de nitrito,

associada à atividade de bactérias oxidadoras de amônia, enquanto a ausência de coloração indicou consumo de nitrito, caracterizando a atividade de bactérias oxidadoras de nitrito.

A combinação de tubos que apresentaram crescimento positivo (caracterizado pela alteração de cor/viragem do indicador) em cada série de diluições decimais foi registrada. A densidade microbiana original foi estimada por cálculo de probabilidade, seguindo as diretrizes da *American Public Health Association* (APHA) e utilizando a Tabela NMP-1 do Anexo 4.1 para a série de três tubos, padronizada por Silva *et al.* (2017).

3.4 Desenvolvimento das plantas

Assim, a avaliação do desenvolvimento vegetativo em contato com a água de cultivo, bem como seu potencial contribuição na dinâmica microbiológica do biofilme, fundamentou a inserção dessas plantas nos filtros biológicos.

Durante o período de 35 dias, as plantas permaneceram expostas às mesmas condições de circulação de água dos respectivos filtros biológicos. Ao final do experimento, foram realizadas medições do comprimento da parte aérea e do sistema radicular, a fim de verificar o desenvolvimento vegetativo das plantas ao longo do período avaliado.

Considerando que esses microrganismos se desenvolvem predominantemente aderidos a superfícies sólidas, formando biofilmes nos materiais filtrantes, foi necessária a adoção de uma metodologia específica para sua remoção e estimativa, uma vez que as bactérias nitrificantes se estabelecem em superfícies úmidas e com elevada área específica nos sistemas de cultivo (SOMERVILLE *et al*., 2014).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros físico-químicos

O monitoramento dos parâmetros físico-químicos da água, ao longo do período de maturação dos biofiltros, permitiu verificar a adequação das condições ambientais para o pleno desenvolvimento dos microrganismos em ambas unidades avaliadas, como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos da água foram avaliados em nossas unidades com e sem hortelã-verde (Mentha spicata) durante o período de maturação.

Paramêtros	Tratamento	D0	D7	D14	D21	D28	D35
Temperatura (°C)	Unidade 1	21,2	20,2	22	23,2	23,2	21
	Unidade 2	21,3	22	22,3	23	23,6	21,3
OD (mg/L)	Unidade 1	5,6	5,9	5,6	6,6	7,7	13,1
	Unidade 2	5,8	6,1	5,4	6,4	7,2	13,7
pH	Unidade 1	7,3	7,5	7,7	7,4	8,3	8,4
	Unidade 2	7,4	7,3	7,5	7	8,7	8,1
CE (µS/cm)	Unidade 1	176	194	200	196	196	198
	Unidade 2	186	202	212	216	216	226
TDS (mg/L)	Unidade 1	88	97	102	98	98	99
	Unidade 2	93	101	106	108	108	113

Fonte: Autoria própria.

A temperatura média da água no período foi de 22,18 °C ± 1,12 °C. Embora esse valor tenha se mantido ligeiramente abaixo da faixa de referência (24 a 28 °C, Leira *et al.*, 2017) para sistemas de produção aquícola, a baixa amplitude térmica (desvio padrão de 1,12 °C) contribuiu para a estabilidade dos processos biológicos. Segundo Timmons

e Ebeling (2013), a nitrificação pode ocorrer em temperatura fora da amplitude térmica ótima, desde que não haja oscilações bruscas, uma vez que a estabilidade do meio é mais determinante para o desempenho das bactérias nitrificantes, do que valores absolutos, fora do ideal. Além disso, Hargreaves (1998) destaca que temperaturas moderadas podem garantir a atividade metabólica dos microrganismos, proporcionando eficiência biológica ao sistema.

A oxigenação mostrou-se amplamente favorável em ambas as unidades, com valores de oxigênio dissolvido (OD) variando de 5,4 a 13,7 mg/L na unidade 2 (sem planta) e de 5,6 a 13,1 mg/L na unidade 1 (com planta). Em todo o período, os teores de OD permaneceram superiores ao limite mínimo de 5,0 mg/L recomendado por El-Sayed (2020), registrando um aumento expressivo no 35º dia (D35). Esse comportamento assegura condições ideais ao sistema, visto que a nitrificação é um processo estritamente aeróbio, altamente dependente da disponibilidade de oxigênio para as reações de oxidação da amônia e do nitrito.

Quanto ao pH, observou-se uma variação entre 7,0 e 8,7 na unidade 2 (sem planta) e 7,3 e 8,4 na unidade 1 (com planta), mantendo-se dentro do intervalo indicado por Leira *et al.* (2017). A manutenção do pH, de neutro a levemente alcalino, no ambiente aquático é fundamental, visto que valores extremos exercem efeito inibitório significativo sobre a atividade da comunidade bacteriana nitrificante.

Os parâmetros sólidos totais dissolvidos (TDS) e condutividade elétria (CE) demonstraram dinâmicas distintas entre as condições testadas. A CE variou de 186 a 226 µS/cm na unidade 2, sem planta; e de 176 a 200 µS/cm na unidade 1, com planta. Embora esses valores tenham ficado abaixo da faixa ideal (300 a 1000 µS/cm, Rodrigues *et al.*, 2013). O comportamento crescente em ambas as unidades reflete o acúmulo de íons originados pelas transformações dos compostos nitrogenados. Os valores superiores observados na unidade 1 (com planta), se dão devido a presença de matéria orgânica proveniente da planta. Ainda, nesta unidade, houve estabilização da CE a partir do D14 (mantendo-se em 196–198 µS/cm), sugerindo a assimilação de nutrientes dissolvidos pelo sistema radicular da hortelã-verde.

Paralelamente, os sólidos totais dissolvidos (STDS) variaram de 93 a 113 mg/L e de 88 a 102 mg/L, para as unidades sem e (com planta, respectivamente, mantendo-se

abaixo do limite máximo de 500 ppm estabelecido pela Resolução CONAMA (2005), o que indica excelente controle sobre a concentração de sólidos dissolvidos totais ao longo do período de maturação.

A inclusão do hortelã-verde (*Mentha spicata*) na unidade com planta, não promoveu maiores alterações nos parâmetros físico-químicos da água, em relação à unidade 2, sem planta. Ambas as configurações mantiveram perfis semelhantes de temperatura, OD, pH e TDS.Essa similaridade indica que a introdução do componente vegetal não alterou a estabilidade físico-química dos RAS.

Os valores de amônia demonstraram a oscilação característica da fase inicial de ativação biológica do Sistema de Recirculação para Aquicultura (RAS). No início do experimento (D0), ambas as unidades apresentaram concentrações baixas, registrando 0,11 mg/L na unidade 2, sem planta e 0,13 mg/L na unidade 1, com planta.

Contudo, observou-se valor elevado em D0 (colocar valor), com pico em D7 (1,11 mg/L, sem planta e 0,93 mg/L, com planta), figura 8. O elevado valor inicial representa o período em que a taxa de geração de nitrogênio amoniacal superou temporariamente a capacidade de oxidação biológica do biofiltro, característico do processo de maturação (TIMMONS; EBELING, 2018).

Conforme discutido por Bains (2001) e Shnel *et al.* (2002), esse acúmulo temporário é esperado em sistemas em fase de implantação devido à ausência de uma densidade ótima de microrganismos autotróficos, previamente fixados nas mídias, caracteristico da fase “star-up” de maturação dos biofiltros.

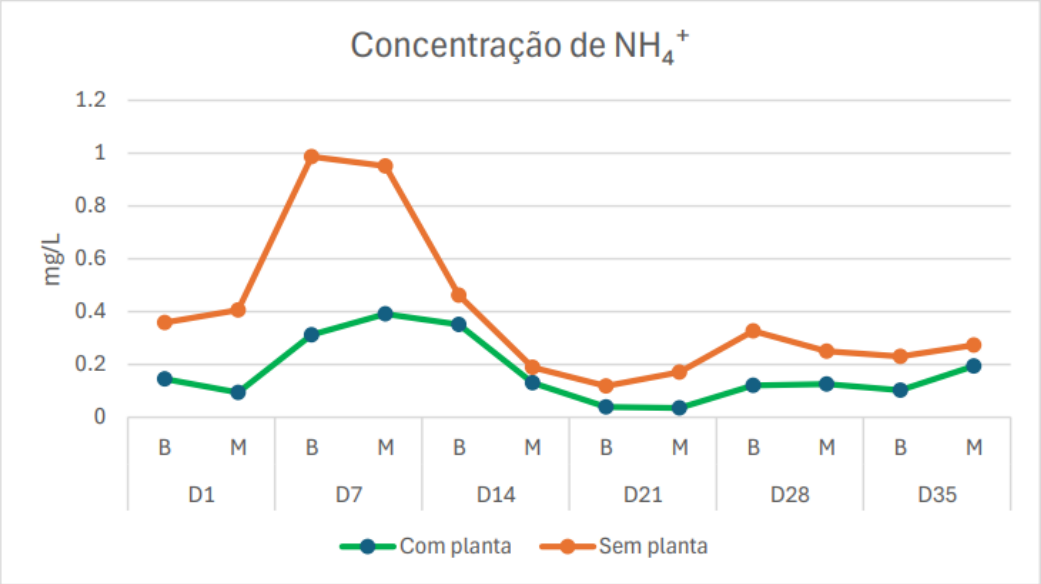

Figura 8. Dinâmica temporal das concentrações da amônia na água dos sistemas experimentais durante o período de maturação dos biofiltros.

Legenda: B = Brita; M = Mídia MBBR2; D1, D7, D14, D21, D28 e D35 = Dias de amostragem (Dia 1 ao Dia 35).

Fonte: Autoria própria.

Apesar do pico de concentração no D7, os níveis de amônia total permaneceram abaixo de 1,5 mg/L durante todo o período, em ambas as unidades. Na água, a amônia encontra-se em equilíbrio dinâmico entre a forma ionizada (NH_4^+), de menor toxicidade, e a forma não ionizada (NH_3), considerada a fração mais tóxica para os organismos aquáticos. De acordo com Ruiz *et al*. (2019), o controle rigoroso desses compostos é fundamental em sistemas de recirculação, uma vez que a NH_3 atravessa facilmente as membranas branquiais das tilápias por difusão passiva, devido à sua elevada lipossolubilidade, podendo causar lesões histológicas, alterações fisiológicas e distúrbios na osmorregulação.

A partir do D14, iniciou-se uma redução nas concentrações de amônia em ambos os biofiltros. Em D35 o sistema sem planta apresentou 0,14 mg/L, enquanto o sistema com planta foi 0,06 mg/L. Esses valores podem ser explicados pela quebra de latência e colonização ativa das Bactérias Oxidadoras de Amônia (BOA). Bartelme *et al.* (2018)

explicam que a presença do substrato amoniacal funciona como o indutor termodinâmico para a replicação das BOA (como as do gênero *Nitrosomonas*).

À medida que estas bactérias colonizam as mídias, a velocidade de conversão passa de um regime limitante para uma taxa constante de remoção em tempo real, provando que ambos os biofiltros alcançaram com sucesso a sua maturidade biológica para a depuração deste metabólito (TIMMONS; EBELING, 2018).

No início do monitoramento (D0 e D7), ambas as unidades apresentaram teores basais reduzidos, variando entre 0,02 e 0,04 mg/L. Contudo, em D14 observou-se acúmulo deste nutriente em ambas as configurações, atingindo a concentração máxima de, 0,47 mg/L e 0,41 mg/L nas unidades sem e com planta, respectivamente.

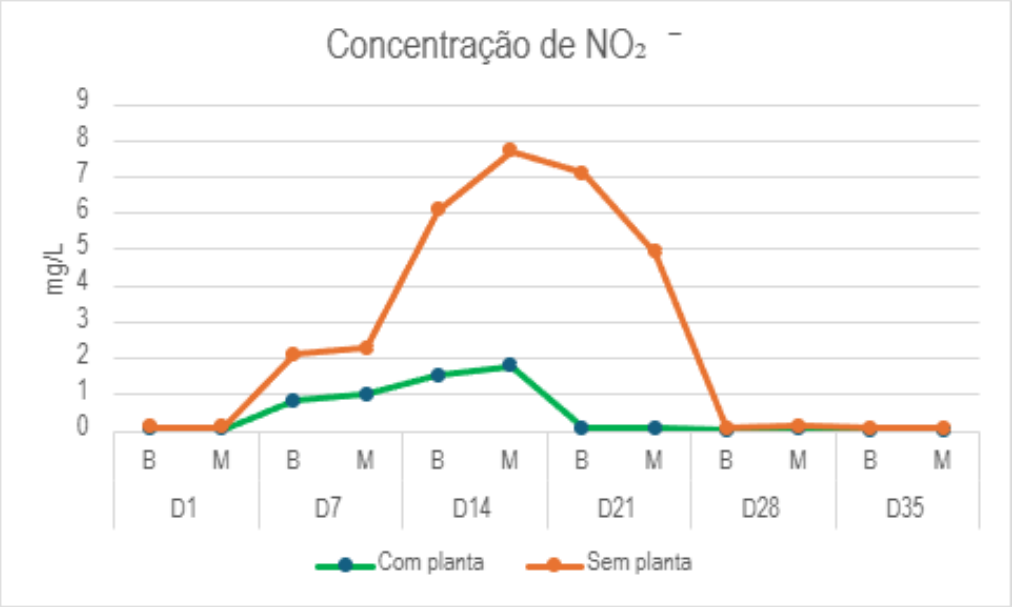

Figura 9. Dinâmica temporal das concentrações de nitrito na água das unidades de RAS durante o período de maturação dos biofiltros.

Legenda: B = Brita; M = Mídia MBBR2; D1, D7, D14, D21, D28 e D35 = Dias de amostragem (Dia 1 ao Dia 35).

Fonte: Autoria própria.

Como o nitrito é o produto intermediário do processo de nitrificação, sua curva de acúmulo temporário em D14 serve como o indicador químico mais sensível, de que a transição bacteriana e a colonização ativa de BOA, ocorreram com sucesso no ecossistema dos biofiltros, conforme preconizado por Zhao *et al.* (2022). De acordo com

as diretrizes estabelecidas por Cavalcante (2018) para sistemas fechados, os níveis de nitrito idealmente devem permanecer inferiores a 1,0 mg/L, enquanto Somerville *et al.* (2014) sugerem limites ainda mais restritivos (< 0,1 mg/L) para o manejo aquapônico. Dessa forma, embora o o valor observado em D14 tenha ultrapassado temporariamente o limite, manteve-se dentro da faixa ideal para o cultivo de organismos aquáticos como mostrado figura 9.

O nitrito exige monitoramento rigoroso em sistemas fechados, pois em altas concentrações pode induzir a oxidação da hemoglobina em meta-hemoglobina no sistema circulatório dos peixes, comprometendo o transporte de oxigênio mesmo em ambientes com alto percentual de OD (RUIZ *et al.*, 2019). No entanto, a rápida redução das concentrações observada a partir do D21 demonstrou processo de maturação satisfatório dos sistemas. Em D35os valores cairam para níveis seguros de 0,08 mg/L no sistema sem planta, e de 0,06 mg/L na unidade com hortelã-verde.

O subsequente declínio das concentrações de nitrito em direção a valores seguros demonstra que os biofiltros superaram o descompasso cinético inicial entre a produção e o consumo desse componente intermediário. Vlaeminck *et al.* (2010) ressaltam que o consumo efetivo do nitrito é estritamente regulado pelas Bactérias Oxidadoras de Nitrito (BON). Como essas bactérias (predominantemente dos gêneros *Nitrobacter*) possuem um rendimento energético menor, por mol de substrato oxidado, do que as BOA, a velocidade com que o sistema estabelece a taxa de remoção do nitrito é intrinsecamente mais lenta, justificando o período de 14 dias para que os valores atingissem níveis desejáveis estáveis.

Ao contrário dos picos observados na amônia e no nitrito, o nitrato apresentou aumento apresentaram oscilações ao longo do monitoramento, mantendo uma dinâmica de altos e baixos em ambas as unidades. No sistema sem planta, os valores flutuaram predominantemente entre 17 mg/L e 30 mg/L, finalizando o período (D35) em torno de 27 mg/L. Já no sistema com planta, observou-se uma tendência geral de declínio nas concentrações ao longo dos dias, iniciando próximo a 16 mg/L em D1 e encerrando o experimento (D35) em patamares inferiores a 5 mg/L, conforme ilustrado na Figura 10.

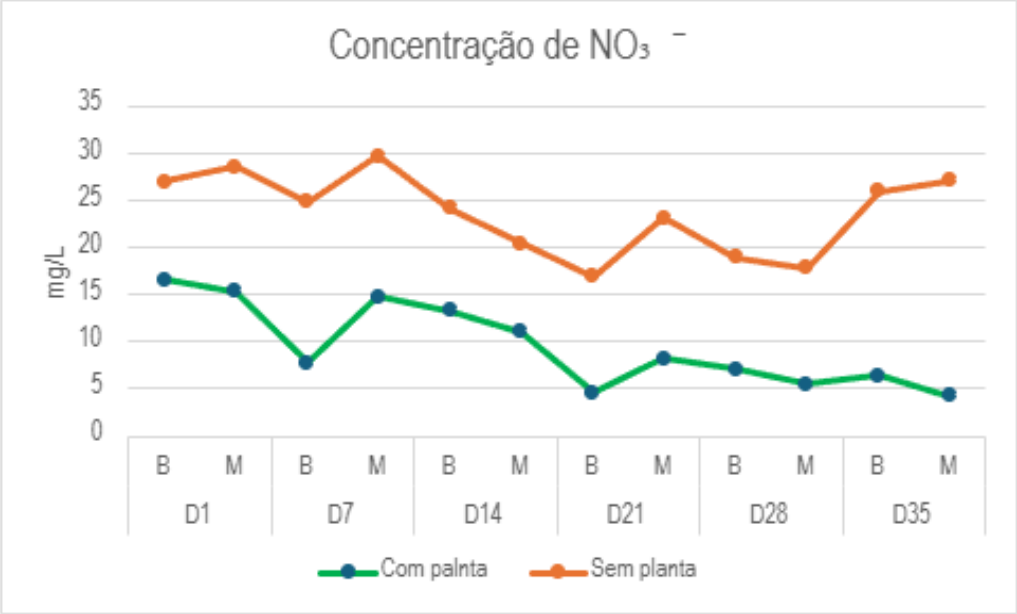

Figura 10. Acúmulo progressivo das concentrações de nitrato na água dos sistemas experimentais como indicador de fechamento do ciclo do nitrogênio.

Legenda: B = Brita; M = Mídia MBBR2; D1, D7, D14, D21, D28 e D35 = Dias de amostragem (Dia 1 ao Dia 35).

Fonte: Autoria própria.

Essa dinâmica de acúmulo constante caracteriza a etapa final da nitrificação (nitração), na qual o nitrito é convertido a nitrato pelas bactérias de segundo estágio. A presença de curvas de nitrato em ascensão permanente, associada ao declínio subsequente dos metabólitos anteriores, confirma que o ciclo do nitrogênio foi concluído e consolidado com sucesso nas unidades experimentais (PEDERSEN *et al.*, 2019).

Esse comportamento dos compostos nitrogenados assemelha-se ao descrito por Rakocy *et al.* (2006) e Somerville *et al.* (2014), sendo um indicador clássico de que o biofiltro está maduro e funcional. Além disso, a sutil redução nos níveis de nitrato observada nas unidades com hortelã-verde alinha-se ao padrão de assimilação vegetal relatado por Leira *et al*. (2017), o que confirma a contribuição da planta, na remoção ativa desse nutriente.

O nitrato é o composto nitrogenado com menor risco de toxicidade no cultivo de peixes, sendo amplamente tolerado pelas tilápias. Conforme apontado por Kubitza (2019), valores inferiores a 100 mg/L são considerados perfeitamente seguros para sistemas de recirculação aquícola (RAS). Além disso, os resultados observados

mantiveram dentro da faixa ideal recomendada por Somerville *et al*. (2014), para sistemas integrados, para garantir a disponibilidade de nutrientes essenciais aos vegetais sem comprometer o bem-estar animal.

A diferença observada no D35, em que a unidade com planta acumulou 10 mg/L a menos de nitrato em comparação a unidade sem planta, evidencia o papel biofiltrador e produtivo da hortelã-verde (*Mentha spicata*). Em sistemas fechados com altas taxas de recirculação e mínima renovação de água, o acúmulo indefinido desse íon é inevitável, a menos que haja um processo de descarte ou assimilação. No sistema integrado, as raízes da macrófita atuaram como um dreno secundário de nutrientes (sorção vegetal), absorvendo o nitrato disponível no meio para a síntese de sua própria biomassa, auxiliando na estabilização química do efluente aquático (TIMMONS; EBELING, 2013).

4.2 Bactérias nitrificantes

A estimativa da presença de bactérias nitrificantes nos substratos avaliados, foi realizada em comparação a um grupo controle, branco (BA), de forma a assegurar a validade dos resultados e confirmar a ausência de contaminação durante o processo de incubação. Para tal, foi utilizada água destilada, submetida aos mesmos procedimentos de cultivo e análise que as amostras dos substratos de cada unidade. A manutenção de valores mínimos de densidade populacional para BOA e BON neste controle (Figuras 11 e 12) válida a assepsia dos meios de cultura, e do manuseio laboratorial, garantindo que o crescimento observado para cada substrato das unidades de RAS representou as comunidades microbianas dos biofiltros.

As Bactérias Oxidadoras de Amônia (BOA) são responsáveis pela primeira etapa do processo de nitrificação em sistemas de recirculação aquícola (RAS). No presente estudo, observou-se que a densidade inicial de BOA em todos os substratos era baixa (2,9 NMP/mL), o que é característico de sistemas em fase de instalação. Após 30 dias de maturação, houve um aumento populacional significativo, confirmando condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento desses microrganismos (Figura 11).

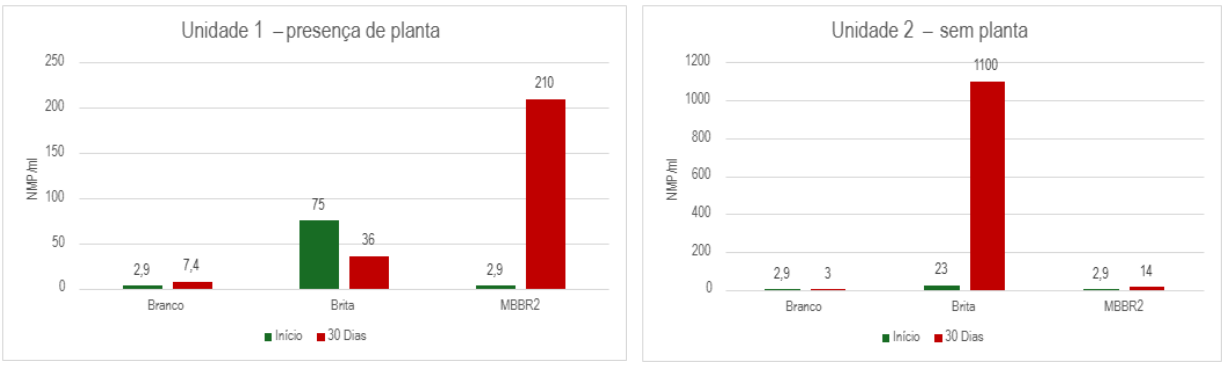

Figura 11. Densidade populacional de Bactérias Oxidadoras de Amônia (BOA) nos substratos avaliados, com e sem a presença de plantas, ao início (0 dias) e ao final (30 dias) do período de maturação dos biofiltros.

Fonte: Autoria própria.

O resultado mais expressivo foi observado no substrato brita na unidade sem planta, que atingiu densidade de 1100 NMP/mL de BOA. Este valor indica uma alta taxa de colonização, sugerindo que a amônia disponível no sistema foi eficientemente utilizada como fonte de energia para o crescimento bacteriano. De acordo com Del'Duca *et al.* (2019), as BOA são pioneiras na formação do biofilme e sua densidade está diretamente relacionada à carga de nitrogênio amoniacal total (NAT) presente na água, sendo a brita um suporte eficaz para sustentar tais populações em sistemas sem competição vegetal.

Contudo, a introdução da hortelã-verde (*Mentha spicata*) alterou drasticamente este cenário, reduzindo a população de BOA na brita para apenas 36 NMP/mL aos 30 dias. Esta queda acentuada pode ser explicada primeiramente pela competição direta por nutrientes, visto que, em sistemas de aquaponia, as plantas possuem uma afinidade muito alta pelo amônio, absorvendo-o rapidamente através das raízes para a síntese proteica (RAKOCY *et al.,* 2006). Essa absorção competitiva reduz a concentração de substrato disponível para as BOA no biofiltro, limitando severamente sua capacidade de expansão populacional.

Além da competição nutricional, deve-se considerar o potencial efeito alelopático da hortelã sobre as BOA. Estudos indicam que espécies do gênero *Mentha* liberam óleos essenciais e compostos voláteis que possuem propriedades bactericidas e

bacteriostáticas. A liberação desses exsudatos na rizosfera pode ter exercido uma pressão inibitória sobre as BOA fixadas na brita, dificultando sua proliferação (PATRA *et al.,* 2002). Este fenômeno, conhecido como inibição natural da nitrificação (NI), consiste em uma estratégia de algumas plantas para conservar o nitrogênio na forma amoniacal no solo ou na água (CHALGHOUFI *et al.*,2019).

Por outro lado, a mídia comercial MBBR2 apresentou um comportamento inverso na presença da planta, passando de 14 NMP/mL (sem planta) para 210 NMP/mL (com planta). Este aumento sugere que, embora as BOA enfrentem competição por nutrientes, a presença da planta pode oferecer benefícios indiretos em substratos sintéticos, como a liberação de carbono orgânico, que auxilia na estruturação da matriz do biofilme. Assim, a dinâmica das BOA se mostra como o resultado de um equilíbrio complexo entre a oferta de substrato, a competição vegetal e as propriedades químicas do meio de suporte (AZEVEDO *et al.,* 2018).

Este aumento rápido na quantidade de BOA no início ocorreu, possivelmente, devido as altas concentrações de amônia disponível na água, que serviram como fonte de nutriente para essas bactérias. Esse comportamento é comum, e foi descrito por Timmons e Ebeling (2018), que explicam que as bactérias oxidadoras de amônia são sempre as primeiras a crescer e a dominar o biofiltro.

As Bactérias Oxidadoras de Nitrito (BON) constituem o segundo elo da cadeia nitrificante, sendo responsáveis pela conversão do nitrito (altamente tóxico) em nitrato. Os resultados obtidos mostraram que as populações de BON cresceram de forma mais gradual e estável em comparação às BOA. Partindo de níveis iniciais de 15 a 28 NMP/mL. As BON atingiram seu pico na brita aos 30 dias, com 150 NMP/mL no sistema sem planta e 120 NMP/mL no sistema com planta. Este crescimento confirma a sucessão ecológica esperada, onde o estabelecimento das BON ocorre após a produção de nitrito pelas BOA (Figura 12).

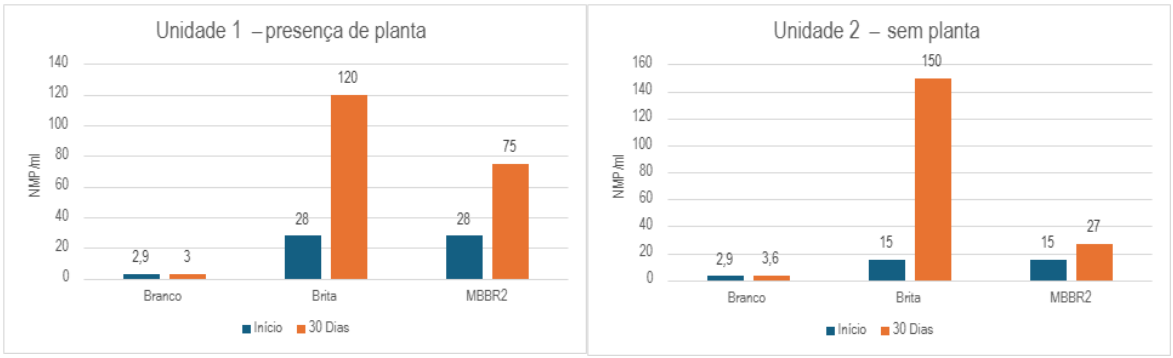

Figura 12. Densidade populacional de Bactérias Oxidadoras de Nitrito (BON) nos substratos avaliados, com e sem a presença de plantas, ao início (0 dias) e ao final (30 dias) do período de maturação dos biofiltros.

Fonte: Autoria própria.

A densidade populacional das BON foi consistentemente menor que a das BOA em quase todos as possibilidades observadas, diferença que se fundamenta na própria bioenergética desses microrganismos. Como a oxidação do nitrito gera menos energia por mol de substrato do que a oxidação da amônia, as BON possuem uma taxa de crescimento mais lenta e uma menor produção de biomassa por unidade de substrato. Conforme explica Van Rijn (2013), as BON são frequentemente o "gargalo" da nitrificação em sistemas RAS, exigindo um ambiente estável para evitar o acúmulo prejudicial de nitrito.

Diferente das BOA, as BON na brita não sofreram uma redução drástica com a presença da hortelã-verde, reduzindo de forma sutil de 150 para 120 NMP/mL. Isso sugere que as oxidadoras de nitrito podem ser menos sensíveis à competição direta com as plantas ou aos compostos aleloquímicos da hortelã. Como a vegetação prefere absorver prioritariamente o amônio ou o nitrato, o nitrito disponível no sistema acaba sendo processado de maneira quase exclusiva pelas BON, permitindo que elas mantenham uma população relativamente estável mesmo em sistemas consorciados (SOMERVILLE *et al.*, 2014).

A estabilidade das BON na brita também pode estar relacionada à profundidade estrutural do biofilme. Em substratos rugosos como a brita, as BON tendem a se localizar

em camadas mais internas da matriz polimérica celular, ficando protegidas pela barreira externa formada pelas BOA. Essa localização de caráter estratégico atua como um refúgio biológico, resguardando o grupo bacteriano contra variações bruscas na química da água e contra possíveis substâncias inibitórias liberadas pelas raízes da *Mentha spicata* (PEDERSEN *et al.*, 2019).

Os resultados sugerem que a planta pode favorecer o ambiente microbiano. Há autores associam essa interação à rizodeposição (ATIQUE *et al.*, 2023), hipótese que deve ser investigada em estudos futuros. Ou seja, esta interação pode ser explicada pela 'rizodeposição', onde a planta libera aminoácidos e açúcares que estimulam a atividade microbiana geral, criando um efeito sinérgico que favorece o estabelecimento das bactérias nitrificantes. Diferentemente de Atique *et al.* (2023), foi possível observar no presente estudo, que a maturação ocorreu de forma mais uniforme nos substratos comerciais, sugerindo que a composição da mídia potencializa os benefícios biológicos oferecidos pela planta.

Em suma, a dinâmica das BON demonstra que a maturação do biofiltro atingiu a fase de oxidação completa do nitrogênio. Mesmo com densidades numericamente inferiores às das BOA, a presença constante de populações de BON ao final dos 30 dias indica que o biofiltro está funcional. A manutenção desse equilíbrio entre os dois grupos de bactérias é o que assegura a qualidade da água e a sanidade dos organismos cultivados, evidenciando que a brita se consolida como um suporte robusto para a manutenção da microbiota nitrificante total (RUIZ *et al.*, 2019).

4.3 Desenvolvimento da Hortelã-Verde (*Mentha spicata*)

O desenvolvimento vegetativo da hortelã-verde (*Mentha spicata*) foi monitorado como um indicador da eficiência da reciclagem de nutrientes nos sistemas RAS. Partindo de plantas com média de 15 cm e ausência inicial de raízes, todas as plantas apresentaram crescimento positivo ao final dos 35 dias, demonstrando a viabilidade da espécie em sistemas integrados. No entanto, observou-se uma superioridade biométrica nas plantas cultivadas na mídia comercial MBBR2, que atingiram um comprimento total

(CT) médio de 81,77±30,27 cm, enquanto as plantas na brita alcançaram 65,23±10,60 cm (Figura 13).

Figura 13 – Desenvolvimento da *Mentha spicata* nos substratos Brita (A) e Mídia Comercial MBRR2 (B) após 35 dias.

Fonte: Autoria própria.

O crescimento superior proporcionado pela mídia comercial foi constatado tanto no comprimento da raiz (CR) quanto no comprimento da parte aérea (CPA). Na mídia MBBR2, as raízes atingiram uma média de 42,17±16,52 cm, superando os 33,67±11,93 cm observados na brita. O desenvolvimento radicular é um fator determinante para a saúde do sistema, pois raízes mais longas e ramificadas aumentam a área de contato para a absorção de nutrientes e para a colonização por microrganismos promotores de crescimento vegetal. Conforme Rakocy *et al.* (2006), o vigor radicular em sistemas aquapônicos está diretamente ligado à disponibilidade de oxigênio e à eficiência da nitrificação no substrato.

A maior densidade e rugosidade superficial do substrato tipo brita proporciona maior estabilidade mecânica para a ancoragem inicial das raízes. Esse "atrito" e a presença de espaços intersticiais mais estreitos e irregulares podem ter estimulado a infiltração

radicular por geotropismo, onde o contato físico com o substrato sólido induz alterações no padrão de crescimento (SOMERVILLE *et al.*, 2014). Em substratos mais leves e lisos, como a mídia comercial, a raiz tende a crescer de forma mais livre, enquanto na brita, a necessidade de contornar os obstáculos minerais pode favorecer uma arquitetura radicular mais adaptada à fixação mecânica do vegetal.

Adicionalmente, a densidade aparente do substrato influencia diretamente a resistência à penetração radicular, onde materiais mais pesados, como o cascalho/brita, forçam a planta a investir em uma estrutura de ancoragem mais robusta para garantir a sustentação da parte aérea em ambientes com fluxo de água (SOMERVILLE *et al*., 2014).

A parte aérea também seguiu esta tendência, com a mídia MBBR2 apresentando média de 39,6±17,22 cm contra 31,57±4,29 cm da brita. O maior desenvolvimento foliar indica que a planta conseguiu converter o nitrogênio (na forma de nitrato) em biomassa de forma mais eficiente na mídia comercial. Este resultado é particularmente interessante quando cruzado com os dados microbiológicos: embora a brita tenha tido mais bactérias, a mídia MBBR2 parece ter proporcionado um ambiente mais equilibrado para a absorção vegetal, possivelmente devido à menor retenção de aleloquímicos, ou melhor circulação de água entre as raízes (SOMERVILLE *et al.*, 2014).

A variabilidade observada (desvio padrão) foi maior na mídia MBBR2 (30,27 para CT), indicando que algumas plantas responderam de forma excepcional a este substrato, chegando a atingir 140 cm de comprimento total. Esse potencial de crescimento demonstra que a mídia comercial, quando devidamente colonizada, pode superar os substratos naturais em termos de produtividade vegetal. Segundo Atique *et al.* (2023), o crescimento acelerado da *Mentha spicata* em sistemas RAS é favorecido pela constante oferta de nutrientes e pela aeração radicular proporcionada pelo fluxo de água, fatores que parecem ter sido otimizados na configuração com mídia sintética.

De forma geral, os dados de desenvolvimento das plantas sugerem que a hortelã-verde possui uma excelente adaptação ao sistema proposto. A superioridade do desenvolvimento na mídia MBBR2 sugere que este substrato, apesar de uma colonização bacteriana inicial mais lenta, favorece o estabelecimento de uma simbiose mais produtiva entre planta e microbiota a médio prazo. Assim, para sistemas que visam

a produção de biomassa vegetal como subproduto de valor comercial, a utilização de mídias comerciais integradas à hortelã apresenta-se como uma estratégia promissora (AZEVEDO *et al.*, 2018).

5 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou o sucesso da maturação de biofiltros e o estabelecimento da nitrificação em sistemas de recirculação aquícola (RAS), com a integração da Mentha spicata atuando como um biofiltro adicional eficaz na redução de amônia e nitrito. Os resultados validam a estratégia de aquaponia para promover bactérias nitrificantes, independentemente do substrato.

Observou-se que a presença da planta antecipa a estabilização do ciclo do nitrogênio. A brita mostrou-se um substrato economicamente viável e eficiente para a colonização microbiana inicial, enquanto a mídia comercial MBBR2 proporcionou uma melhor interação a médio prazo, especialmente para a produção de subprodutos vegetais de alto valor.

Como perspectivas futuras, recomenda-se a realização de testes com diferentes densidades de plantio da hortelã-verde, visando determinar o manejo ideal para otimizar a eficiência biofiltrante e a produtividade vegetal do sistema.

6 REFERÊNCIAS

ATIQUE, F. **The effect of plants on microbes, water quality, and fish performance in an aquaponic system. 2023**. 184 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas e Ambientais) – University of Jyväskylä, Finlândia, 2023.

ATIQUE, F. et al. Mentha species as promising candidates for microbiome modulation in aquaponics. **Journal of Cleaner Production**, v. 415, 137812, 2023.

AVNIMELECH, Y. Biofilters: the need for an integrated approach. **Aquacultural Engineering**, v. 64, p. 1-7, 2015.

AZEVEDO, R. S. et al. Microbiota dynamics in tilapia and biofloc systems. **Aquaculture**, v. 490, p. 150-160, 2018.

BAINS, S. K. Biofilter startup strategies in closed recirculating systems. 2001. Thesis (Master in Aquacultural Engineering) – Wageningen University, Wageningen, 2001.

BARTELME, R. P. et al. Hydroponic conditions shape the rhizosphere bacterial community of plants cocultured with Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 2, p. 10-24, 2018.

BIOCELL. Como funciona a mídia de biofiltro MBBR. **Conhecimento Técnico**, 2025.

BOYD, C. E. **Water Quality: An Introduction**. 2. ed. Cham: Springer, 2015.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998.

BREGNBALLE, J. **A guide to recirculation aquaculture**: an introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems. Rome: FAO, 2022.

CAVALCANTE, C. H. A. Estudo da capacidade de fixação de bactérias heterotróficas e nitrificantes, em diferentes meios de suportes, no cultivo de alevinos de *Oreochromis niloticus*, em sistema de recirculação de água. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

CHALGHOUFI, R.; ALAOUI, H.; EL-MOUSADIK, A. Allelopathic Activity of Spearmint (*Mentha spicata* L.) and Peppermint (*Mentha piperita* L.) Reduces Yield, Growth, and Photosynthetic Rate in a Succeeding Crop of Maize (*Zea mays* L.). **Agronomy**, v. 9, n. 8, p. 461, 2019.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Brasília: CONAMA, 2005.

COSTA, N. S. P. Maturação de biofiltros em RAS utilizando diferentes mídias filtrantes. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2024.

COSTA, N. S. P. Maturação de biofiltros em RAS utilizando diferentes mídias filtrantes. **Revista Delos**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2025.

EL-SAYED, A.-F. M. **Tilapia Culture**. 2. ed. London: Academic Press, 2020.

EMBRAPA. **Sistema de aquaponia com leito cultivado semisseco para recria de peixes**. Circular Técnica 43. 2021.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**: Towards Blue Transformation. Rome: FAO, 2022.

GODDEK, S. et al. Aquaponics: a review of the state of the art. **Reviews in Aquaculture**, v. 7, n. 3, p. 159-176, 2015.

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

ITO, B. C. Uso de sedimento de sistemas aquícolas para produção de plantas medicinais. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal, 2024.

KINYAGE, J. P. H.; PEDERSEN, P. B.; PEDERSEN, L.-F. Effects of abrupt salinity increase on nitrification processes in a freshwater moving bed biofilter. **Aquacultural Engineering**, v. 84, p. 91-98, 2019.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação de peixes**. Jundiaí: Edição do Autor, 2003.

KUBITZA, F. **Qualidade da água na produção de peixes**. Jundiaí: Edição do Autor, 2006.

KUBITZA, F. Sistemas de recirculação: o coração da piscicultura intensiva. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 24, n. 142, p. 14-23, 2014.

KUBITZA, F. **Qualidade da água e dinâmica de nutrientes em sistemas de recirculação para aquicultura**. Piracicaba: Ed. do Autor, 2019.

LEIRA, M. H. et al. Importância dos parâmetros físico-químicos da água na piscicultura. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 277-286, 2017.

LOH, J. Y. et al. Biofiltration in recirculating aquaculture systems: a review. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 4, p. 1456-1478, 2021.

MARQUES, G. A. Métodos de rotulação de imagem para contagem de peixes. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Computação) – Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2023.

MARTINS, C. I. M. et al. Recirculating aquaculture systems: a review of the state-of-the-art. **Aquacultural Engineering**, v. 84, p. 12-27, 2019.

MOORE, R.; QUARMBY, J.; STEPHENSON, T. The effects of media size on the performance of biological aerated filters. **Water Research**, v. 35, n. 10, p. 2514-2522, 2001.

OLIVEIRA, R. A. Toxicidade da amônia em sistemas de recirculação científica. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2025.

OWATARI, M. S. et al. Sistemas de recirculação e reúso de água na aquicultura: uma ferramenta para sustentabilidade. In: **Ciências Agrárias**: a multidisciplinaridade dos recursos naturais. Editora Conhecimento Livre, 2022. p. 65-90.

PATRA, D. D. et al. Nimin and *Mentha spicata* oil as nitrification inhibitors for optimum yield of Japanese mint. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 33, n. 1-2, p. 339-351, 2002.

PEIXEBR. **Anuário PeixeBR da Piscicultura 2026**. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura, 2026.

PIRES, N. S. Maturação de biofiltros em RAS utilizando diferentes mídias filtrantes. 2023. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2023.

RAKOCY, J. E.; MASSER, M. P.; LOSORDO, T. M. Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics – Integrating fish and plant culture. **SRAC Publication**, n. 454, 2006.

RODRIGUES, R. B. et al. Condutividade elétrica e o manejo da qualidade da água em sistemas de criação de organismos aquáticos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, n. 4, p. 415-427, 2013.

RUIZ, P. et al. Bacterial communities and biofilm dynamics in aquaculture biofilters. **Water Research**, v. 182, 115982, 2020.

SANTOS, G. M. Densidade de estocagem de juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em RAS: influência sob a dinâmica dos nutrientes. 2025. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2025.

SCHMIDT, E. L.; BELSER, L. W. Nitrifying bacteria. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Eds.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v. 1, p. 450-461, 1984.

SHNEL, N.; VAN RIJN, J.; AVNIMELECH, Y. The effect of biofilter design on the nitrification process in recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 26, n. 1, p. 1-13, 2002.

SILVA, J. A.; SOUZA, A. C.; OLIVEIRA, M. S.; COSTA, R. S. **Técnicas de Análise Microbiológica de Água e Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2017.

SILVA, T. A. Efeito do exsudado da raiz de hortelã bergamota (*Mentha × piperita* var. *citrata*) sobre monogenoides em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em sistema de recirculação. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

SOMERVILLE, C. et al. **Small-scale aquaponic food production**: integrated fish and plant farming. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, n. 589, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M. **Recirculating Aquaculture Systems**. 3. ed. Ithaca: Cayuga Aqua Ventures, 2013.

TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M. **Recirculating Aquaculture**. 4. ed. Ithaca: Cayuga Aqua Ventures, 2018.

VAN RIJN, J. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 53, p. 49-56, 2013.

VLAEMINCK, S. E.; TERRE, M.; VAN DER HEYDEN, J.; VERSTRAETE, W. Nitrite-oxidizing bacteria in biological wastewater treatment: from diversity to application. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, n. 2, p. 421-432, 2010.

YUAN, Q. et al. Advances in recirculating aquaculture systems: a review. **Aquaculture**, v. 590, 741234, 2025.

ZHAO, Y.; LI, J.; ZHANG, L.; LIU, S.; ZHANG, X. Succession and functional characteristics of nitrifying biofilms under different C/N ratios in recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 552, 737996, 2022.