



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA - FACET



Carolina de Sena Madureira Figueiró

**APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE FLUORESCÊNCIA E ABSORÇÃO NO UV-VIS
NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE PISCICULTURA.**

Dourados - MS
2020

Carolina de Sena Madureira Figueiró

**APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE FLUORESCÊNCIA E ABSORÇÃO NO UV-VIS
NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE PISCICULTURA.**

Tese apresentada ao Programa de Ciências e
Tecnologia Ambiental, da Universidade
Federal da Grande Dourados, para a
obtenção do título de Doutor (a) em Ciência
e Tecnologia Ambiental.

Área de Concentração – Ciência Ambiental

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Seila Rojas De Souza
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Regina Russo

Dourados - MS
2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação UFGD

Figueiró, Carolina de Sena Madureira.

Aplicação das técnicas de fluorescência e absorção no UV-Vis na avaliação da qualidade da água de piscicultura. / Carolina de Sena Madureira Figueiró; orientadora: Seila Rojas de Souza - Dourados, 2020.

114 p.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Área de Concentração: Ciência Ambiental – Faculdade de Ciência, Engenharia e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Espectroscopia de Fluorescência. 2. Espectroscopia no Ultravioleta Visível. 3. Qualidade da água. 4. Piscicultura. I. Título.

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob a exclusiva responsabilidade do autor.

Dourados, 31 de março de 2020.

Carolina de Sena Madureira Figueiró.

Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a tese intitulada: **“Aplicação das Técnicas de Fluorescência e Absorção no UV-Vis para avaliação da qualidade da água de piscicultura”**, de autoria de **Carolina de Sena Madureira Figueiró**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.



Prof.^a Dr.^a Seila Rojas de Souza - (Participação Remota Síncrona)
Presidente da banca examinadora



Prof. Dr. Eriton Rodrigo Botero - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Ivan Ramires - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)



Profa. Dra. Daniele Menezes Albuquerque - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Sandro Márcio Lima - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UEMS)

Dourados/MS, 31 de Março de 2020.



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA PELA ALUNA CAROLINA DE SENA MADUREIRA FIGUEIRÓ, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "TECNOLOGIA AMBIENTAL".

Aos 31 dias do mês de março de dois mil e vinte, às 13h20, em sessão pública, realizou-se, nas dependências da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada "Aplicação das Técnicas de Fluorescência e Absorção no UV-Vis para avaliação da qualidade da água de piscicultura", apresentada pela doutoranda Carolina de Sena Madureira Figueiró, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, à Banca Examinadora constituída pelos professores Dr.^a Seila Rojas de Souza/UFGD (presidente/orientadora), Dr. Eriton Rodrigo Botero/UFGD (membro interno titular), Dr. Ivan Ramires/UFGD (membro interno titular), Dra. Daniele Menezes Albuquerque/UFGD (membro externo titular) e Dr. Sandro Márcio Lima/UEMS (membro externo titular). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer a candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa da candidata. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada APROVADA, fazendo jus ao título de DOUTORA EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL. Os membros da banca abaixo citados atestam que participaram de forma remota desta defesa de tese, considerando a candidata APROVADA, conforme declaração anexa. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 31 de Março de 2020.

Dra. Seila Rojas de Souza (participação remota síncrona) Seila Rojas de Souza
Dr. Eriton Rodrigo Botero (participação remota síncrona) Eriton Rodrigo Botero
Dr. Ivan Ramires (participação remota síncrona) Ivan Ramires
Dra. Daniele Menezes Albuquerque (participação remota síncrona) Daniele Menezes Albuquerque
Dr. Sandro Márcio Lima (participação remota síncrona) Sandro Lima

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/___, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA/UFGD.

Minha eterna gratidão,
Luiz David e Maria Augusta.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus, porque todo propósito da minha existência é de poder cumprir minha missão para que eu possa servir como Seu instrumento.

Agradeço a minha orientadora Prof.^a Dra. Seila Rojas de Souza, pela confiança a mim depositada, seu apoio, e sua valiosa orientação e amizade que foi de extrema importância para meu amadurecimento e crescimento como pessoa e como profissional. Sem sua experiência e visão, esse trabalho se tornou possível.

À CAPES, pela bolsa concedida durante uma parte do doutoramento, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental – PPGCTA, por todo apoio ao desenvolvimento do projeto.

Agradeço também à Prof.^a Dra. Márcia Regina Russo pela confiança, sua colaboração e apoio, proporcionando meios para que esse trabalho fosse realizado, e juntamente agradecer à equipe do Núcleo de Pesquisa em Aquicultura – NUPAQ, pelo apoio nas coletas em campo.

Ao grupo do laboratório de Materiais Cerâmicos Avançados – LMCA, em nome do Prof. Dr. José Ezequiel, pelas conversas e apoio na realização desse trabalho.

Quero agradecer todo grupo de Óptica Aplicada – GOA, em nome do Prof. Dr. Eriton Botero, que contribuíram para a execução deste trabalho. Agradeço também à equipe do Laboratório de Espectrofotometria e Cromatografia Aplicada – LECA, em nome do Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira, por disponibilizar o uso do equipamento para nossas análises.

Ao Prof. Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo e sua equipe do Laboratório Multiusuário de Equipamentos e Análises Ambientais – LAMEAA, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Curitiba, que abriu ‘as portas’ e me recebeu com carinho para que eu pudesse realizar algumas análises complementares à pesquisa, muito obrigada. Agradeço também à Carol Kozak da UFPR por compartilhar seu conhecimento me ajudando de longe, no tratamento dos dados de fluorescência. Valeu chará!

Aos amigos e colegas da UFGD, que me acompanharam nessa trajetória, que parecia não ter fim, mas graças à vocês, pelas conversas, risadas e troca de conhecimentos, eu pude concluir esse trabalho com alegria e fé: Jaldair, Eliene, Maycon, Herberth Lee, Enderson, Poliane.

Agradeço imensamente à Branca Maria Ocampos Koswoski, ministra do Johrei Center Dourados, que me escutou, orientou, incentivou e me ensinou a ter gratidão em todas as situações, sejam elas boas ou ruins. À minha amiga Paula Doldan, com muito amor e gratidão, conectadas pelo ‘sonen’, você foi e é muito importante para mim.

Obrigada a todos os membros e ministros da Igreja Messiânica Mundial do Brasil, representado pelo atual ministro Rafael Machado, onde pude aprender a ser uma pessoa mais feliz e grata, com as práticas do jorei, da agricultura natural e do belo.

As minhas amigas e amigos de Dourados, Campo Grande e Cuiabá: Nayara, Danusa, Ynaê e Sérgio, pela amizade, carinho e apoio em todos os momentos, que mesmo de longe ou perto, sempre estiveram na torcida. Obrigada pelas ajudas e palavras de incentivo.

Agradeço ao meu companheiro Fernando A. Campos, pelo carinho e cuidado comigo, por me apoiar e participar de significativas mudanças em minha vida.

Aos meus irmãos: Mariana, irmã e amiga de todas as horas, obrigada por me incentivar, dizendo que posso e faço, valeu amore, te amo! Irmão, André, mesmo de longe, e às vezes perto, obrigada pelo apoio e carinho, te amo! À minha tia Maria pelo carinho e incentivos e comidinhas maravilhosas. Meus sobrinhos, Isis Maria e Thiago, seus lindos, eu amo vocês!

Aos meus antepassados, principalmente às minhas avós Edith e Laurinda (*in memoriam*) que me apoiaram em vida e me deram todo amor e carinho, os meus mais sinceros agradecimentos!

Por último, em especial, fica minha eterna gratidão com todo meu amor e respeito, aos meus queridos, pai, Luiz David e mãe, Maria Augusta, por me dar todo amor, incentivo, coragem para enfrentar os obstáculos da vida. Pai e Mãe, vocês são incríveis e eu amo vocês!!

“Não sabendo que era impossível, ele foi lá e fez”

Jean Cocteau

RESUMO

Figueiró, C. de S. M. **Aplicação das Técnicas de Fluorescência e Absorção no UV-Vis na Avaliação da Qualidade da Água de Piscicultura**. 2020. 106 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciência Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados 2020.

Análises da qualidade de água em diversos sistemas aquáticos têm despertado o interesse de muitos pesquisadores. Portanto, técnicas espectroscópicas têm sido utilizadas como uma ferramenta poderosa na avaliação da origem e composição da matéria orgânica e outras substâncias presentes nos diversos sistemas aquáticos, permitindo uma análise mais precisa do ambiente e da qualidade da água. No campo da piscicultura, diferentes compostos participam diretamente na dinâmica e funcionamento da produção piscícola, como por exemplo, proteínas (triptofano e tirosina), matéria orgânica e clorofila. Neste estudo foram realizadas análises da qualidade da água por parâmetros físico-químicos convencionais, e por espectroscopia de fluorescência e absorção no UV-Vis em quatro viveiros e no córrego que os abastece, localizados na cidade de Laguna Carapã, em MS. As coletas de amostras de água e sua caracterização foram realizadas mensalmente ao longo de um ciclo produtivo de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Os parâmetros físico-químicos analisados foram oxigênio dissolvido, pH, temperatura da água, nitrogênio amoniacal, condutividade elétrica, sólidos dissolvidos totais e transparência da água. Para as análises espectroscópicas foram realizadas leituras de amostras de água bruta e filtrada. A partir da análise de fluorescência, foi possível identificar e monitorar a presença de substâncias proteicas e matéria orgânica dissolvida (MOD), bem como, o comportamento destes componentes ao longo do ciclo de produção. A emissão de fluorescência da matéria orgânica representou a região de maior intensidade nos espectros das amostras brutas, enquanto a intensidade de fluorescência das proteínas representou as maiores intensidades nas amostras filtradas. Dentre os processos utilizados, a filtragem da água se mostrou mais efetiva na identificação dos componentes proteicos de interesse. Quanto as substâncias proteicas, o triptofano (T_1) e a tirosina (B_2) apresentaram as menores intensidades de fluorescência nos espectros das amostras filtradas quando comparadas a outras regiões, como o triptofano (T_2), tirosina (B_1). O sinal T_1 do triptofano demonstrou ser o melhor indicador para monitoramento da proteína, com uma resposta de fluorescência linear em função de sua concentração na água. Considerando a MOD, foi observada uma ampla região de emissão nos espectros de fluorescência para todas as amostras brutas, sendo associada a substâncias autóctones, como confirmado pela técnica de absorção no UV-Vis. Além disso, nossos resultados demonstraram que as técnicas de espectroscopia de fluorescência e de absorção na região do UV-Vis apresentam um grande potencial para a análise qualitativa/quantitativa de componentes de interesse da água de piscicultura, complementar à análise dos parâmetros físico-químicos.

Palavras-chave: Absorção no UV-Vis, Espectroscopia de Fluorescência, Piscicultura, Qualidade da Água.

ABSTRACT

Figueiró, C. de S. M. Application of UV-Vis Fluorescence and Absorption Techniques for Fish Water Quality Assessment. 2020. 106 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciência Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados 2020.

Water quality analyzes in several aquatic systems has attracted the interest of many researchers. Spectroscopic techniques have been used as powerful tool in the assessment of the origin and composition of organic matter and other substances present in the various aquatic systems, allowing a more accurate analysis of the environment and water quality. Regarding the fish farming, different compounds are directly involved in the dynamics and functioning of fish production, such as proteins (tryptophan and tyrosine), organic matter and chlorophyll. In this study water quality analyzes were performed by the conventional physical-chemical parameters and by using fluorescence spectroscopy and UV-Vis absorption in four nurseries and in the creek, that supplies them, located in the city of Laguna Carapã, MS. The water samples collection and their characterization were monthly performed during a productive cycle of tilapia (*Oreochromis niloticus*). The physical-chemical parameters analyzed were dissolved oxygen, pH, water temperature, ammoniacal nitrogen, electrical conductivity, total dissolved solids and water transparency. Spectroscopic analyzes were carried out in crude and filtered water samples, without and with a post treatment of the fluorescence spectra. From the fluorescence analysis, it was possible to identify and monitoring the presence of protein substances and dissolved organic matter (DOM), as well as the behavior of these components throughout the production cycle. The presence of chlorophyll was not detected by fluorescence or UV-Vis absorbance. The emission of fluorescence from the organic matter represented the region of highest intensity in the spectra of the crude samples, while the fluorescence intensity of proteins represented the highest intensities in the filtered samples. Among the applied processes, the filtering of water has shown to be more effective to the precise identification of the protein components of interest by fluorescence. Regarding the protein substances, tryptophan (T₁) and tyrosine (B₂) had the lesser fluorescence intensities in the spectra of the filtered samples when compared to the other regions, such as tryptophan (T₂), tyrosine (B₁). The T₁ signal of tryptophan demonstrated to be the best indicator to the protein monitoring, with a linear fluorescence response as a function of its concentration in the water. Considering the DOM, a broad emission region was observed in the fluorescence spectra for all crude samples, being associated with autochthonous substances, as confirmed by the UV-Vis absorption technique. In addition, our results demonstrated that fluorescence and absorption spectroscopy techniques in the UV-Vis region have great potential for the qualitative/quantitative analysis of water quality in fish farming, complementarily to the analyses of the physical-chemical parameters.

Keywords: Fish farming, Fluorescence spectroscopy, UV-Vis absorption, Water quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Representação parcial do Diagrama de Jablonski adaptado.	31
Figura 02 - Mapas 3D das regiões propostas dos espectros de Fluorescência obtida pela MEE, das amostras de água bruta e filtrada dos viveiros de piscicultura e córrego.....	33
Figura 03 - Localização da Área de Estudo.....	44
Figura 04 - <i>Lay-out</i> da área de estudo e a disposição dos viveiros (V ₁ , V ₂ , V ₃ e V ₄) e do córrego como fonte de abastecimento.	44
Figura 05 - Imagens do córrego viveiros, fazenda Carpesiana.....	45
Figura 06 - Quantidades de rações (Kg) fornecidas aos viveiros V ₁ , V ₂ , V ₃ e V ₄ , ao longo do cultivo de tilápias.....	47
Figura 07 - Variação da precipitação total (mm) ao longo do tempo nos viveiros, Laguna Carapã-MS.....	55
Figura 08 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão do córrego, amostras brutas (CoB) entre os meses de out/17 a abr/18.....	62
Figura 09 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 1, amostras brutas (V ₁ B) entre os meses de out/17 a abr/18.....	63
Figura 10 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 2, amostras Brutas (V ₂ B) entre os meses de out/17 a abr/18.....	64
Figura 11 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 3, amostras brutas (V ₃ B) entre os meses de out/17 a abr/18.....	65
Figura 12 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 4, amostras brutas (V ₄ B) entre os meses de out/17 a abr/18.....	66
Figura 13 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Córrego, amostras filtradas (CoF) entre os meses de out/17 a abr/18.....	68

Figura 14 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 1, amostras filtradas (V ₁ F), entre os meses de out/17 a abr/18.....	69
Figura 15 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 2, amostras filtradas (V ₂ F), entre os meses de out/17 a abr/18.....	70
Figura 16 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 3, amostras filtradas (V ₃ F), entre os meses de out/17 a abr/18.....	71
Figura 17 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 4, amostras filtradas (V ₄ F), entre os meses de out/17 a abr/18.....	72
Figura 18 - Mapa 3D - Matriz de Excitação Emissão da ração extrudada, com PB 32% (5-6mm), diluída em água deionizada	74
Figura 19 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da proteína do tipo triptofano T ₁ B e T ₁ F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 280/340 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada. A linha pontilhada é um guia para os olhos.	75
Figura 20 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da proteína do tipo triptofano T ₂ B e T ₂ F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/340 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada.	76
Figura 21 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da proteína do tipo tirosina B ₁ B e B ₁ F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/320 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada.	77
Figura 22 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da tirosina B ₂ B e B ₂ F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/310 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada.	78
Figura 23 - Intensidade de Fluorescência de Proteína (IFPro _T ₁ : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 280/340 nm), das amostras de: A) água bruta e B) água filtrada dos viveiros e do córrego ao longo do tempo..	78
Figura 24 - Intensidade de fluorescência de proteína (IFPro_T ₂ : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/340 nm), das amostras de A) água bruta e B) água filtrada dos viveiros e do córrego ao longo do tempo..	79
Figura 25 - Intensidade de fluorescência da proteína (IFPro), do tipo tirosina B ₁ ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/320 nm) das amostras de água brutas A) e filtradas B) dos viveiros e córrego.	80
Figura 26 - Intensidade de fluorescência da proteína (IFPro), do tipo tirosina B ₂ ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/310 nm) das amostras de água: A) brutas e B) filtradas dos viveiros e córrego.	81

Figura 27 - Intensidades de fluorescência da IFMOD (região (2): $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 230/450 nm), observados das A) águas brutas e B) filtradas dos viveiros e córrego ao longo do tempo.....	82
Figura 28 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão, Viveiro 2 pós-tratamento (Pt), amostras filtradas (V ₂ F_Pt), entre os meses de out/17 e abr/18.	83
Figura 29 - Comportamento das intensidade da Proteína (IFPro) do Viveiro 2 (V ₂): A) triptofano (T ₁) filtrada (V ₂ F_T ₁) e filtrada pós tratamento (V ₂ F_Pt_T ₁) e B) tirosina (B ₂) filtrada (V ₂ F_B ₂) e filtrada pós tratamento (V ₂ F_Pt_B ₂).....	84
Figura 30 - Variação sazonal nas concentrações de COD para os Viveiros (V ₁ , V ₂ , V ₃ e V ₄) e Córrego (Co) amostrados.	85
Figura 31 - Absorbância no UV-Vis das amostras brutas do córrego (CoB) e dos Viveiros (V ₁ B, V ₂ B, V ₃ B, V ₄ B) e ao longo do ciclo podutivo.	87
Figura 32 - Absorbância no UV-Vis das amostras filtradas do córrego (CoF) e dos Viveiros (V ₁ F, V ₂ F, V ₃ F, V ₄ F) e ao longo do tempo.	89
Figura 33 – Gráficos da Intensidade de Fluorescência (IF) e Absorbância (Abs) da água filtrada do córrego (CoF) e dos viveiros (V ₁ F, V ₂ F, V ₃ F e V ₄ F) do mês de Dez/17.	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Características gerais dos viveiros de piscicultura.....	46
Tabela 02 - Quantidades totais de CaO (Kg) e CF (Kg) inseridos nos viveiros.....	47
Tabela 03 - Parâmetros físico-químicos e os equipamentos utilizados em campo.	50
Tabela 04 - Resultados dos parâmetros físico-químicos da fonte de abastecimento.....	56
Tabela 05 - Resultados dos parâmetros físico-químicos do Viveiro 1.....	56
Tabela 06 - Resultados dos parâmetros físico-químicos do Viveiro 2.....	57
Tabela 07 - Resultados dos parâmetros físico-químicos do Viveiro 3.....	57
Tabela 08 - Resultados dos parâmetros físicos e químicos do Viveiro 4.....	57
Tabela 09 - Valores de absorvância em $\lambda_{\text{abs}} 254 \text{ nm}$ (Abs_{254}) para amostras brutas.....	88
Tabela 10 - Valores de absorvância em $\lambda_{\text{abs}} 254 \text{ nm}$ (Abs_{254}) para amostras filtradas.	90
Tabela 11 - Resultados dos valores médios de SUVA_{254} ($\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$) dos pontos coletados ao longo do tempo.....	91

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
1.1	Considerações Gerais	25
1.2	Objetivos.....	27
1.2.1	Geral	27
1.2.2	Específicos.....	27
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
2.1	Técnicas Espectroscópicas	31
2.1.1	Espectroscopia de Fluorescência	31
2.1.2	Espectroscopia de Absorção na região do UV-Vis	34
2.2	Qualidade da água em pisciculturas	35
2.2.1	Matéria Orgânica Dissolvida	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.1	Área de Estudo	43
3.2	Coleta dos Dados Pluviométricos.....	46
3.3	Características Gerais dos Viveiros	46
3.4	Procedimento de Amostragem de Água	48
3.4.1	Preparação dos Materiais.....	48
3.4.2	Amostragem de Água em Campo.....	48
3.4.3	Procedimento da Diluição da Ração.....	49
3.5	Parâmetros Físico-Químicos.....	49

3.6	Espectroscopia de Fluorescência	50
3.6.1	Espectroscopia de Fluorescência: Espectros Pós Tratamento	51
3.7	Espectroscopia de Absorção do Ultravioleta Visível (UV-Vis).....	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	55
4.1	Precipitação Pluviométrica	55
4.2	Parâmetros Físico-Químicos.....	56
4.3	Espectroscopia de Fluorescência	61
4.3.1	Espectroscopia de Fluorescência: Espectros Pós-Tratamento.....	82
4.4	Determinação do Carbono Orgânico Dissolvido – COD	85
4.5	Espectroscopia Ultravioleta Visível - UV-Vis	86
5	CONCLUSÃO.....	96
6	PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	100
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

O crescimento da tilapicultura no Brasil acompanha uma tendência mundial com a modernização e a intensificação da produção de tanques-rede em águas públicas e em viveiros escavados. A produção no Brasil, da espécie *Oreochromis niloticus*, através do uso de tanques-rede em águas públicas, teve um salto de 386% entre os anos de 2005 e 2015 [1]. Em 2018, a produção de tilápias foi de 400.280 toneladas com crescimento de 11,9% em relação ao ano anterior (357.639 t) [2].

Embora não esteja entre os principais produtores mundiais de pescado, esse crescimento alavancou o país ao posto de quarto maior produtor mundial de tilápias, mantendo sua 4ª posição mundial em 2018 [2]. A produção mundial nessa espécie é liderada pela China, seguida pela Indonésia e Egito. Em termos da produção regional, a região Sul do Brasil é responsável por 42% dessa produção, seguida pelas regiões Sudeste (26%), Nordeste (24%) e Centro-Oeste (8%) [3].

Com o crescente desenvolvimento da piscicultura alguns aspectos acarretam a deterioração da qualidade da água, gerando condições inadequadas para o cultivo [7]. Além disso, o lançamento da água em condições inadequadas para o curso d'água, como os dejetos dos peixes, a ração não consumida fornecida para a alimentação desses organismos, a produção de matéria orgânica pelos organismos fotossintetizantes (algas) entre outros [4] são alguns exemplos que contribuem para a geração dos impactos nos ambientes aquáticos. Nesse contexto, o aumento da matéria orgânica na água, também produzida pelos restos de ração, fezes e metabólitos excretados pelos peixes, pode desencadear uma série de consequências no desequilíbrio químico, físico e biológico da água [5].

O desenvolvimento dos peixes, bem como de todos os organismos aquáticos dependem diretamente da qualidade da água [5]. Atualmente, a maior preocupação, em termos de piscicultura, é a qualidade da água [6]. O controle da qualidade de água nesses ambientes é feito periodicamente por análises convencionais de parâmetros físicos, químicos e biológicos. Citando alguns deles, temos a temperatura, pH, oxigênio dissolvido, turbidez, transparência da água, amônia, nitrito, gás carbônico, fósforo total, clorofila *a*, entre outros [5,6].

Desse modo, a introdução de qualquer substância na água promove alterações na sua qualidade, as quais nem sempre são favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência dos organismos aquáticos, alterando as características físicas, químicas e biológicas da água [7].

As técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia de fluorescência e a absorção na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis), têm se mostrado bastante úteis medidas qualitativas e quantitativas da matéria orgânica dissolvida (MOD), já que ela participa de diversos processos biogeoquímicos e ecológicos em uma variedade de sistemas naturais e projetados, incluindo lagos, rios e águas subterrâneas em sistemas marinhos, em efluentes, em estações de tratamento de água potável [8-18]. Mais recentemente as técnicas foram aplicadas em águas de recirculação de aquicultura [19] com objetivo de monitorar a MOD e em tanques lonados com criação de tilápias, caracterizando o comportamento dos componentes proteicos [4,20].

Com base nesses estudos, essas técnicas têm se mostrado ferramentas úteis e de grande potencial para o monitoramento da qualidade da água. Em viveiros de criação de peixes, podem proporcionar a detecção mais precisa de importantes indicadores que podem alterar a dinâmica de seu funcionamento visando a melhoria de produção [20]. Portanto, esses métodos ópticos se tornam particularmente atraentes para esse fim, porque são seletivos, relativamente rápidos e geralmente não envolvem reagentes que podem ser prejudiciais ao meio ambiente, se não forem descartados adequadamente [21].

Em 2015, Hambly *et al.* [19] aplicaram a espectroscopia de fluorescência em um Sistema de Recirculação em Aquicultura (RAS), sendo este o primeiro estudo utilizando uma Matriz de Excitação-Emissão (MEE) para analisar as características das frações da MOD dentro desse sistema, podendo ser considerada uma ferramenta valiosa por ser de análise rápida e sensível, otimizando também o monitoramento da água em RAS.

Mais recentemente, Figueiró e colaboradores [4,20] mostraram que a aplicação de técnicas espectroscópicas na avaliação de água de piscicultura, provenientes de tanques lonados com cultivo de tilápias, se mostraram bastante eficientes principalmente para componentes de difícil identificação, como a presença de pigmentos fluorescentes, como a ficoeritrina, pertencentes ao grupo das cianobactérias, organismos fotossintetizantes. No entanto, a identificação dos fluoróforos, responsáveis pela fluorescência em águas naturais e artificiais, ainda continua sendo uma tarefa difícil, pois demanda tempo nas análises dos espectros.

Com base no exposto, fica evidente a necessidade de se desenvolver metodologias considerando a influência de processos de filtragem nos resultados de águas de piscicultura e ainda a aplicação de métodos de tratamento de dados como ‘*Inner Filter Effect*’ ou métodos estatísticos como, por exemplo PARAFAC [11,17,19,22].

Diante disso, destaca-se o principal interesse desse trabalho como a avaliação da aplicabilidade dos métodos espectroscópicos, mais especificamente a espectroscopia de fluorescência e de absorção no UV-Vis, e desenvolvimento de uma metodologia rápida para monitorar a qualidade da água ao longo do tempo em ambientes de piscicultura, complementarmente às análises convencionais por meio de parâmetros físico-químicos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

- Aplicar técnicas de espectroscopia de fluorescência e absorção no UV-vis para monitorar a qualidade da água e suas alterações na piscicultura, complementarmente aos parâmetros físicos e químicos convencionais ao longo de um ciclo produtivo.

1.2.2 Específicos

- Construir mapas 3D (MEE-Matriz de Excitação-Emissão) de fluorescência para caracterizar a água da piscicultura;
- Analisar espectros de fluorescência da proteína disponível na ração, de modo a obter padrões para a investigação da água de piscicultura;
- Monitorar parâmetros físicos e químicos (convencionais) da água dos viveiros, ao longo do ciclo produtivo de tilápias, e na fonte de abastecimento;
- Comparar os resultados obtidos das técnicas espectroscópicas (fluorescência e UV-vis) com os parâmetros físicos e químicos convencionais.

Organização do trabalho

Este trabalho está organizado em 6 capítulos. O capítulo 2 apresenta uma revisão bibliográfica sucinta, explicitando as informações necessárias para o entendimento das técnicas espectroscópicas de Fluorescência e Absorção da região do UV-Vis aplicadas à piscicultura. No capítulo 3 estão descritos a metodologia para a preparação das amostras e os detalhes experimentais adotados nas técnicas de caracterização utilizadas. No capítulo 4 são apresentados e discutidos os resultados referentes à qualidade de água avaliada por alguns parâmetros físico-químicos convencionais bem como as técnicas espectroscópicas ao longo de um ciclo produtivo de tilápia do Nilo. No capítulo 5 são apresentadas as conclusões do trabalho, abordando as principais contribuições obtidas dentro dos objetivos propostos. Por fim, no capítulo 6 são sugeridos os trabalhos futuros, que permitirão a continuidade desse estudo, buscando o aprimoramento de metodologias na aplicação das técnicas espectroscópicas para análise de água em piscicultura.

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

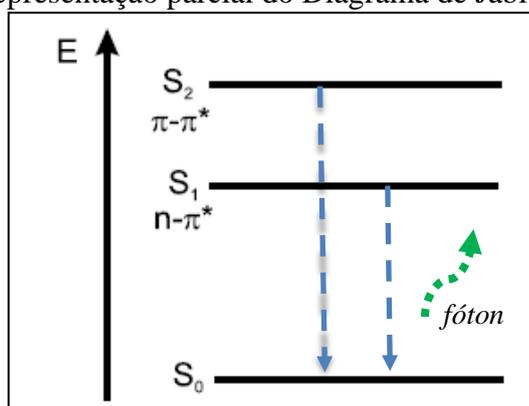
Neste capítulo, uma breve revisão bibliográfica é feita, no que diz respeito aos aspectos mais relevantes sobre o uso de técnicas espectroscópicas de Fluorescência e Absorção na região do UV-Vis para a avaliação da qualidade de água, no intuito de abordar conceitos e termos importantes utilizados no decorrer do texto. Inicialmente, uma breve descrição dos processos de emissão fluorescente e absorção no UV-Vis é feita com base em trabalhos da literatura, os quais relatam a influência espectral dos principais componentes observados na água de diferentes sistemas aquáticos. Por fim, é feita uma revisão acerca das características desejáveis para a água de piscicultura, abordando alguns parâmetros convencionalmente monitorados, com ênfase nas características da MOD.

2.1 Técnicas Espectroscópicas

2.1.1 Espectroscopia de Fluorescência

Podemos definir a espectroscopia como sendo a interação de qualquer tipo de radiação eletromagnética com a matéria [4]. A fluorescência corresponde, em essência, ao processo inverso do fenômeno da absorção [4,23]. Caracteriza-se, então, pela emissão de luz por uma determinada substância, na qual estados eletrônicos excitados (S_1 e S_2) são ocupados por elétrons que, quando retornam para o estado fundamental (S_0), emitem luz (fóton) num tempo característico da ordem de nano segundos [11,17,24] (Figura 01). Ou seja, fluorescência é a liberação de energia na forma de luz quando moléculas ou porções, chamadas fluoróforos, são excitadas com uma fonte de luz de alta energia [25].

Figura 01 - Representação parcial do Diagrama de Jablonski adaptado.



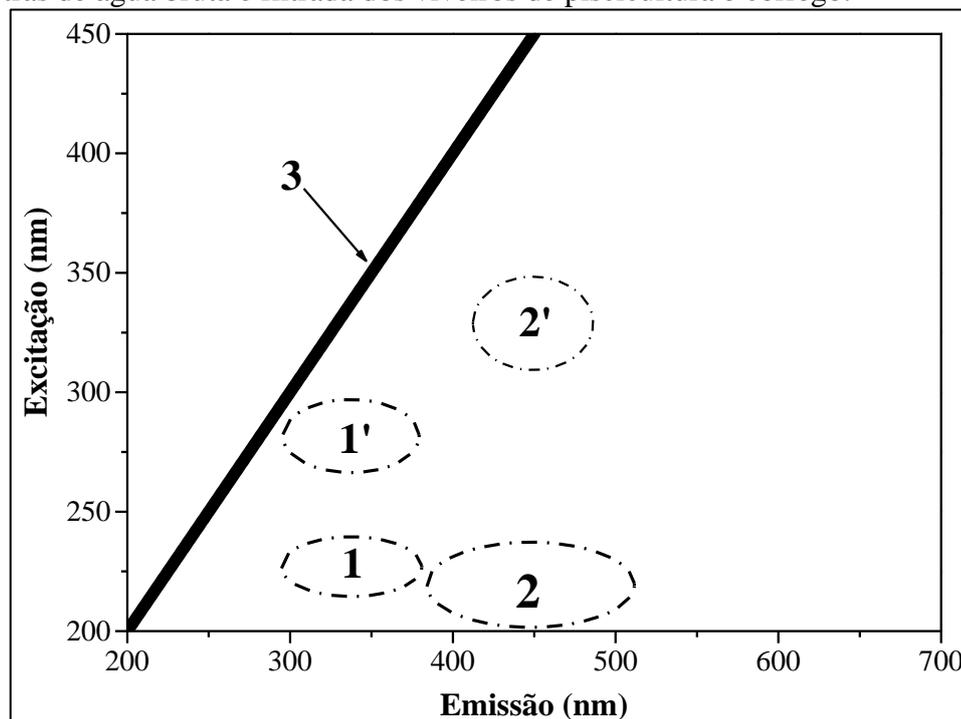
Fonte: [4].

A espectroscopia de fluorescência pode fornecer informações sobre a origem e a composição da MOD presente no sistema em sua concentração natural, deste modo eliminando a necessidade de isolamento de uma substância específica antes das análises [12]. No entanto, a identificação dos fluoróforos responsáveis pela fluorescência em águas naturais ainda é uma tarefa difícil [11-17]. A localização dos picos de excitação e emissão, a forma dos espectros de fluorescência e sua intensidade variam com a composição química e concentração da MOD, assim como a intensidade e a forma do espectro de fluorescência [16].

Existem duas categorias principais de fluoróforos em águas naturais não contaminadas que são semelhantes às substâncias húmicas e proteicas [9]. Uma das formas de avaliar os espectros de emissão fluorescente da água é por meio da técnica da Matriz de Excitação-Emissão (MEE), medida que vem sendo utilizada desde a década de 80 [26], porém, com intensivo aumento em análises espectroscópicas nos últimos anos [4,13,16,19-21,24,27-37]. A MEE é uma medida 3D que permite a construção de mapas de contorno contendo um amplo intervalo de comprimentos de onda de excitação versus comprimentos de onda de emissão. Áreas específicas das MEEs têm sido associadas a grupos fluorescentes [27] relacionadas às substâncias húmicas, termo utilizado para descrever características espectrais que se assemelham aos ácidos húmicos e fúlvicos, enquanto as proteínas descrevem picos que são atribuídos aos aminoácidos fluorescentes como triptofano e tirosina [12].

Por meio das medidas de fluorescência pela MEE, quatro principais regiões fluorescentes podem ser observadas nas águas brutas e filtradas dos viveiros e córrego, sendo definidas com base na literatura [4,9-21,24,27,36,] e representadas na Figura 02.

Figura 02 - Mapas 3D das regiões propostas dos espectros de Fluorescência obtida pela MEE, das amostras de água bruta e filtrada dos viveiros de piscicultura e córrego.



Fonte: [4,9,20,29] adaptado.

A região **1**, com $\lambda_{ex} < 250\text{nm}$ e λ_{em} 300-400 nm e região **1'**, com λ_{ex} 275-280 nm e λ_{em} 300-400 nm, indicam a presença de material semelhante às proteínas [4,8,11-20,30,36,37,39]. Alguns autores atribuem essas emissões (regiões **1** e **1'**) à fluorescência do componente proteico triptofano $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 250-290/340-350 nm [11,15,17,38,39] ou à tirosina, predominantemente observada nos comprimentos de onda $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 220-275/305-310 nm [11,14,15,17,38,39].

Conforme Carstea [13] e Baker *et al* [29] os intervalos onde ocorrem a máxima emissão do triptofano são T₁: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 280-290/350 nm e T₂: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 220-230/350 nm. Segundo Chen *et al* [9], os comprimentos de onda de excitação $\lambda_{ex} < 250$ nm e $\lambda_{em} < 350$ nm estão relacionadas às proteínas aromáticas simples do tipo tirosina. No entanto, conforme Bridgeman *et al* [17], ocorrem dois pares de comprimentos de onda tanto para o triptofano (T₁: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/340 nm e T₂: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225-237/340-381 nm) quanto para a tirosina (B₁: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225-237/309-321 e B₂: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/310 nm).

Dando sequência, a região **2** com $\lambda_{ex} \leq 250$ nm e λ_{em} entre 400 e 500 nm está relacionada à matéria orgânica dissolvida (ácidos húmicos) estudadas em águas marinhas, nos comprimentos de onda em $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 230/400-500 nm e, conforme Coble [15], essa região é nomeada como Pico A.

Ainda, segundo Carstea *et al.* [28], o Pico A está localizado nos comprimentos de onda de λ_{ex} 237-260 nm/ λ_{em} 400-500 nm, o qual é proveniente de alimentos, microrganismos, plantas e fungos em águas residuárias. A região 2' apresenta um pico bem menos intenso em relação às outras regiões, apresentando-se nos comprimentos de onda entre $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 300-350/400-500 nm que, conforme Coble [15] e Carstea [13], associa-se ao Pico C, também referente às substâncias húmicas.

Segundo Baker [39], investigando os efluentes provenientes de efluentes agrícolas, encontrou, através da MEE, assinaturas espectrais dos diferentes componentes presentes nesses resíduos. Esses componentes são: o triptofano, com comprimentos de ondas $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/350 nm, a tirosina $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/305 nm, as substâncias húmicas $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 370-390/460-480 nm e as substâncias fúlvicas $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 320-340/410-430 nm.

Devido as evidentes dificuldades associadas à identificação individual dos compostos fluorescentes nas águas que possuem comprimentos de onda de emissão/excitação em regiões muito próximas ou até mesmo sobrepostas, os grupos de fluoróforos são comumente chamados de substâncias húmicas, fúlvicas e substâncias semelhantes às proteínas (especificamente triptofano ou tirosina) [13]. Entende-se algumas controversas com relação a essas atribuições pelo fato de a aplicação da espectroscopia de fluorescência a ambientes aquáticos ser ainda muito recente. Para minimizar essas dificuldades alguns autores adotam diferentes metodologias para a análise da água, como filtragens específicas de modo a separar as contribuições dos fluoróforos, facilitando a interpretação dos mapas 3D ou ainda o uso de ferramentas estatísticas como PARAFAC, método para decomposição de dados multidimensionais [13,16,19,28,38,40,41].

Por fim, vale a pena destacar que a região 3 representa apenas o espalhamento de luz de primeira ordem, conhecido como espalhamento Rayleigh, observado no espectro de emissão no mesmo comprimento de onda que o comprimento de excitação [8,11] não possuindo qualquer relação com a fluorescência dos constituintes da água.

2.1.2 Espectroscopia de Absorção na região do UV-Vis

A espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) é baseada na medida de absorbância (A) de soluções contidas em células transparentes com caminho óptico de comprimento específico, da ordem de cm [23].

Medidas espectroscópicas que utilizam a radiação UV-Vis são úteis para determinar grupos cromóforos e identificar grupos funcionais em uma molécula [10]. Muitas moléculas orgânicas absorvem radiação UV-Vis e esta é normalmente devido a presença de um grupo funcional particular [42].

Geralmente, em análise de água a absorbância no comprimento de onda de 254 nm está relacionada com as estruturas aromáticas existentes [30]. Este comprimento de onda tem sido muito utilizado no monitoramento de concentrações de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) por correlacionar-se fortemente com a absorbância da luz em 254 nm (UV_{254}) [31]. Em moléculas de matéria orgânica, a maioria dos cromóforos que absorvem luz na região UV ($\lambda < 400$ nm) são grupos aromáticos com vários graus e diferentes tipos de substituição estrutural, incluindo fenóis e diversos ácidos aromáticos e compostos associados à fração húmica (refratária) da matéria orgânica [31].

Desta forma, a absorbância em águas naturais é um indicador qualitativo e semi-quantitativo da concentração de matéria orgânica em um corpo d'água [10,16]. Como é um componente importante da qualidade da água, a MOD tem sido um tópico de interesse crescente dentro de sistemas aquáticos naturais e projetados [19].

Diante disso, ocorre uma intrínseca propriedade de absorção de luz em relação ao COD, o que significa que em ambientes aquáticos este é um importante mecanismo de transformação na coluna de água. Porém, sejam em lagos ou reservatórios, ainda há perguntas não respondidas sobre esse tipo de mecanismo. Em um rio urbano, por exemplo, considerando a mistura complexa de diferentes poluentes, entender essas propriedades e processo também representa um grande desafio [43].

Estudos tem demonstrado que o espectro de absorbância pode ser avaliado em termo de absorbância específica ou absorvidade, nomeado como $SUVA_{254}$, absorbância em 254 nm normalizado em termos do COD e do caminho ótico da amostra [11,14,30,44]. Os valores normalizados permitem uma estimativa da abundância relativa de absorção de luz ultravioleta e visível, que é característica das substâncias húmicas [10].

2.2 Qualidade da água em pisciculturas

A qualidade da água se altera em função dos constituintes existentes no solo e a partir do resultado das reações químicas que ocorrem em função da interface sedimento-água.

Em viveiros de criação de peixes há uma tendência a sofrer influências diretas das condições ambientais internas, do fluxo contínuo de água que o abastece e do manejo realizado [6]. As pisciculturas são mantidas por fatores físicos e químicos e por interações biológicas, as quais estão diretamente ligadas a qualidade da água [45]. As condições físicas e químicas da água podem tornar-se fatores limitantes para os peixes [6], e para obter uma boa produção e garantir a saúde dos peixes, há padrões de águas destinadas à criação desses animais.

A manutenção adequada desses padrões da qualidade da água e dos alimentos fornecidos aos peixes pode evitar prejuízos financeiros [46]. A qualidade da água que irá abastecer os viveiros também é de fundamental importância, pois regulará grande parte dos processos que ocorrerão nesses sistemas.

Alguns parâmetros físico-químicos têm sido tradicionalmente usados para avaliar a qualidade da água em aquicultura, mais especificadamente em pisciculturas, como os sólidos suspensos totais, a turbidez, matéria orgânica, nitrogênio total, fósforo total, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), Clorofila *a* (Chl *a*); entre outros. Estes parâmetros são comumente usados na criação de bagres, tilápias, trutas, etc [6,47]. Além desses, um outro importante parâmetro para a manutenção da qualidade da água na criação de peixes é a temperatura, pois todas as atividades fisiológicas (respiração, digestão, excreção, alimentação, movimentos) estão fortemente relacionadas à temperatura da água [5,6].

Em sistemas de criação de peixes o pH também é um importante parâmetro analisado rotineiramente. Ele é a medida que descreve exatamente o grau de acidez ou basicidade de uma solução, sendo definido em uma escala de 0 a 14, como sendo o logaritmo negativo da concentração do íon hidrogênio (H^+) [6], ou mais simplificadamente, como a medida utilizada para determinar o quanto o meio é ácido ou básico (alcalino), sendo o pH 7,0 considerado neutro [7,48]. Os principais fatores que podem causar elevação no pH são a respiração, a fotossíntese, a adubação, a calagem e fontes poluidoras [46]. A água do viveiro, no final da tarde são observados valores mais elevados de pH, que podem potencializar a ação tóxica da amônia presente [6,7].

O nitrogênio amoniacal ($N_{\text{amoniacal}}$) corresponde ao nitrogênio proveniente de um composto derivado do amoníaco. É normalmente expresso em miligramas de nitrogênio por litro [49]. Em uma análise de água os compostos de nitrogênio são registrados como: nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal, nitrogênio Kjeldahl, nitrato, nitrito. A presença de compostos de nitrogênio na água é usualmente admitida como indicação da presença de matéria orgânica.

A amônia não ionizada (NH_3) é um parâmetro importante para piscicultura, pois em níveis elevados pode levar a morte dos peixes.

A amônia total ou $N_{\text{amoniacal}}$ (NH_3 e NH_4^+) tem várias origens no meio aquático, principalmente da decomposição da matéria orgânica, excrementos dos peixes, morte das microalgas e da decomposição da proteína contida nas sobras da ração [5].

Em ambientes de cultivo de peixes, o alimento introduzido na água é o principal fator condicionante da dinâmica do nitrogênio. O principal fator responsável pela presença de amônia nesses ambientes é a entrada de grandes quantidades de compostos orgânicos e inorgânicos, através de adubos, fertilizantes e rações, os quais contêm níveis elevados de nitrogênio e fósforo [50].

Quando se encontram referências sobre concentração de ‘amônia’, na maioria dos casos estão sendo consideradas juntas, as concentrações das duas formas de $N_{\text{amoniacal}}$ (amônia – NH_3 e NH_4^+) [51]. A razão $[\text{NH}_3]/[\text{NH}_4^+]$ depende do pH e do valor de uma constante de equilíbrio (K), sendo esta, função da temperatura e da composição iônica da água. Se o pH for inferior a 8,5, ou seja, quando o meio passa de alcalino a neutro ou ácido, verifica-se que NH_4^+ predomina, enquanto NH_3 prevalece quando o pH está acima de 10, ou seja, quando o meio for alcalino. Por essa razão, quanto mais elevado for o pH, maior será a porcentagem da amônia total presente como NH_3 , não ionizada (forma tóxica) [50].

Para o oxigênio dissolvido (OD), em função da sua presença reduzida no meio aquático, torna-se limitante aos organismos aquáticos [6]. A sua concentração em águas naturais estará em constante mudança devido aos processos biológicos, físicos e químicos existentes no meio. Nos ambientes de cultivo de peixes, o teor de oxigênio na água aumenta a partir do início da manhã e diminui ao final do dia, isso se deve aos processos de fotossíntese e respiração/decomposição [7,45,52].

Uma ampla variedade de substâncias orgânicas ocorre em águas de cultivo de peixes, como por exemplo, compostos dissolvidos de açúcares, aminoácidos, proteínas, ácidos graxos, ácidos húmicos etc., bem como partículas maiores de matéria orgânica em decomposição, chamadas de detritos, que também são abundantes. Naturalmente, os organismos como bactérias e plânctons contribuem para a carga orgânica do meio [48].

O crescimento de plânctons na água auxilia no aumento da turbidez e da cor, diminuindo assim sua transparência [6,7,48]. Portanto, a transparência da água, do ponto de vista ótico, pode ser considerada o oposto da turbidez [51]. Sua avaliação é realizada medindo a profundidade de desaparecimento do disco de Secchi, quando é introduzido verticalmente na coluna d’água [6,51], sendo inversamente proporcional à quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos no caminho ótico [53].

Basicamente, todas as alterações que ocorrem nas propriedades ópticas intrínsecas de um ecossistema aquático podem ser atribuídas a três componentes do ecossistema: a própria água, as substâncias húmicas dissolvidas, e ao material particulado em suspensão, denominado de TSS (total de sólidos em suspensão), decomposto em duas frações - matéria orgânica viva e matéria inorgânica e detritos [54]. Em muitas águas naturais de superfície, as substâncias húmicas constituem 50% do COD. A variação do COD nas águas superficiais é grande e depende de contribuições autóctones e alóctones, de períodos de seca e chuva, além de processos internos em lagos e represas (decomposição, ação de bactérias, temperatura da água, turbulência e estratificação) [55].

Diante do exposto, podemos inferir que a manutenção da qualidade da água na piscicultura dependerá também do controle de resíduos de origem metabólica, fezes e alimento não digerido, que estarão presentes no meio aquático [5,6,50]. Nesse contexto, há uma necessidade de análise periódica de diversos parâmetros com o objetivo da identificação antecipada de possíveis problemas, relacionados às concentrações das substâncias orgânicas e inorgânicas, visando uma produção mais segura com peixes saudáveis, beneficiando o produtor e o consumidor sem prejudicar o meio ambiente.

2.2.1 Matéria Orgânica Dissolvida

As águas naturais têm uma composição química bastante complexa, em razão do grande número de íons dissolvido, de substâncias orgânicas resultantes das condições naturais das bacias hidrográficas e de atividades humanas [55]. Todos os corpos d'água contêm matéria orgânica natural (MON) sendo originária de diversas fontes [11,36,56]. A MON é formada por uma mistura de moléculas de diferentes tamanhos, estruturas e funções, como carboidratos, aminoácidos, peptídeos, proteínas, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos que formam a fração (20 a 30%) mais simples [57] A MON é espacialmente variável e está presente em formas dissolvidas, particuladas e coloidais, possuindo várias funções em sistemas aquáticos [14]. Em se tratando da matéria orgânica dissolvida (MOD) é apresentada como uma mistura heterogênea de material dissolvido encontrada em sistemas aquáticos [10], a qual se divide em duas categorias principais: as autóctones, aquelas produzidas '*in situ*', como exemplo, exsudatos de algas, e as alóctones, que provém de material pedogênico, ou seja, derivado do próprio solo [58].

A MOD é definida como qualquer material orgânico capaz de passar por um filtro de tamanho de poro particularmente identificado, por exemplo, com diâmetros do poro de 0,7 μm , 0,45 μm ou menor [59]. Como a MOD compõe tipicamente cerca de 50% de C em massa [60], ela é medida como COD.

O COD consiste em uma mistura complexa de compostos que variam em tamanho, peso, aromaticidade e reatividade, dificultando o estudo de sua composição e, portanto, de sua qualidade por meio de técnicas moleculares diretas. Com isso, os métodos de espectroscopia são um meio relativamente rápido e não invasivo, podendo observar e inferir a composição e a qualidade de COD e MOD [60]. As concentrações de COD foram amplamente determinadas em muitos lagos do mundo e são obviamente afetadas por características de lagos e bacias hidrográficas [40,55].

Dessa maneira, por ser um componente importante da qualidade da água, a MOD tem sido um tópico de interesse crescente dentro de sistemas aquáticos naturais e projetados [4,10-19,37]. Uma proporção da MOD dentro destes sistemas consiste em matéria orgânica dissolvida fluorescente (MODF) e suas propriedades podem ser caracterizadas usando espectroscopia de fluorescência [37] e a matéria orgânica dissolvida cromófora (CMOD), sendo a fração que absorve luz ultravioleta (UV) e visível é o fator de controle das propriedades ópticas das águas superficiais, caracterizadas através da espectroscopia de absorção no UV-Vis [41]. Os componentes fluorescentes relatados na matéria orgânica aquática incluem proteína, como tirosina, triptofano, pigmentos, fenil de lignina, substâncias húmicas e hidrocarbonetos [38].

Os principais constituintes da matéria orgânica, globalmente distribuídos nos sistemas aquáticos e terrestres, são as substâncias húmicas (SH) [57]. De acordo com a Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas, as substâncias húmicas aquáticas (SHA) são compostas por ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF). Os AH apresentam estruturas mais complexas do que os AF, pois possuem maior massa molecular e quantidade de anéis aromáticos, sendo assim diferenciados [61].

A fluorescência nas águas naturais é, predominantemente, gerada pelos ácidos orgânicos, AH e AF, e os grupos de aminoácidos dentro das proteínas, os quais são provenientes predominantemente de material vegetal decomposto no solo sobrejacente. Os AHs têm maior comprimento de onda de excitação e emissão de fluorescência do que os AFs, devido a um aumento no grau de aromaticidade, o conteúdo de grupos carboxílicos e estruturas aromáticas e conjugadas policondensadas dentro do AH [62].

Portanto, a contribuição da MOD na piscicultura é também um dos fatores importantes, que decorre tanto de fontes externas/alóctones (esterco, ração, adubos orgânicos) quanto de fontes internas/autóctones (excretas e restos de plantas e animais aquáticos em decomposição) contribuindo para o enriquecimento da água do viveiro [63].

Capítulo 3

Materiais e Métodos

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados na Seção 3.1 a localização da área de estudo. Na Seção 3.2 é apresentado o procedimento de coleta dos dados pluviométricos. A Seção 3.3 apresenta as características gerais dos viveiros e informações quanto ao manejo. Na Seção 3.4 é apresentado o procedimento da amostragem da água, como o preparo dos materiais, em laboratório, para as coletas de água em campo, e do procedimento realizado para as diluições das rações. A seção 3.5 descreve os parâmetros físico-químicos medidos em campo e em laboratório. A seção 3.6 apresenta os procedimentos experimentais adotados na técnica de Fluorescência com e sem tratamento e a seção 3.7 apresenta a espectroscopia de absorvância na região do UV-Vis, ambas para identificar os componentes de interesse na água da piscicultura, mostrando também o procedimento para obtenção das curva de emissão em função da concentração para os componentes proteicos (tirosina e triptofano).

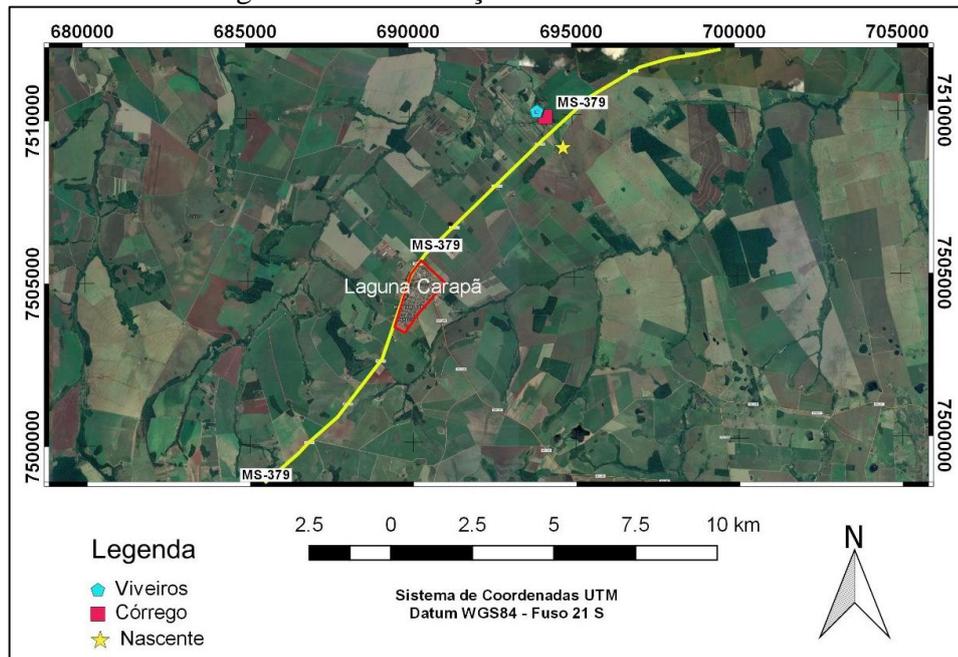
3.1 Área de Estudo

O município de Laguna Carapã (MS) está à 288 km da capital de Mato Grosso do Sul, situado na microrregião de Dourados, sob as coordenadas geográficas latitude de 22°32'45" Sul e longitude de 55°09'00", Oeste. Está sob influência da Bacia Hidrográfica do Rio da Prata [64].

O presente estudo contemplou quatro viveiros com cultivo de tilápias (*Oreochromis niloticus*) localizados no município de Laguna Carapã - MS, inseridos na propriedade Fazenda Carpesiana, (proprietário Edegar Dalmazo), os quais foram identificados como: Viveiro 1 (V₁), Viveiro 2 (V₂), Viveir 3 (V₃) e Viveiro 4 (V₄), com suas respectivas coordenadas geográficas: 22° 30' 16,63" S, 55° 06' 53,70" W; 22° 30' 16,13" S; 55° 06' 52,97" W; 22° 30' 15,82" S; 55° 06' 52,50" W e 22° 30' 21,28" S; 55° 06' 44,38" W (Figura 03).

Conforme informações obtidas através da visita '*in situ*', o abastecimento dos viveiros se dá por um córrego (sem nome) o qual nasce na propriedade Ouro Verde, localizada na margem oposta ao local do estudo da Rodovia MS 379.

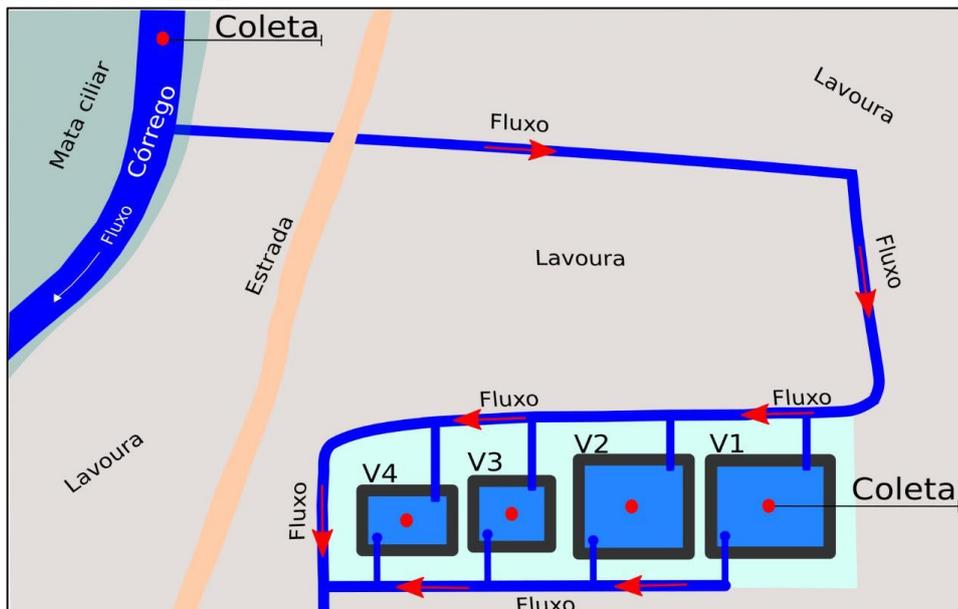
Figura 03 - Localização da Área de Estudo.



Fonte: Google Earth, adaptado pelo próprio autor.

A Figura 04 mostra um *lay-out* da disposição dos viveiros, do córrego bem como do fluxo da água a qual se dá por gravidade e abastece de forma independente cada um dos viveiros. Os viveiros 1 e 2 são ligeiramente maiores que os viveiros 3 e 4.

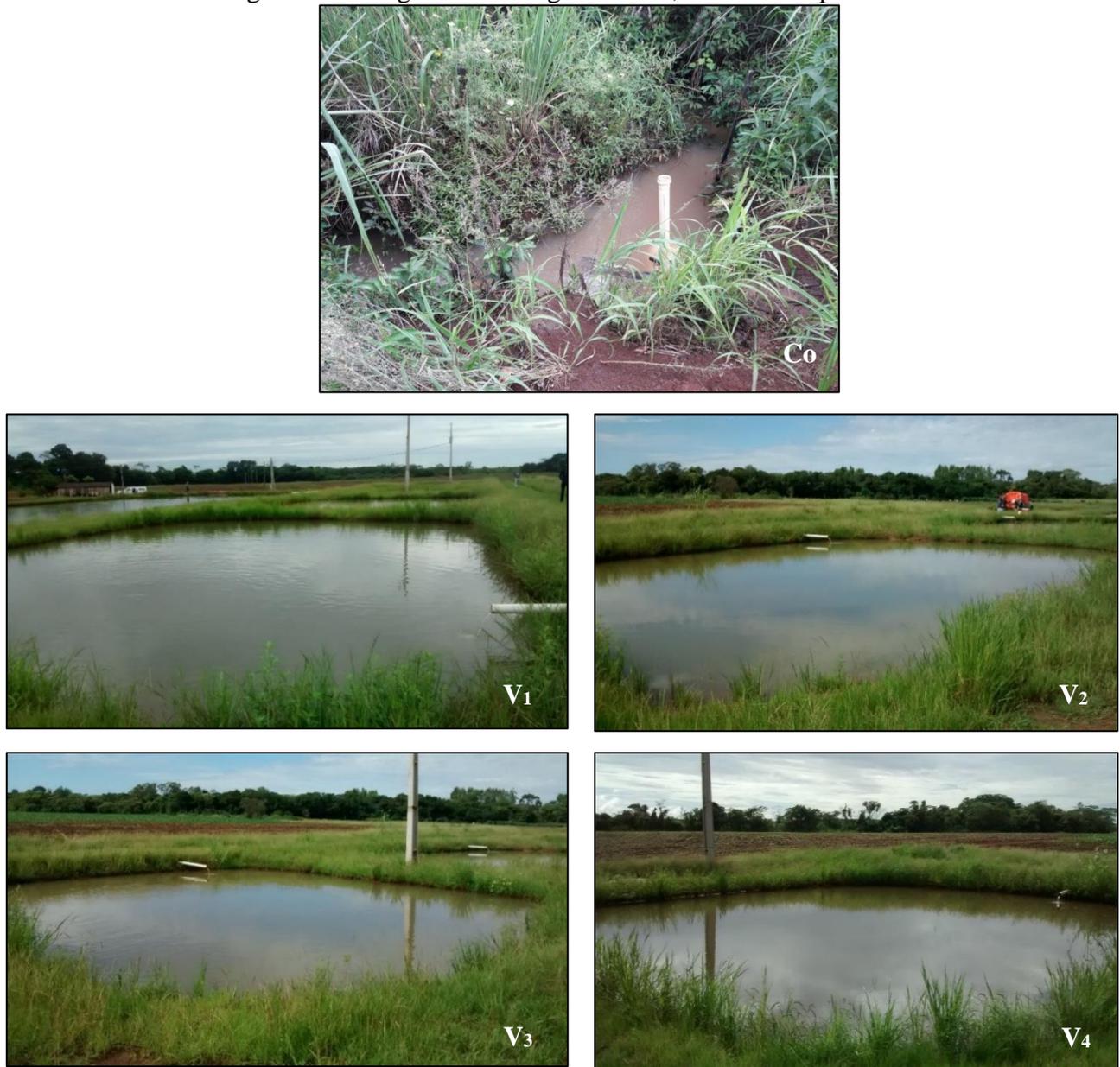
Figura 04 - *Lay-out* da área de estudo e a disposição dos viveiros (V₁, V₂, V₃ e V₄) e do córrego como fonte de abastecimento.



Fonte: Próprio Autor

A Figura 05 apresenta registros fotográficos dos pontos de coletas da água do córrego e uma visão geral dos viveiros. No entorno dos viveiros e do córrego há a presença da prática da agricultura. O cultivo praticado na propriedade é de milho e soja que ficam bem próximos ao curso d'água e dos viveiros.

Figura 05 - Imagens do córrego viveiros, fazenda Carpesiana.



Fonte: Próprio Autor.

3.2 Coleta dos Dados Pluviométricos

Os dados pluviométricos foram obtidos através da estação pluviométrica localizada na área externa da Cooperativa Agropecuária Mourãoense Ltda. (COAMO) de Laguna Carapã – MS a qual está aproximadamente 5 km do local do estudo. Os dados coletados foram do período de out/17 a abr/18, através do sistema interno, com coletas diárias da precipitação, fornecidas pela equipe da cooperativa.

3.3 Características Gerais dos Viveiros

A Tabela 01 apresenta as características gerais dos quatro viveiros com as informações iniciais para a realização do trabalho em campo. Foram inseridos em todos os viveiros peixes juvenis machos, com peso médio de 0,68 gramas, no mês de out/17.

Tabela 01 - Características gerais dos viveiros de piscicultura.

Viveiros	Área do Viveiro* (m ²)	Profundidade* (m)	Volume* (m ³)	Tempo de Residência* (horas)	Contribuição precipitação* (%)	Densidade Inicial* (px/m ²)	Quantidade de Peixes* (un)
1** e 2	176	1,7	300	30	15,0	3,5	616
3 e 4**	132	1,7	224	23	15,0	3,5	462

*Valores aproximados – informações obtidas pelo piscicultor e medidas em campo. **Viveiros fertilizados com adubo orgânico (cama de frango). Tempo de residência: é o tempo em que a água permanece dentro do viveiro. A unidade px/m² significa peixe por metro quadrado.

A proposta do projeto considerou, antes da estocagem dos alevinos de tilápia do Nilo, a adição de Cal virgem (CaO) em todos os viveiros. Após esse tratamento, com intervalo de uma semana, os viveiros V₁ e V₄ foram fertilizados com cama de frango (CF). O fertilizante orgânico (CF) ficou dois meses exposto ao sol antes de sua utilização, conforme informações obtidas em campo. Para dar início ao ciclo de produção os quatro viveiros foram abastecidos independentemente com a água do córrego.

Durante o cultivo, ocorreram mais duas aplicações de CF, a primeira ocorreu no final de outubro e outra no início de dezembro.

Na Tabela 02 estão descritas as quantidades totais de CaO e CF inseridas em cada um dos viveiros ao longo do estudo.

Tabela 02 - Quantidades totais de CaO (Kg) e CF (Kg) inseridos nos viveiros.

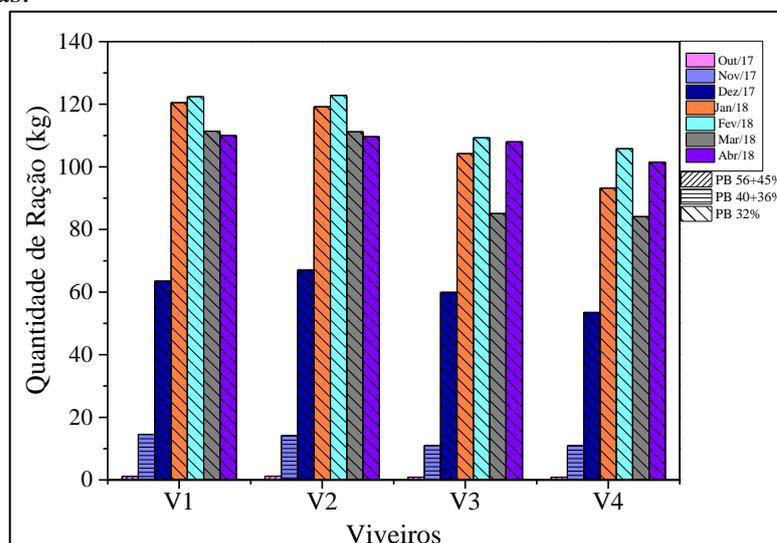
Viveiros	Cal Virgem (CaO)* (Kg)	Cama de Frango (CF) * (Kg)
1	27	36
2	27	-
3	20	-
4	20	28

*Informações obtidas em campo das anotações do piscicultor.

Os tratos de ração foram realizados conforme manejo e anotações do próprio piscicultor, em quantidades estabelecidas de acordo com a quantidade dos peixes e tamanho dos viveiros. A Figura 06 apresenta as quantidades das rações (Kg) fornecidas para cada viveiro durante todo o ciclo de cultivo de tilápias (out/17 a abr/18), representadas pelas barras, e os tipos de cada ração oferecidas, conforme o tamanho e a porcentagem da proteína bruta (PB) indicadas pelas hachuras.

Nos dois primeiros meses, após a estocagem dos alevinos, mês de out-nov/17, foram fornecidos quatro tipos de ração, sendo elas: farelada com PB a 56% (10 dias), extrudada de tamanho de 1,00 mm (15 dias) com PB a 45% (linhas diagonais), a de 1,7 mm (15 dias) com PB a 36% e a de 2-3 mm (20 dias) com PB a 40% (linhas horizontais), todas da marca Guabi. A partir de dez/17 a ração fornecida, fase de engorda, foi de 5-6 mm com a PB a 32% (linhas diagonais espaçadas), se estendendo até o final do cultivo (150 dias).

Figura 06 - Quantidades de rações (Kg) fornecidas aos viveiros V₁, V₂, V₃ e V₄, ao longo do cultivo de tilápias.



3.4 Procedimento de Amostragem de Água

3.4.1 Preparação dos Materiais

Os materiais utilizados para acondicionamento das amostras passaram por preparação prévia às coletas. Frascos de vidro âmbar, para análises de fluorescência e absorção no UV-Vis, bem como as garrafas PET, para as análises de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) e N_{amoniaco} ($N-NH_3$), a qual chamaremos de amônia total, foram lavados em água corrente com sabão neutro. Posteriormente foi adicionado ácido clorídrico (HCl) a 5% nos frascos até completar todo o volume, permanecendo por um tempo de 24 horas.

Após esse procedimento todos os frascos foram lavados novamente em água corrente por diversas vezes e por último com água destilada. Todos os materiais utilizados em laboratório (bécker, funis, pipetas, seringas, pinças, placas de Petri) passaram pelo mesmo procedimento de lavagem descrito anteriormente.

3.4.2 Amostragem de Água em Campo

A amostragem de água dos viveiros e do córrego foi realizada mensalmente conforme cronograma definido, com início das coletas em outubro de 2017 e finalizando em abril de 2018, durante um ciclo completo de cultivo das tilápias. Todas as coletas foram realizadas no período da manhã, entre 8:30h e 11:30h.

Em campo, foram medidos os parâmetros físico-químicos utilizando uma Sonda Multiparâmetro YSI em três pontos diferentes em cada viveiro: 1º ponto - lateral direita do ponto de entrada da água, 2º ponto - frente do ponto de entrada da água e 3º ponto - diagonal do ponto de entrada da água. Para a água de abastecimento foi medido um ponto no córrego e o outro ponto na canaleta que conduzia a água para dentro dos viveiros. Quanto à coleta da água da fonte de abastecimento, priorizou a água do córrego.

Amostras de água foram coletadas o mais distante possível da borda do viveiro com o uso de um balde coletor transparente de 60 L. Todas as amostras coletadas em campo foram conservadas em gelo em uma caixa térmica de isopor, com temperatura até 10° C [65], até serem transferidas para geladeira no laboratório de Óptica Aplicada (GOA) e do Laboratório de Materiais Cerâmicos Avançados (LMCA) da UFGD.

Cada amostra foi devidamente identificada e acondicionada conforme a necessidade de cada análise. Para medidas espectroscópicas as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar de 60 ml e para as amostras de COD foram acondicionadas em garrafas PET de aproximadamente 500 ml, adicionando de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ P.A.). Obrigatoriamente as amostras coletadas para análises de COD passaram por filtrações com filtro-seringa, da marca Analítica, com membrana de PVDF, diâmetro do filtro de 25mm e diâmetro do poro de 0,22µm.

Foram também coletadas amostras de água para medidas de amônia total, as quais foram acidificadas e preservadas no congelador a 0°C. Ao final da campanha de coletas e medidas espectroscópicas em laboratório, as amostras que estavam congeladas foram levadas para o Laboratório Multiusuários de Equipamentos e Análises Ambientais (LAMEAA) na UTFPR, para as medidas de COD e amônia total.

3.4.3 Procedimento da Diluição da Ração

O procedimento realizado para a confecção da curva de calibração da proteína ocorreu primeiramente definindo um peso (g), sendo de 2,03 gramas da ração para peixe extrudada de 5-6 mm de diâmetro, com PB 32%, a qual foi oferecida aos peixes na maior parte do ciclo. Esse procedimento se baseou nos estudos realizados por Figueiró *et al.* [20], ou seja, utilizando a mesma massa e diluições.

A ração foi macerada e pesada em uma balança analítica (Bioprecisa-FA2104N). Posteriormente, diluiu-se a ração em água deionizada até obter um volume de 100 ml em um balão volumétrico (solução concentrada). Em seguida, para uma melhor homogeneidade da amostra adquirida, foi necessário utilizar uma lavadora ultrassônica digital (SonicClean2PS) de 15 a 25 minutos. A partir disso, obteve-se alíquotas da solução concentrada, obtendo 5 diluições para confecção do gráfico.

3.5 Parâmetros Físico-Químicos

Os parâmetros físico-químicos medidos em campo e em laboratório, estão descritos na Tabela 03 e seus respectivos equipamentos.

Tabela 03 - Parâmetros físico-químicos e os equipamentos utilizados em campo.

Parâmetros Físico-químicos	Equipamentos
pH	Sonda Multiparâmetros YSI*
Temperatura da água (°C)	Sonda Multiparâmetros YSI*
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹ O ₂)	Sonda Multiparâmetros YSI*
Condutividade elétrica (µS.cm ⁻¹)	Sonda Multiparâmetros YSI*
N _{amoniacal} (N-NH ₃) (mg.L ⁻¹)	Espectrofotômetro Cary 50 (Varian)
Sólidos Dissolvidos Totais (TDS) (mg.L ⁻¹)	Sonda Multiparâmetros YSI*
Transparência da água (m)	Disco de Secchi

*Cedida pelo Laboratório de Físico-Química da UFGD.

Para a análise do N_{amoniacal} (N-NH₃), mg.L⁻¹, foi utilizado o método do fenato, em que há reação do hipoclorito com o fenol catalisada por nitroprussiato de sódio, gerando um composto de coloração azul intenso denominado indofenol, o qual é adotado pelo laboratório LAMEAA da UTFPR. Esses procedimentos de análises estão de acordo com os apresentados no ‘*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*’ [30].

Posteriormente fez-se a leitura através do espectrofotômetro Cary 50 (Varian), no comprimento de onda λ_{abs} 640 nm, em triplicata, obtendo uma curva de calibração. A partir dessa curva, obtiveram-se as médias e os desvios-padrão dos resultados das amostras das águas dos viveiros e do córrego.

Para o tratamento dos dados utilizou-se o programa *Microsoft Office Excel 2007* e o *OriginPro 9.0* obtendo as médias dos pontos amostrados de cada parâmetro com seus respectivos desvios-padrão.

3.6 Espectroscopia de Fluorescência

Para realizar as medidas espectroscópicas de fluorescência, obteve-se a temperatura da água de aproximadamente 22°C. As análises não excederam o prazo de 03 dias após a coleta em campo. Essas medidas foram realizadas nos laboratórios GOA e LECA da UFGD.

Foram realizadas análises com amostras de água brutas e filtradas. As amostras brutas são aquelas coletadas diretamente dos viveiros e do córrego que os abastecem, e as filtradas as que passaram por um filtro-seringa (marca Analítica), membrana de PVDF, com diâmetro do filtro de 25mm, diâmetro do poro de 0,22 μ m.

As medidas da Matriz de Excitação e Emissão foram realizadas no espectrofluorímetro Cary Eclipse, instalado no Grupo de Óptica Aplicada da UFGD. Uma cubeta de quartzo com volume de 3,5 ml e 1 cm de caminho óptico foi utilizada na realização das medidas.

Os comprimentos de onda para excitação foram realizados na região de λ_{exc} 200 a 450 nm com incremento de 5 nm em uma faixa de emissão de λ_{em} 200 a 700 nm com intervalos de 2 nm. A largura da fenda da excitação e emissão foram ajustadas para 5 nm com uma tensão de 800V no tubo fotomultiplicador (PMT).

Também foram obtidas amostras das diluições e filtragens da ração, varreduras para a Matriz de Excitação-Emissão (MEE), obtendo-se assim o mapa 3D, sendo a excitação entre 200 e 450 nm e emissão na região de 200 a 700 nm. Nenhuma correção foi realizada para o efeito do filtro interno e para os espalhamentos Rayleigh e Raman e, os espectros foram coletados com o pH obtido em campo. O perfil do equipamento foi checado a partir de medidas de fluorescência de água deionizada.

A confecção dos gráficos referentes às análises espectroscópicas foi feita com uso do software OriginPro 9.0. As Matrizes de Excitação-Emissão (MEEs) apresentadas nesse trabalho foram obtidas pelas amostras de água bruta e filtrada.

3.6.1 Espectroscopia de Fluorescência: Espectros Pós Tratamento

As amostras foram submetidas à análises de varredura no espectrofluorímetro Cary Eclipse e no espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-Vis) Varian Cary 50, cujos resultados combinados à concentração de COD e da absorbância no UV-Vis subsidiaram a elaboração de matrizes excitação-emissão (MEEs), a partir da normalização de acordo com McKnight *et al.*[22], através do programa *Fluorescence Excitation-Emission Matrix Code - FEEMC 2.0*, desenvolvido por Kozak *et al.* [66] no prelo. Os dados das amostras filtradas e da água deionizada foram encaminhados para a equipe que elaborou o programa FEEMC 2.0, e a partir desses dados foram confeccionadas as matrizes MEE's corrigidas e normalizadas. Essa metodologia foi aplicada para comparar as MEE's corrigidas pelo programa FEEMC 2.0 das amostras filtradas com as MEE's que passaram apenas pelo processo de filtragem.

Considerando-se o grande volume de dados obtidos nesse trabalho e devido as análises efetuadas no laboratório da UFPR demandarem um longo tempo, optou-se por analisar somente os dados do viveiro 2, ao longo do ciclo produtivo, para uma comparação dos espectros MEE's tratados por FEEMC com os MEE's das amostras filtradas, em tempo hábil.

Foram quantificados valores de COD, para quantificar a matéria orgânica presente nas amostras, as quais foram submetidas ao analisador de carbono orgânico total TOC-VCPH Shimadzu instalado no laboratório da UTFPR e por meio de metodologia previamente definida pelo laboratório [44].

3.7 Espectroscopia de Absorção do Ultravioleta Visível (UV-Vis)

A mesma característica das amostras de águas analisadas na espectroscopia de fluorescência foi também realizada para a absorção UV-Vis. O equipamento utilizado para a análise espectroscópica de absorção no UV-Vis foi o espectrofotômetro Cary 50 (Varian) instalado no Laboratório de Espectrometria e Cromatografia Aplicada (LECA) da UFGD. A região espectral adotada variou de 200 a 500 nm com intervalos de 1 nm. As amostras de água brutas e filtradas foram medidas por uso de uma cubeta de quartzo, com volume de 3,5 ml e 1 cm de caminho óptico. Foram realizadas três leituras para cada amostra, bruta e filtrada, e realizada a média para apresentação dos resultados.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

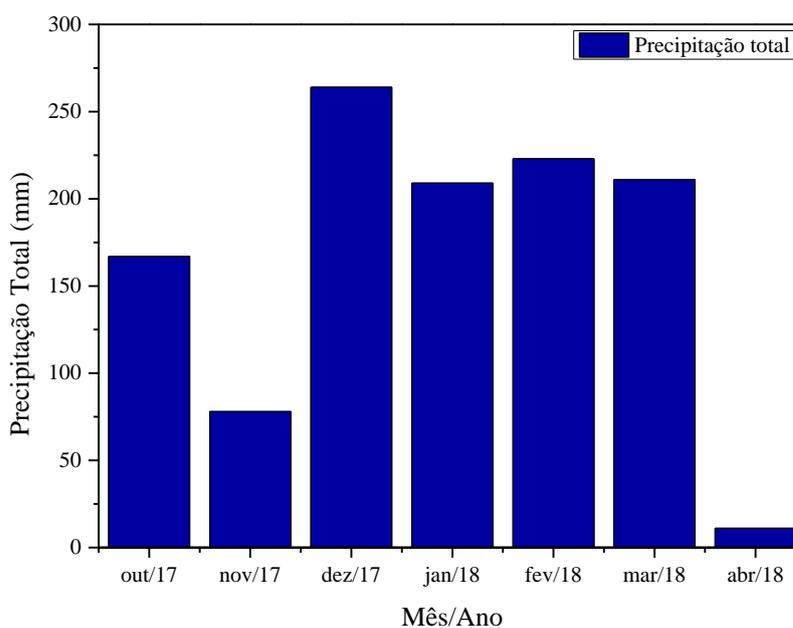
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o período do estudo. Na Seção 4.1. são apresentados os dados da precipitação pluviométrica. A Seção 4.2 apresenta todos resultados das amostras de água dos viveiros de criação de tilápias e de sua fonte de abastecimento ao longo de um ciclo produtivo a partir dos parâmetros convencionais. Posteriormente, na Seção 4.3, são apresentados os resultados obtidos a partir da técnica espectroscópica de fluorescência das amostras brutas e filtradas. A Seção 4.4 apresenta os resultados obtidos pela determinação do COD das amostras dos viveiros e córrego, e por fim, a Seção 4.5 mostra os resultados obtidos pela espectroscopia de Absorbância no UV-Vis.

4.1 Precipitação Pluviométrica

A precipitação pluviométrica na piscicultura ocasiona o aporte de nutrientes e material particulado existente no ambiente em seu entorno, bem como contribui para a alteração das características da água. Pode contribuir para a diluição de substâncias orgânicas e inorgânicas contidas no próprio viveiro [6] e do solo do entorno. A Figura 07 mostra a variação da precipitação total ao longo do tempo durante o estudo.

Figura 07 - Variação da precipitação total (mm) ao longo do tempo nos viveiros, Laguna Carapã-MS.



As precipitações máximas ocorreram entre os meses de dez/17 a mar/18 na região, com valores de precipitação variando entre 200 a 264 mm (Figura07). O pico máximo de precipitação ocorreu no mês de dez/17 atingindo 264 mm, e a mínima foi observada no mês de abr/18, não excedendo 15 mm.

4.2 Parâmetros Físico-Químicos

Considerando que os parâmetros físico-químicos são comumente utilizados na rotina de análises convencionais da água de pisciculturas, os resultados foram obtidos em 03 (três) pontos de cada um dos viveiros (V₁, V₂, V₃ e V₄), com exceção da água de abastecimento, a qual foi realizada em 02 (dois) pontos, uma no córrego e outra na calha lonada localizada no entorno dos viveiros. Já para amônia, foram realizadas triplicatas, em laboratório como já descrito na seção 3.5.

Portanto, as médias dos resultados e seus respectivos desvios-padrão estão apresentados nas Tabelas 04, 05, 06, 07 e 08.

Tabela 04 - Resultados dos parâmetros físico-químicos da fonte de abastecimento.

Mês/ano	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18
pH	7,63±0,03	7,35±0,01	7,31±0,03	7,2±0,1	7,1±0,1	7,68±0,04	6,96±0,04
Temp. da água (°C)	25,7±0,2	22,9±0,1	24,8±0,1	21,4±0,7	24,3±0,5	20,8±0,4	23,9±0,2
O.D. (mg.L⁻¹O₂)	7,3±0,1	8,0±0,3	6,9±0,4	6,6±1,4	6,9±0,2	8,6±0,2	—*
Cond. elétrica (µS.cm⁻¹)	7,0±0,2	53,2±0,1	56,3±0,7	61±2	51,6±0,4	56,5±0,5	52±1
Namoniacal (N-NH₃) (mg.L⁻¹)	0,04±0,00	0,03±0,00	0,05±0,01	0,022±0,001	0,020±0,001	0,03±0,01	0,022±0,002
TDS (mg.L⁻¹)	4,6±0,2	36,1±0,3	38±1	41,3±2,3	34,1±0,3	40,3±0,1	34,5±0,1
Transparência (m)	0,3±0,1	0,3±0,1	0,15±0,01	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1

* Valor de OD não foi detectado pela sonda.

Tabela 05 - Resultados dos parâmetros físico-químicos do Viveiro 1.

Mês/ano	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18
pH	7,89±0,04	6,6±0,3	7,12±0,01	7,4±0,1	7,11±0,01	7,7±0,1	6,99±0,01
Temp. da água (°C)	26,6±0,1	24,6±0,1	27,5±0,1	29,23±0,03	25,47±0,03	20,5±0,1	24,33±0,03
O.D. (mg.L⁻¹O₂)	5,90±0,05	8,2±0,1	4,97±0,15	3,5±0,3	3,0±0,2	4,1±0,2	1,6±0,7
Cond. elétrica (µS.cm⁻¹)	10,6±0,0	60,2±1,1	62,8±1,3	66,6±0,8	56,5±0,5	60,3±1,2	55,3±0,3
Namoniacal (N-NH₃) (mg.L⁻¹)	0,02±0,05	0,01±0,01	0,064±0,001	0,021±0,002	0,024±0,003	0,11±0,01	0,15±0,05
TDS (mg.L⁻¹)	7,00±0,03	39,9±0,7	34,5±0,5	39,9±0,3	37,1±0,1	41,6±1,1	37,3±0,2
Transparência (m)	0,41±0,02	0,34±0,01	0,5±0,1	0,40±0,01	0,43±0,01	0,31±0,02	0,31±0,01

Tabela 06 - Resultados dos parâmetros físico-químicos do Viveiro 2.

Mês/ano	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18
pH	7,95±0,04	7,4±0,2	6,8±0,1	7,01±0,05	6,8±0,1	7,73±0,01	6,95±0,03
Temp. da água (°C)	26,7±0,1	25,2±0,1	26,9±0,1	28,93±0,03	25,61±0,01	20,91±0,01	24,9±0,1
O.D. (mg.L⁻¹O₂)	7,01±0,08	7,5±0,2	5,3±0,3	3,9±0,6	2,5±0,1	3,5±0,2	0,50±0,05
Cond. elétrica (µS.cm⁻¹)	7,4±0,1	63,6±3,5	56,8±0,7	61,3±0,6	56,4±0,2	57,3±1,5	55,4±0,1
N_{amoniaco} (N-NH₃) (mg.L⁻¹)	0,04±0,01	0,021±0,003	0,14±0,01	0,022±0,003	0,025±0,003	0,10±0,03	0,12±0,03
TDS (mg.L⁻¹)	4,8±0,1	36,2±3,2	37,4±0,7	36,8±0,2	36,40±0,01	39,9±1,1	35,5±0,2
Transparência (m)	0,5±0,1	0,53±0,02	0,4±0,1	0,48±0,01	0,53±0,01	0,37±0,05	0,31±0,02

Tabela 07 - Resultados dos parâmetros físico-químicos do Viveiro 3.

Mês/ano	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18
pH	7,7±0,1	7,1±0,1	6,94±0,01	7,13±0,01	6,95±0,01	7,65±0,02	6,7±0,1
Temp. da água (°C)	26,5±0,1	24,7±0,1	27,61±0,02	28,93±0,03	25,11±0,01	20,31±0,02	24,4±0,1
O.D. (mg.L⁻¹O₂)	6,76±0,03	7,4±0,1	4,1±0,1	4,18±0,04	2,3±0,1	3,9±0,1	3,0±1,3
Cond. elétrica (µS.cm⁻¹)	7,2±0,1	53±5	59±8	59,6±0,4	53,8±0,3	57,7±0,7	55,7±0,5
N_{amoniaco} (N-NH₃) (mg.L⁻¹)	0,03±0,01	0,023±0,003	0,13±0,01	0,025±0,002	0,05±0,01	0,11±0,01	0,22±0,02
TDS (mg.L⁻¹)	4,7±0,1	38±2	43±2	35,9±0,2	34,7±0,2	40,3±0,4	36,4±0,8
Transparência (m)	0,61±0,05	0,58±0,02	0,39±0,02	0,50±0,02	0,49±0,02	0,38±0,02	0,40±0,01

Tabela 08 - Resultados dos parâmetros físicos e químicos do Viveiro 4.

Mês/ano	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18
pH	7,04±0,04	7,4±0,1	7,04±0,01	7,06±0,02	7,01±0,0	7,70±0,01	6,86±0,01
Temp. da água (°C)	27,3±0,1	23,9±0,1	27,3±0,1	28,6±0,1	25,12±0,01	20,3±0,1	24,4±0,1
O.D. (mg.L⁻¹O₂)	4,3±0,2	8,16±0,01	4,3±0,1	2,72±0,04	1,79±0,01	3,8±0,1	—*
Cond. elétrica (µS.cm⁻¹)	8,11±0,02	56±2	63,8±1,3	60,2±0,1	54,5±0,1	56,7±0,9	54,3±0,2
N_{amoniaco} (N-NH₃) (mg.L⁻¹)	0,09±0,01	0,021±0,002	0,07±0,01	0,021±0,003	0,08±0,01	0,12±0,03	0,17±0,04
TDS (mg.L⁻¹)	5,41±0,01	43,8±5,3	37,5±1,9	36,41±0,01	35,11±0,01	40,1±0,2	37,11±0,01
Transparência (m)	0,50±0,01	0,5±0,1	0,50±0,02	0,51±0,01	0,52±0,01	0,42±0,01	0,42±0,01

* Valor de OD não foi detectado pela sonda.

Um intervalo de 6,0 a 9,0 para valores de pH é considerado ideal para o cultivo de peixes [5-7,45,46,63]. Observando as médias obtidas para o pH, observa-se que todos os viveiros apresentam valores considerados ótimos durante todo o período de cultivo. Valores abaixo de 4 e acima de 11 são considerados letais para os peixes [6]. O aumento de pH (> 9,0) pode representar um aumento da toxicidade da amônia não ionizada (NH₃) presente na água, proveniente da decomposição de matéria orgânica, ração, excrementos, entre outros [67].

Como pode ser observado, os valores de pH não se apresentaram superiores a pH 9, e conforme Pereira *et al.* [50] a forma geralmente encontrada para essa condição é da amônia ionizada, NH_4^+ , ou seja, a forma não tóxica para os peixes. Esteves [51] afirma que elevadas taxas de excreção dos organismos, associados ao baixo aproveitamento de rações, os quais entram no processo de decomposição, alta variabilidade de pH e altas temperaturas da água, devido às baixas profundidades dos tanques, formam um conjunto de fatores favoráveis à produção de amônia, gerando prejuízos no empreendimento.

De acordo com Sant'Ana de Faria *et al.* (CODEVASF) [5], em relação a temperatura da água, o ideal para o desenvolvimento dos peixes tropicais em viveiros de engorda está entre 25°C e 32°C, acima desse valor, até 35°C, por exemplo, há uma redução no consumo de alimento, e abaixo de 18°C praticamente param de se alimentar. Já para Sipaúba-Tavares [6], temperaturas da água do viveiro entre 30 e 35°C são toleráveis pelos peixes, mas acima de 35°C comprometem a vida aquática. Observando os resultados obtidos da temperatura da água dos viveiros do estudo, na maioria dos meses do cultivo, manteve-se dentro do intervalo recomendado como ótimo. Pequenas variações foram observadas, sendo $20,31 \pm 0,02^\circ\text{C}$ o mínimo para V_3 e V_4 no mês de mar/18 e $29,23 \pm 0,03^\circ\text{C}$ o máximo para V_1 no mês de jan/18, no entanto, esses valores ainda estão muito próximos dos extremos considerados como ótimos para a temperatura.

Os resultados obtidos de oxigênio dissolvido (OD) nos viveiros estudados são considerados satisfatórios apenas no início do cultivo até dez/17. A partir do mês de jan/18 as concentrações começam a diminuir significativamente. Conforme alguns autores [5-7,45,46,48] os valores aceitáveis para OD, indicam que acima de $5 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_2$ são ideais para a criação dos peixes tropicais; valores entre 1 e $5 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_2$ os peixes sobrevivem, porém, pode ocorrer uma diminuição na taxa de seu crescimento se essa condição ocorrer por tempo prolongado; já valores abaixo de $1 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_2$ são considerados letais se a exposição dos peixes a essa condição for prolongada [48,68]. A concentração de OD na água pode sofrer drástica redução quando aumenta consideravelmente a concentração de material em suspensão na água, após intensas precipitações e dos sistemas de drenagem que direcionam esses materiais para lagos, represas e rios [55].

Considerando que o sistema de cultivo desse estudo se apresenta com características de ambientes semelhantes a de um reservatório, observa-se a diminuição da concentração de OD nos viveiros ao longo do ciclo, tornando elevada a demanda por OD, principalmente ao final do cultivo, quando os peixes estão adultos [47,48].

Um outro problema que pode estar associado à depleção do OD levando à anoxia do sistema é a concentração da matéria orgânica dissolvida (MOD), conjuntamente com a luz solar, também afeta a disponibilidade e distribuição de oxigênio [51]. Foi constatado no córrego que, para esse mesmo parâmetro, as condições foram satisfatórias, com concentrações de OD entre 6,0 e 8,0 mg.L⁻¹ O₂. Essas concentrações podem aumentar devido à turbulência na água, o que gera maior troca de oxigênio do ar e da água [69].

Vários fatores podem influenciar a composição iônica dos corpos d'água, como: a geologia da área de drenagem, geologia da bacia de acumulação do lago e regime de chuvas e a condutividade elétrica também pode trazer respostas dos nutrientes em ambientes aquáticos [51]. Conforme Sipaúba-Tavares, 2013 [6] e 1994 [7], valores elevados de condutividade elétrica indicam alto grau de decomposição, já valores reduzidos são características de acentuada produção primária, sendo, portanto, uma maneira de avaliar a disponibilidade de nutrientes nos ecossistemas aquáticos. Em viveiros de piscicultura, valores próximos a 70 µS.cm⁻¹ são ideais para a manutenção e produção dos viveiros [70].

Observando esse parâmetro nota-se que todos os viveiros se apresentam com os valores de condutividade elétrica próximos ao considerado ideal para o cultivo a partir de nov/17. No mês de out/17 foi registrado um resultado diferente em relação aos outros meses para todos os viveiros, com valores entre 7 e 8,1 µS.cm⁻¹. Pode-se observar que ao longo do tempo a condutividade elétrica média da fonte de abastecimento acompanhou a mesma variação em relação aos viveiros, com a mínima 7,0±0,2 µS.cm⁻¹ e a máxima apresentando 61,0±2,0 µS.cm⁻¹.

Analisando as concentrações referentes a N_{amoniacal}, observa-se que, ao longo dos meses, em sua maioria, os níveis de sua concentração nas águas dos viveiros apresentam-se adequados para o cultivo. Conforme Sant'Ana de Faria et al [5] e Leira et al. [52], concentrações abaixo de 0,05 mg/L NH₃ são considerados indicados para criação de peixes tropicais. Para Corrêa (EMBRAPA) [71] as concentrações de amônia em viveiros, entre 0,05 e 0,5 mg.L⁻¹, acarretam alterações patológicas nos peixes e retardam seu crescimento.

As Tabelas 05 e 06 mostram as concentrações de amônia dos viveiros V₁ e V₂, onde em V₁ as maiores concentrações foram nos meses de mar/18 e abr/18: 0,11±0,01 e 0,15±0,05 respectivamente, e para V₂ nos meses de dez/17 e abr/18: 0,14±0,01 e 0,12±0,03 respectivamente. Já os viveiros V₃ e V₄ (Tabelas 07 e 08) apresentaram maiores concentrações de amônia em abr/18 para ambos, sendo de 0,22±0,02 e 0,17±0,04 respectivamente. Porém, como o pH não apresentou valores acima de 9, pode-se dizer que a forma ionizada (não tóxica) é a que permaneceu na água dos viveiros.

Os resultados de TDS (Sólidos Dissolvidos Totais) aumentaram em todos os viveiros do início do cultivo (out/17) para os meses subsequentes, porém estiveram com a média entre $4,7 \pm 0,1$ (mínimo) e $43,8 \pm 5,3$ (máximo). É notável que os resultados de TDS acompanham a variação da condutividade elétrica ao longo do cultivo em todos os viveiros. O mesmo pode ser observado para a fonte que os abastece. Nos viveiros e córrego, o TDS apresenta valores mais baixos, devido a não ocorrência de precipitação nos dias que antecederam a coleta e no dia da coleta do mês de out/17.

Ao longo do cultivo a transparência da água em todos os tanques mantiveram-se entre 0,30 e 0,60 m. Na avaliação em campo, a água dos viveiros se apresentava com uma cor marrom levemente esverdeada. Isso pode ter relação com a localização dos viveiros, pois estão muito próximos às plantações, facilitando a entrada de materiais do solo pela ação dos ventos e da chuva. Conforme Mercante *et al* [46] o valor adequado para manter uma boa qualidade da água nos viveiros de piscicultura é em torno de 0,40 m. Porém, conforme Corrêa [71], para tilápia o ideal é que a transparência fique em torno de 0,30 a 0,50 m. Já para Sant'Ana de Faria *et al.* [5] o ideal para criação de peixes fica entre 0,30 e 0,60 m indicando a quantidade adequada de plâncton (água levemente esverdeada).

Ao longo do cultivo a transparência da água em todos os tanques mantiveram-se entre 0,30 e 0,60 m. Na avaliação visual, em campo, a água dos viveiros se apresentava com uma cor marrom levemente esverdeada. Isso pode ter relação com a localização dos viveiros, pois estão muito próximos às plantações, facilitando a entrada de materiais do solo pela ação dos ventos e da chuva. Importante ressaltar que, com a utilização inicial (out/17 e dez/17) do adubo orgânico (CF) nos Viveiros 1 e 4, não foram observadas alterações significativas nos parâmetros físicos e químicos analisados.

Como a principal atividade da propriedade desse estudo é a agricultura, com produção de soja e milho, nela são utilizados agrotóxicos, herbicidas e inseticidas não descartando a possibilidade de interferência desses componentes tóxicos na água do córrego e, conseqüentemente, na água dos viveiros. Além disso, a água do córrego e dos viveiros podem ter outras influências como, por exemplo, a descarga dos efluentes dos viveiros existentes na propriedade vizinha, localizada à montante do local do estudo. Outro fator que pode influenciar a qualidade da água em questão, é da grande quantidade de solo advindo do pisoteamento do gado na Área de Preservação Permanente (APP) do referido córrego, próximo à área de nascente, também localizada à montante do ponto de coleta.

Por fim, as precipitações que ocorrem na região, também podem influenciar as alterações na qualidade da água, pois materiais e substâncias diversas, proveniente da rodovia e do próprio solo do entorno, são carreados para dentro do córrego e viveiros. Portanto, todos esses fatores possivelmente podem ter contribuído com as alterações dos parâmetros físicos e químicos da água do córrego e, conseqüentemente, dos viveiros.

4.3 Espectroscopia de Fluorescência

Por meio da técnica da espectroscopia de fluorescência obteve-se mapas 3D que apresentaram algumas regiões importantes referentes aos componentes da água, ao longo de um ciclo de cultivo das tilápias em viveiros. Observam-se nas Figuras os gráficos de fluorescência, mapas 3D das MEEs, das amostras de águas brutas do córrego, nomeadas por CoB e dos viveiros, nomeadas por V₁B, V₂B, V₃B e V₄B, respectivamente. É importante ressaltar que a água que abastece os viveiros é proveniente do córrego percorrendo aproximadamente 1,5 km até o ponto de coleta (CoB).

Nota-se, das Figuras 08 a 12 que os mapas 3D das amostras de água bruta coletadas do córrego têm características muito semelhantes aos mapas da água bruta coletada dos viveiros, uma vez que apresentam emissões nas mesmas regiões.

Figura 08 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão do córrego, amostras brutas (CoB) entre os meses de out/17 a abr/18.

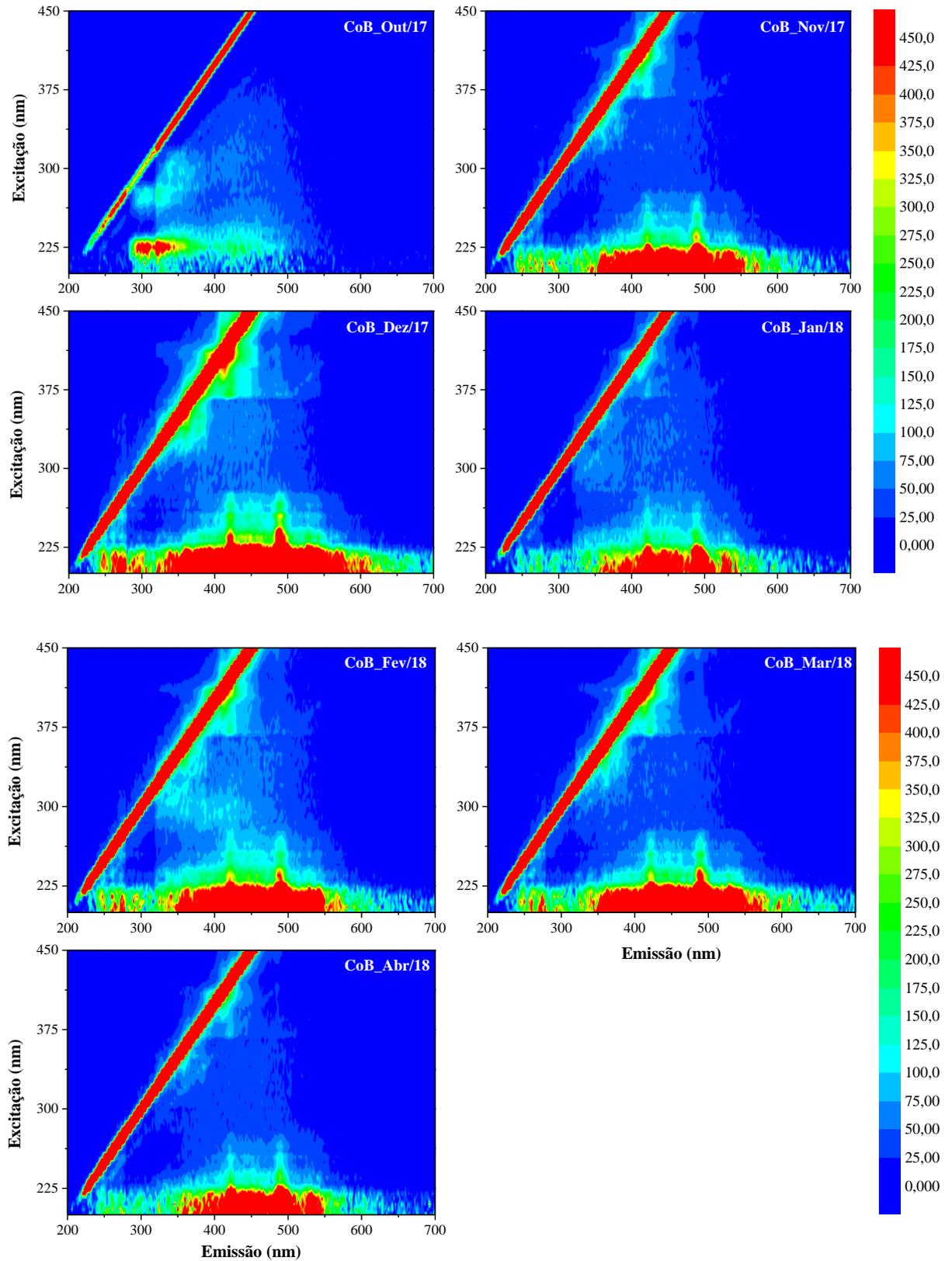


Figura 09 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 1, amostras brutas (V₁B) entre os meses de out/17 a abr/18.

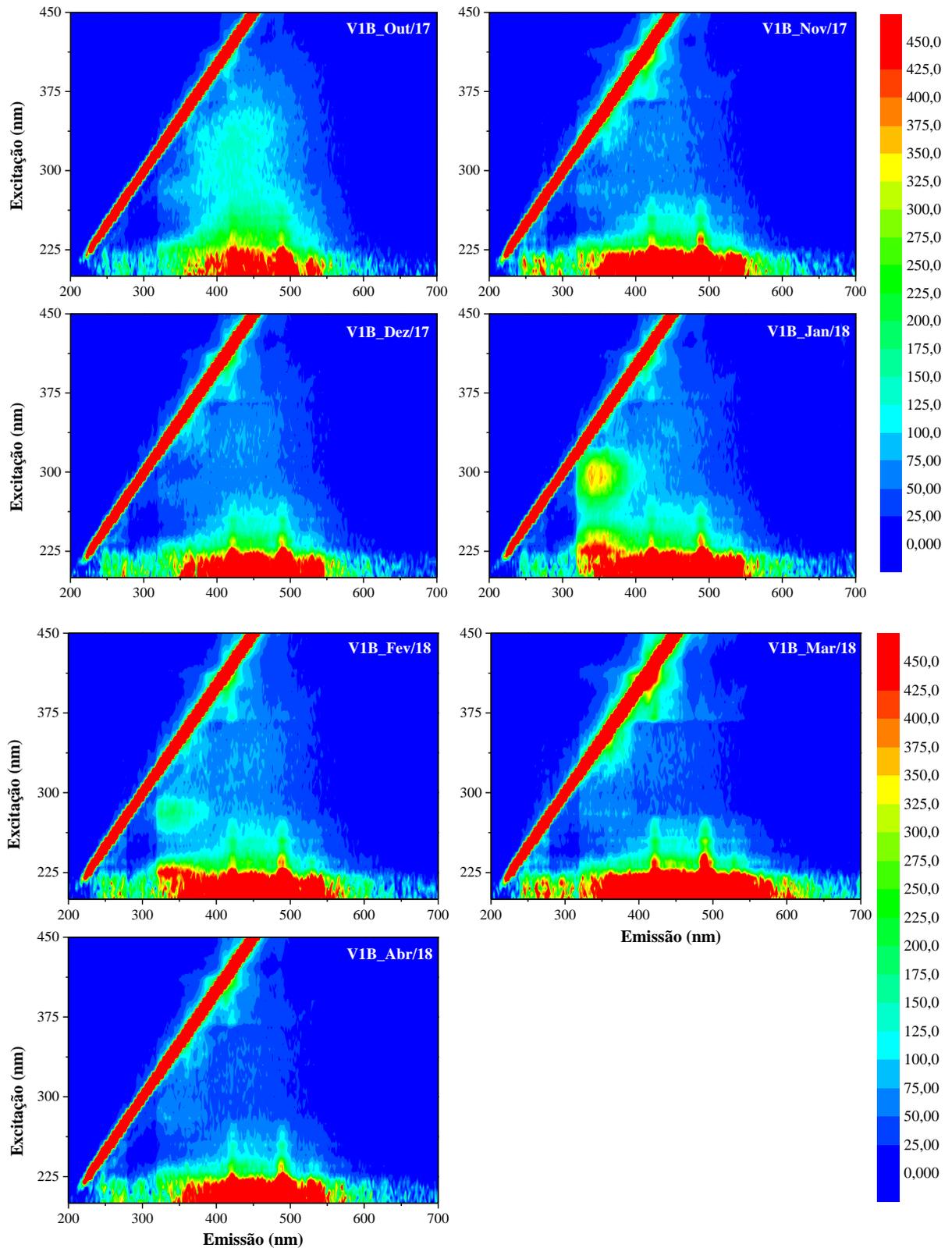


Figura 10 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 2, amostras Brutas (V₂B) entre os meses de out/17 a abr/18.

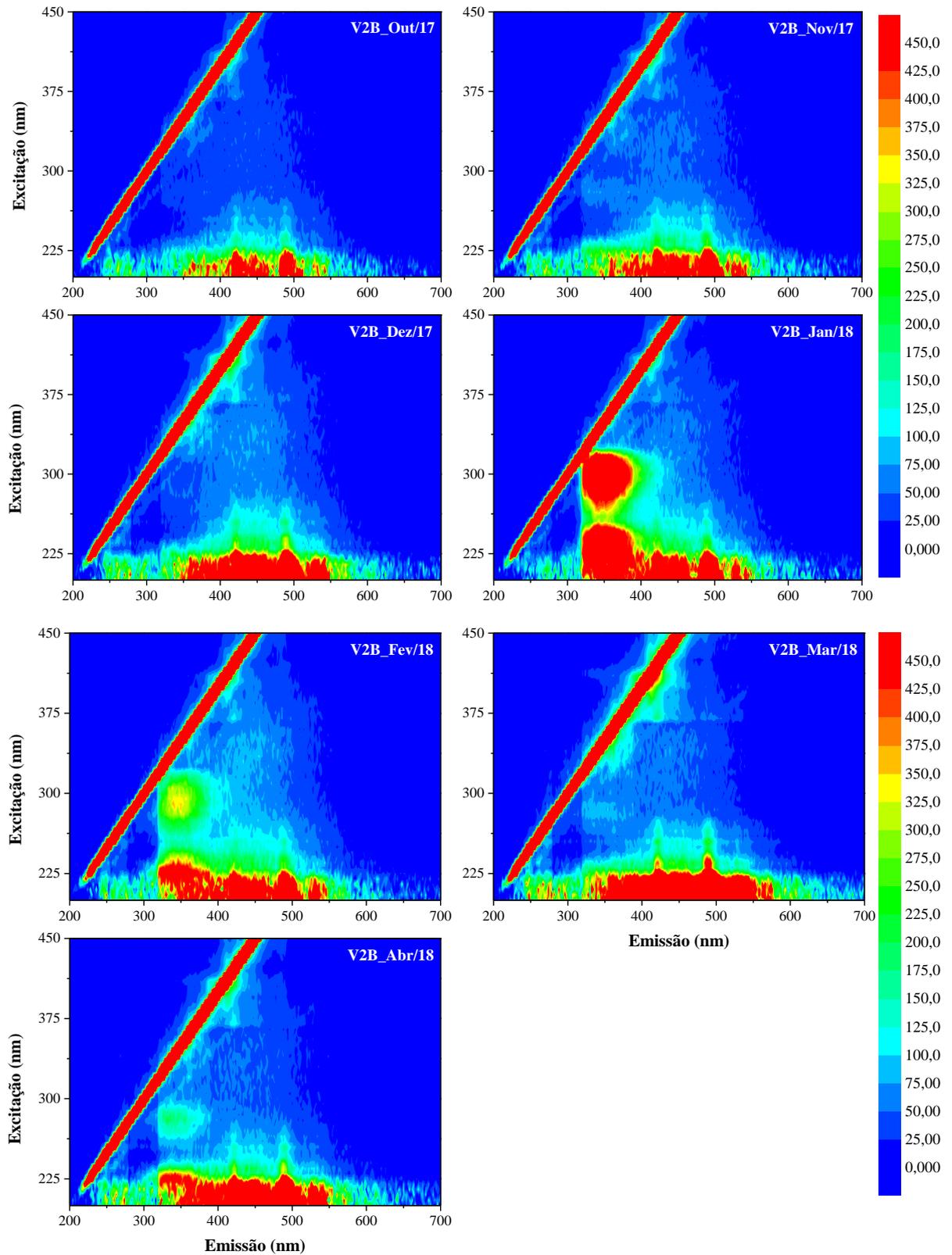


Figura 11 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 3, amostras brutas (V₃B) entre os meses de out/17 a abr/18.

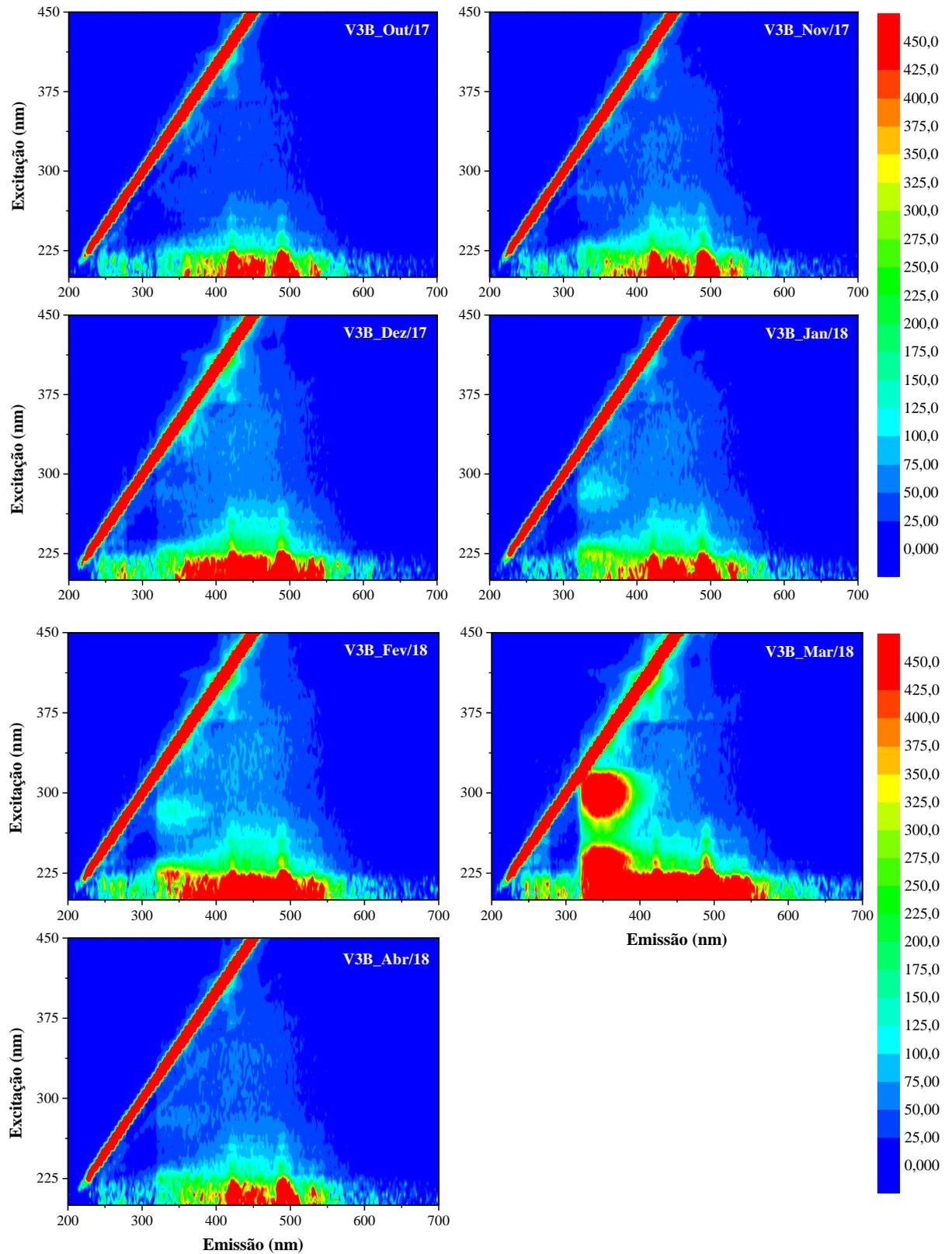
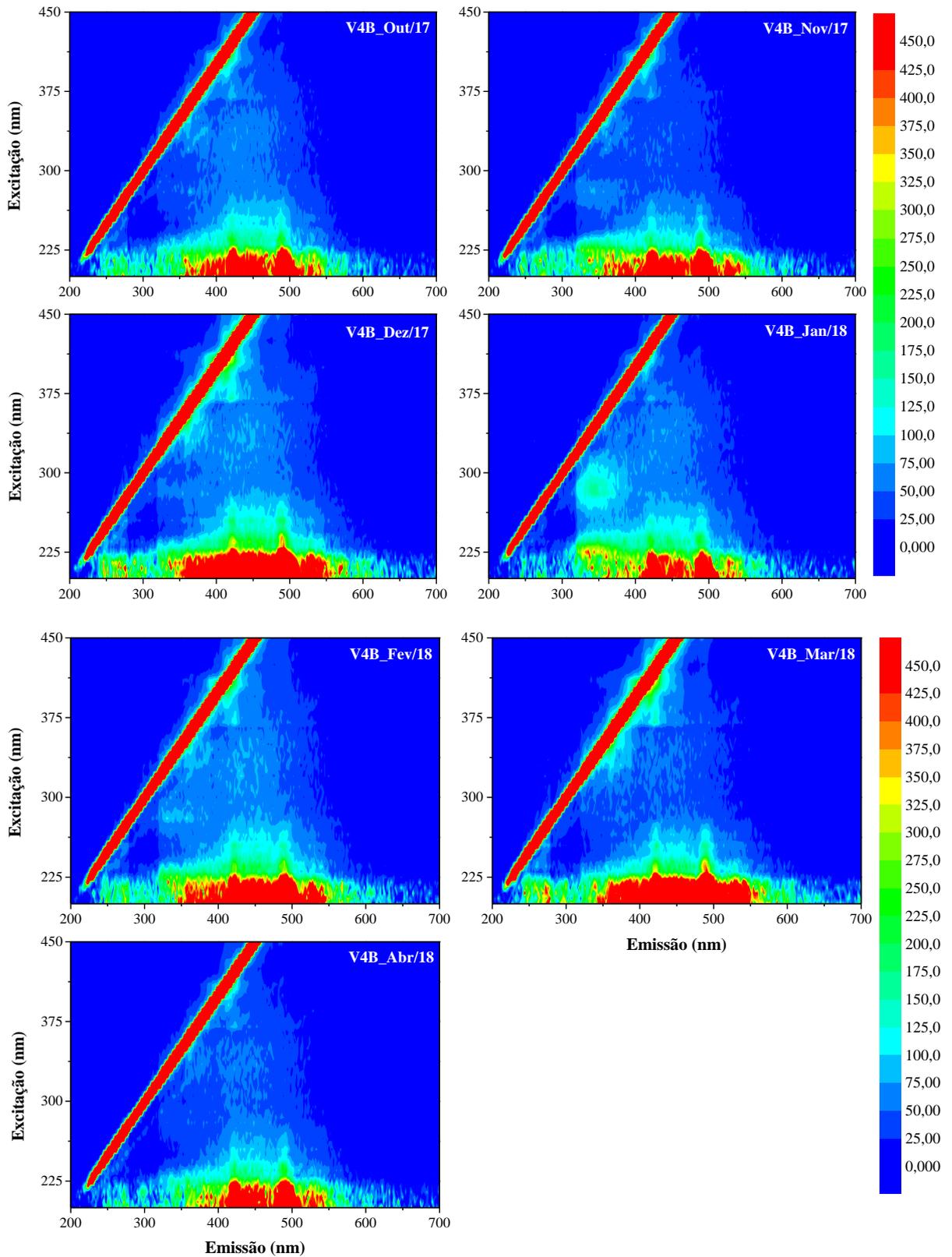


Figura 12 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 4, amostras brutas (V4B) entre os meses de out/17 a abr/18.



Analisando as Figuras 08, 09, 10, 11 e 12 observamos que o sinal de fluorescência das amostras de água bruta do córrego (CoB) e viveiros (V₁B, V₂B, V₃B e V₄B) foi caracterizado pela prevalência da região **2** e **2'** (ver Figura 02). A IF dessas regiões **2**: $\lambda_{ex}/\lambda_{em} \leq 250/400-500$ nm e **2'**: $\lambda_{ex}/\lambda_{em} 300-350/400-500$ nm indicam a presença de substâncias húmicas, as quais, conforme Coble [15] e Coble *et al.* [38], são atribuídas pelos Picos A e C respectivamente. A região **2** apresenta um pico mais intenso com IF maior que a região **2'**, a qual possui uma menor IF, mas ambas são caracterizadas pelas substâncias húmicas, de material pedogênico [15,38]. Sendo a região **2**, referente às substâncias húmicas, consistente nas amostras brutas, e com alta intensidade de fluorescência, pode-se considerar que, não se descarta a possibilidade de a referida região apresentar interferências como o espalhamento em virtude de particulados existentes nas amostras ou do próprio sinal de luminescência do equipamento ou por suas características utilizadas para as medições desse componente.

Nota-se ainda que, diferente do córrego, os mapas 3D de todos os viveiros começam a apresentar nitidamente a partir do mês de janeiro, a emissão atribuída às regiões **1** e **1'**, componentes proteicos que podem ser advindos da ração [19]. Os viveiros 2 e 3 foram os que apresentaram emissões mais intensas e duradouras referentes à essa região, enquanto o viveiro 4 apresentou essa emissão evidente somente no mês de janeiro.

A sobreposição observada para as emissões nas regiões **1'** e **2** dificulta a identificação de componentes específicos obtidos das amostras de água bruta. Uma alternativa utilizada como solução é a aplicação da filtragem que permitiu distinguir mais componentes de interesse.

As Figuras 13, 14, 15, 16 e 17 apresentam os gráficos de fluorescência dos mapas 3D das MEEs das amostras de água filtradas do córrego de abastecimento, CoF, e dos viveiros V₁F, V₂F, V₃F, V₄F, respectivamente, ao longo do tempo de cultivo (out/17 a abr/18).

Figura 13 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Córrego, amostras filtradas (CoF) entre os meses de out/17 a abr/18.

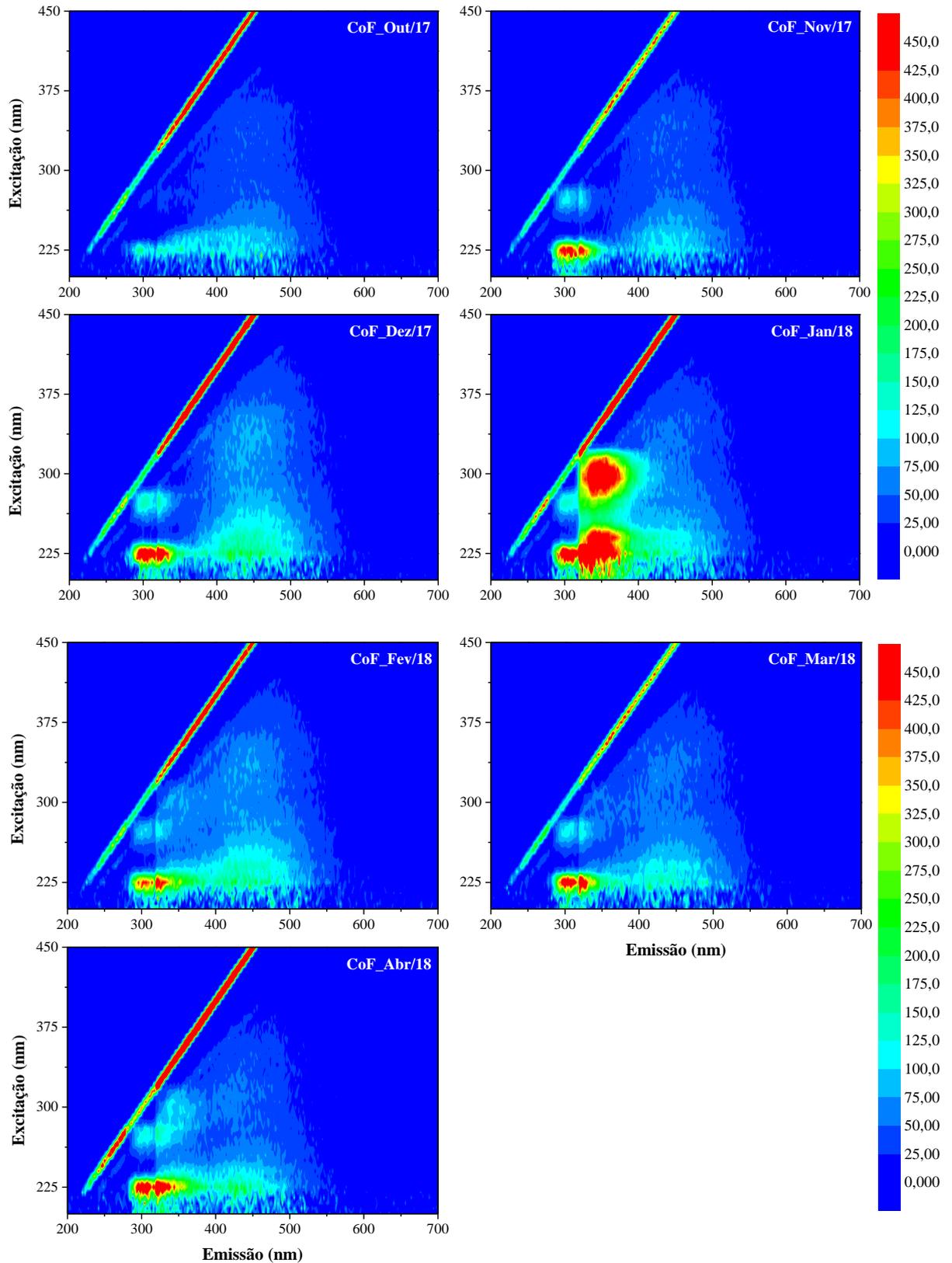


Figura 14 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 1, amostras filtradas (V₁F), entre os meses de out/17 a abr/18.

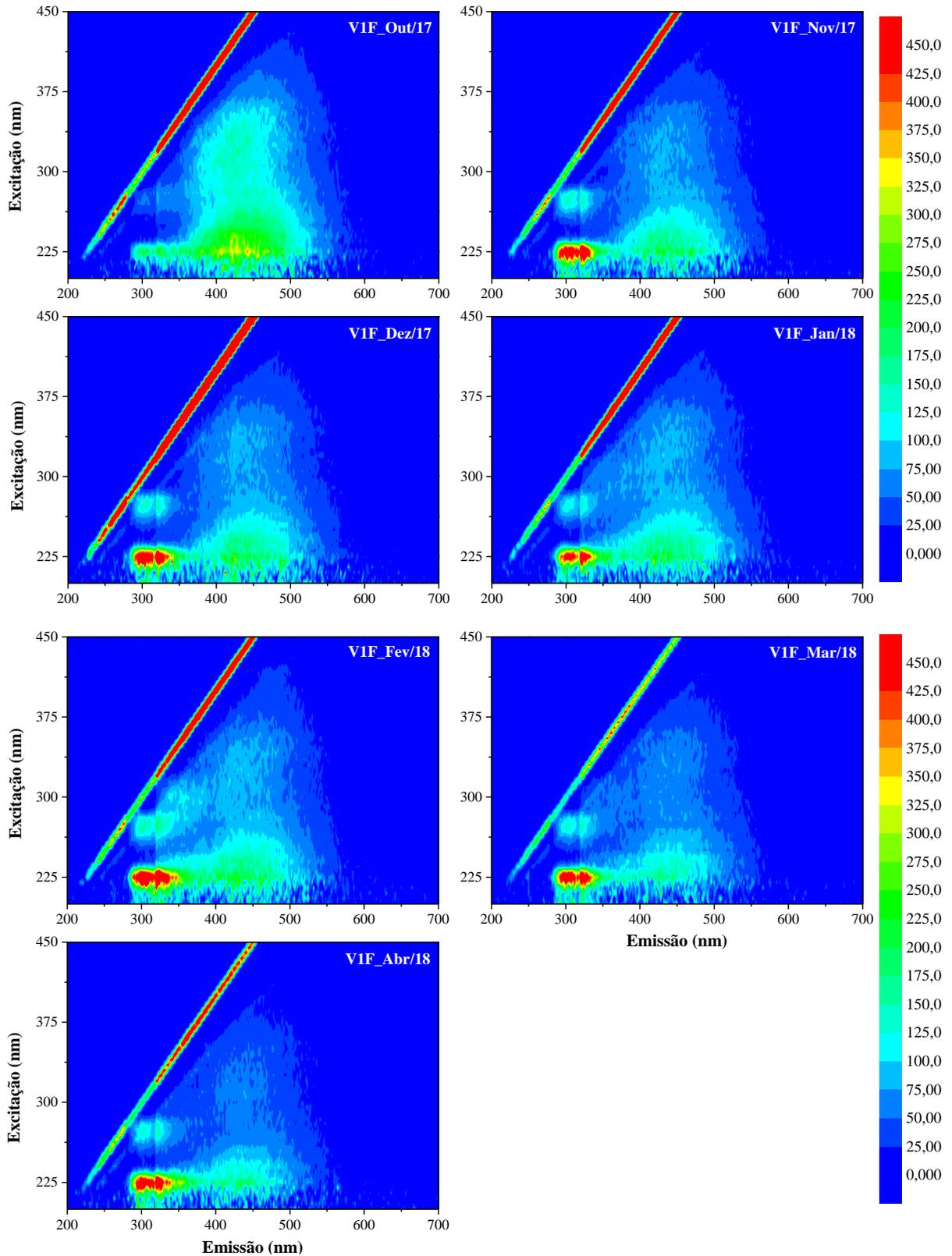


Figura 15 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 2, amostras filtradas (V₂F), entre os meses de out/17 a abr/18.

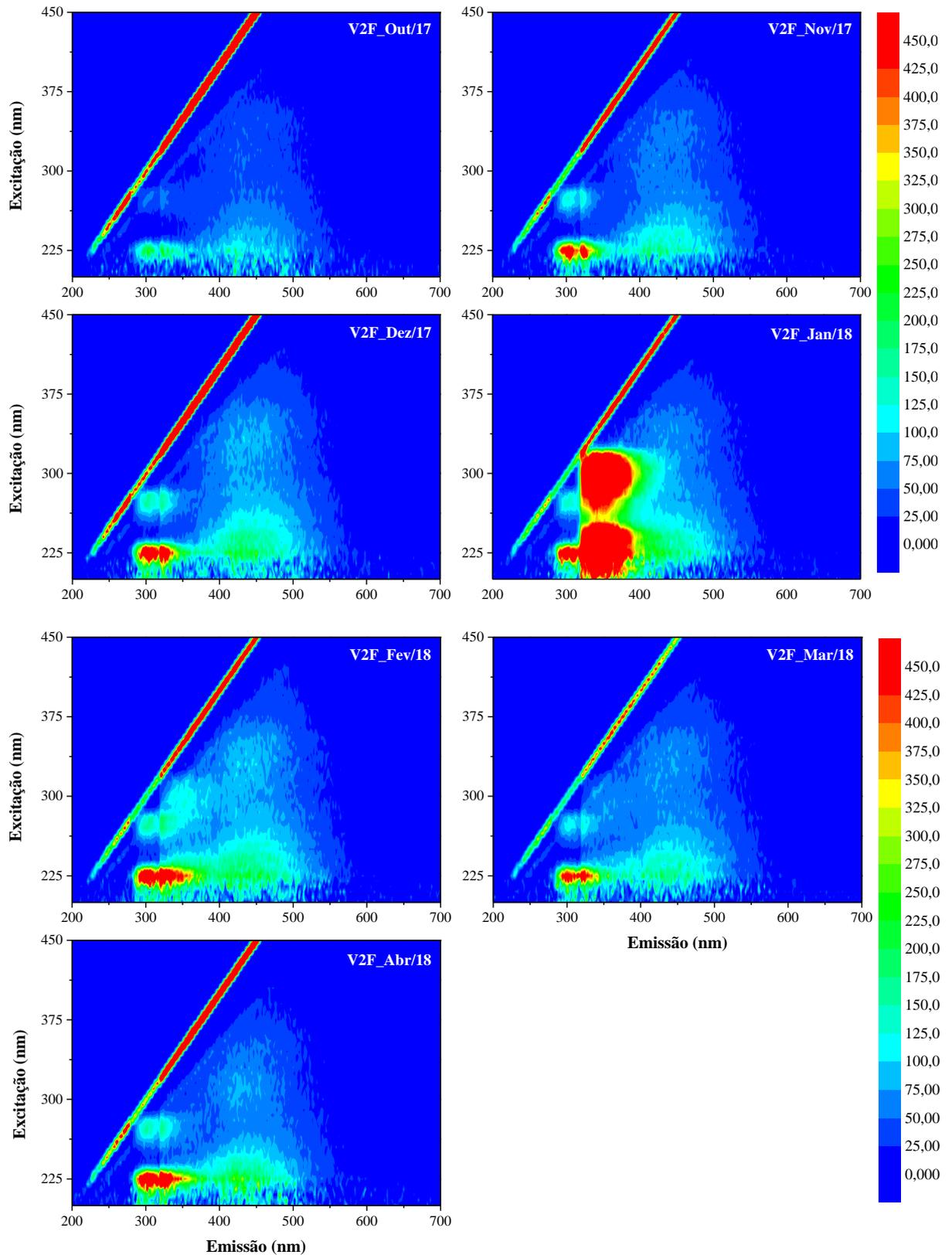


Figura 16 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 3, amostras filtradas (V₃F), entre os meses de out/17 a abr/18.

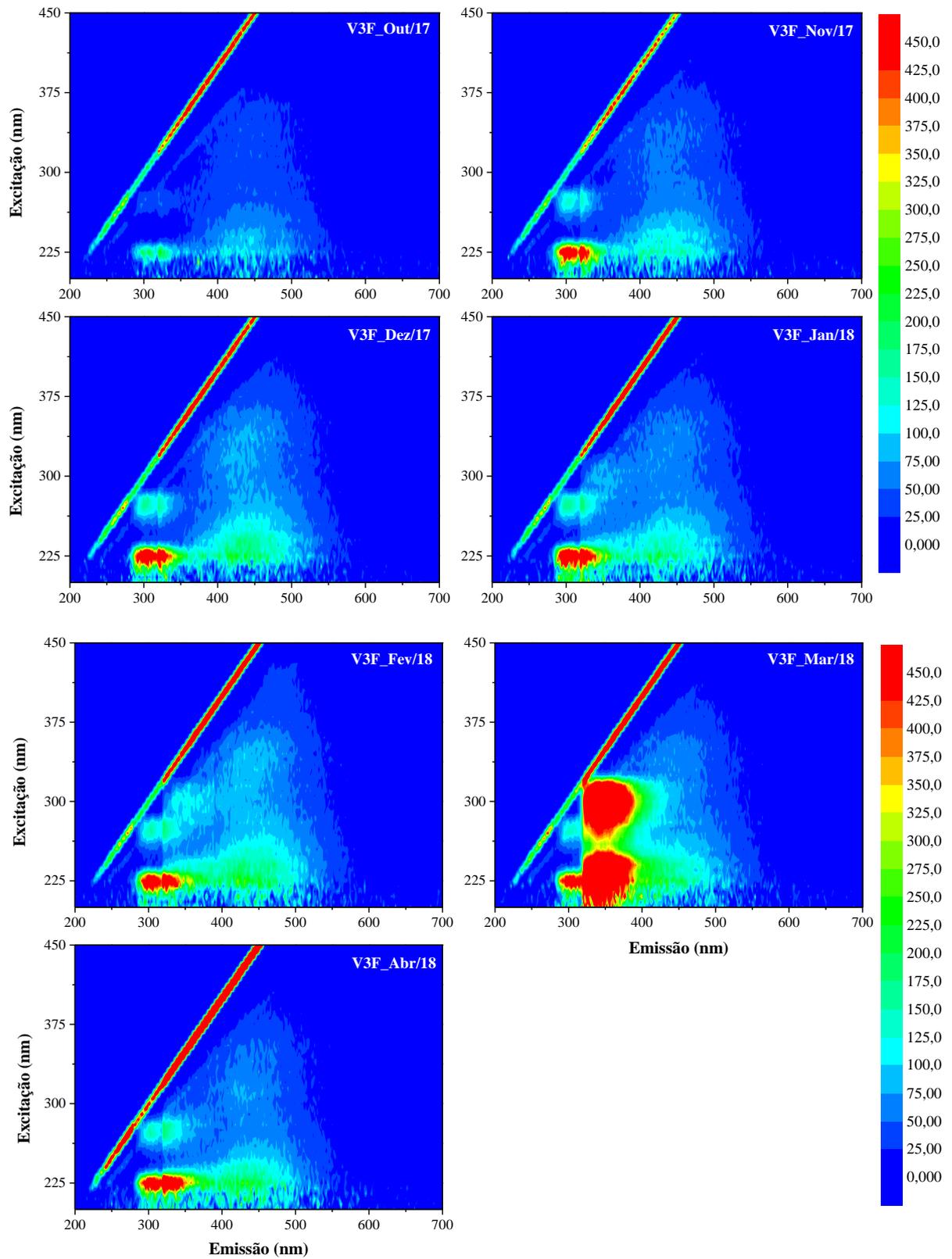
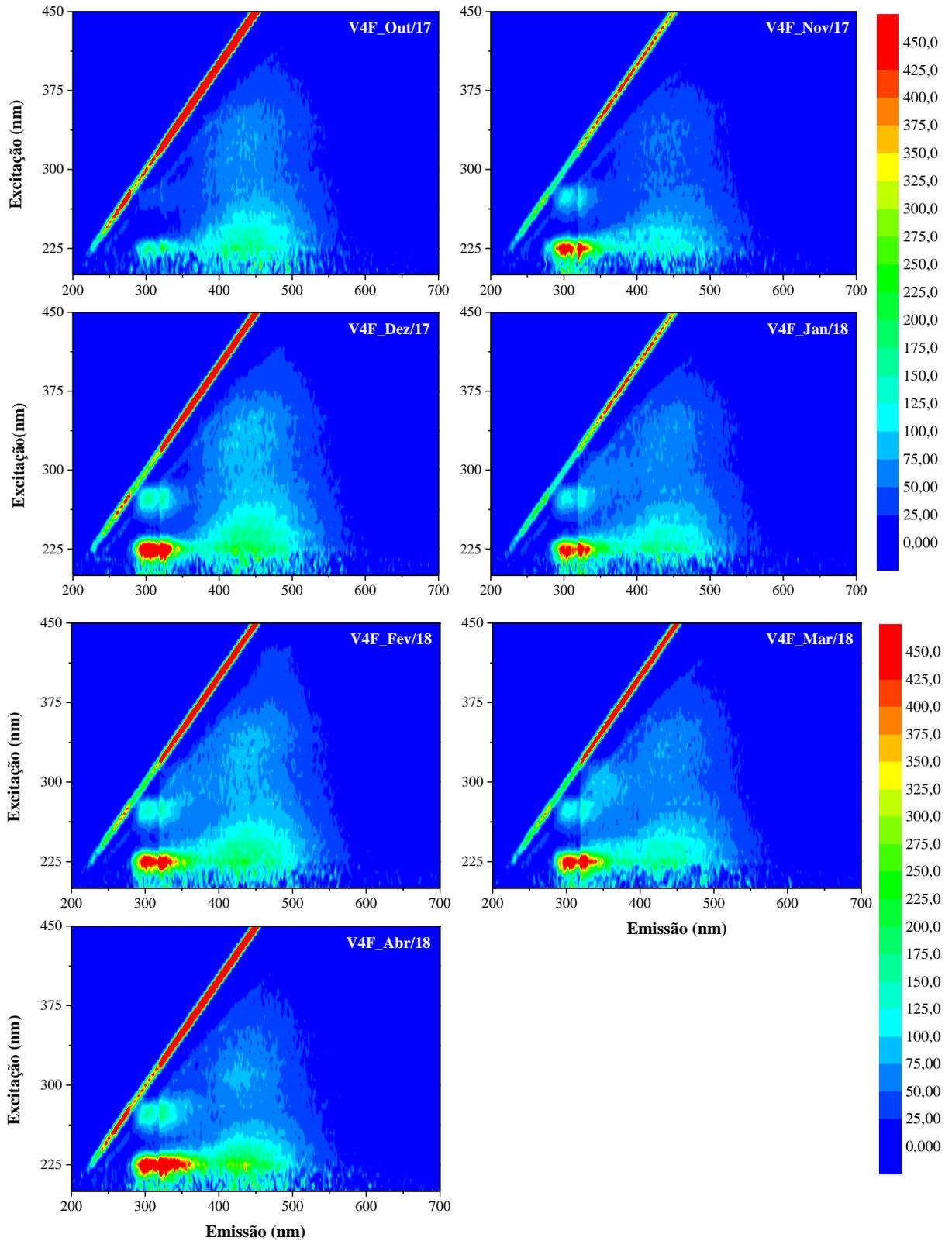


Figura 17 - Gráficos 3D da Matriz de Excitação-Emissão do Viveiro 4, amostras filtradas (V4F), entre os meses de out/17 a abr/18.



De maneira geral, nota-se que, após filtragem, os mapas 3D de todas as amostras apresentaram intensidades menores de fluorescência, em relação as regiões **2** e **2'** e, as regiões de interesse se mostraram mais bem definidas quando comparadas aos mapas 3D das amostras brutas. Observa-se nas Figuras 13 a 17 que, a região **2'**, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 300-350/400-500 nm apresenta-se mais intensa após tratamento, uma região mais clara, porém menos intensa quando comparada a outras regiões **1** e **1'**. A região **2'** foi observada nos trabalhos de Hambly *et al* [19] e Carstea [13], nomeada como Pico C, sendo a região de frações compostas de matéria orgânica representadas também pelas substâncias húmicas [27,38].

Evidencia-se ainda, após filtragem, regiões distintas dos espectros das amostras brutas desde o início do cultivo. As maiores intensidades nas Figuras 13 a 17 foram observadas para a região **1**, com comprimento de onda de $\lambda_{ex}/\lambda_{em} \sim 225/300-350$ nm que, conforme Kramer *et al* [14], são substâncias semelhantes à proteína do tipo tirosina (nomeada como Pico B, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/310 nm). Sabe-se que proteínas do tipo tirosina podem compor estruturas menos complexas, com características mais lábeis, sendo observada em diferentes sistemas aquáticos, com pequenas alterações em comprimentos de onda ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) [4,11,12,13,15,19]. Já a região **1'**, representada por comprimentos de onda em $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 280/340 nm, também pode ser atribuída às substâncias proteicas, porém, do tipo triptofano [12,15,17,19,20].

Em se tratando dos mapas 3D da água do córrego (CoF), nota-se que, após a filtragem, o mesmo também apresenta emissões evidenciadas nas regiões de interesse, principalmente as relacionadas aos componentes proteicos, regiões **1** e **1'**, e que se assemelham aos espectros dos viveiros (V₁F, V₂F, V₃F e V₄F) ao longo do ciclo produtivo.

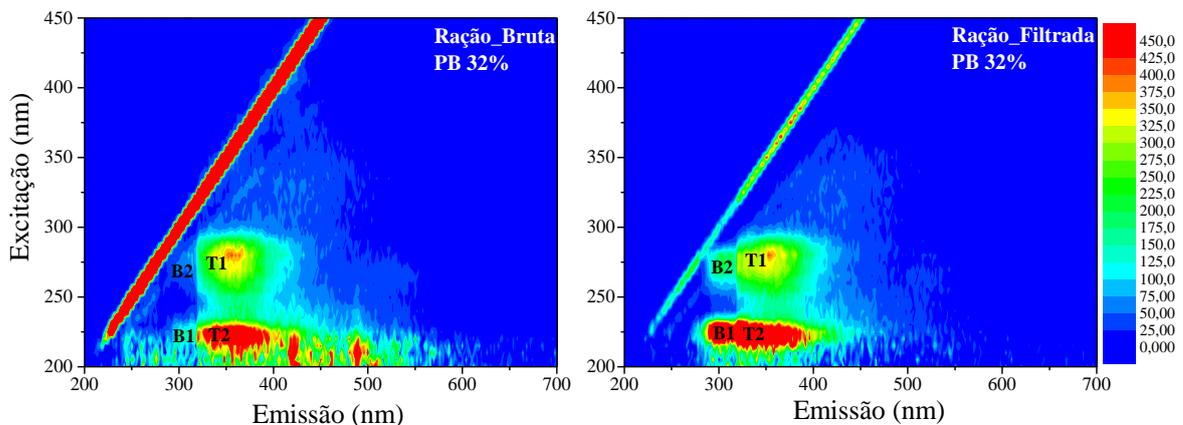
Uma hipótese que precisa ser ressaltada, quanto ao córrego, é o fato de sofrer influências do entorno, pois existem alguns tanques de piscicultura muito próximas à sua nascente, localizados na propriedade à montante do ponto de coleta no córrego. Porém, não há informação sobre o manejo realizado pelo proprietário desses tanques. Mas, possivelmente, ocorre a troca da água desses tanques, e todas as substâncias e materiais provenientes dos tanques são lançados no córrego, o que contribuirá para a presença das substâncias proteicas (regiões **1** e **1'**) no córrego, observados nos espectros da Figura 13. Isso pode indicar fortemente a presença de ração dissolvida proveniente da piscicultura vizinha, localizada à montante do ponto de coleta do córrego.

Uma outra observação é que com a adição de adubo orgânico (cama de frango) na fase inicial do cultivo, não evidenciou qualquer alteração significativa nas intensidades de fluorescência das regiões de interesse.

Porém, analisando a relação da introdução da ração ao longo do tempo (Figura 06), notou-se que, no mês de jan/18 ocorreu um aumento significativo de oferta, o que certamente pode ter contribuído para o aumento das substâncias proteicas nos viveiros, consequentemente, aumentando a intensidade de fluorescência nas regiões **1** e **1'**. Diante do exposto, foi considerada a necessidade de uma avaliação mais detalhada sobre as emissões possíveis da ração diluída em água.

Portanto, de modo a avaliar a resposta fluorescente dos componentes da ração utilizada, principalmente com relação aos componentes proteicos (triptofano e tirosina), fez-se a diluição da ração com PB 32%, utilizada por mais tempo no ciclo produtivo, em água deionizada. A Figura 18 apresenta a MEE da diluição bruta e filtrada da ração de 5-6mm de diâmetro com PB 32%, ofertada durante a fase de engorda dos peixes. O mapa 3D representa o resultado da solução de menor concentração ($0,4 \text{ g.L}^{-1}$) utilizada, nos quais identificam-se duas regiões dos componentes proteicos: Triptofano em T_1 e T_2 , e Tirosina em B_1 e B_2 .

Figura 18 - Mapa 3D - Matriz de Excitação Emissão da ração extrudada, com PB 32% (5-6mm), diluída em água deionizada

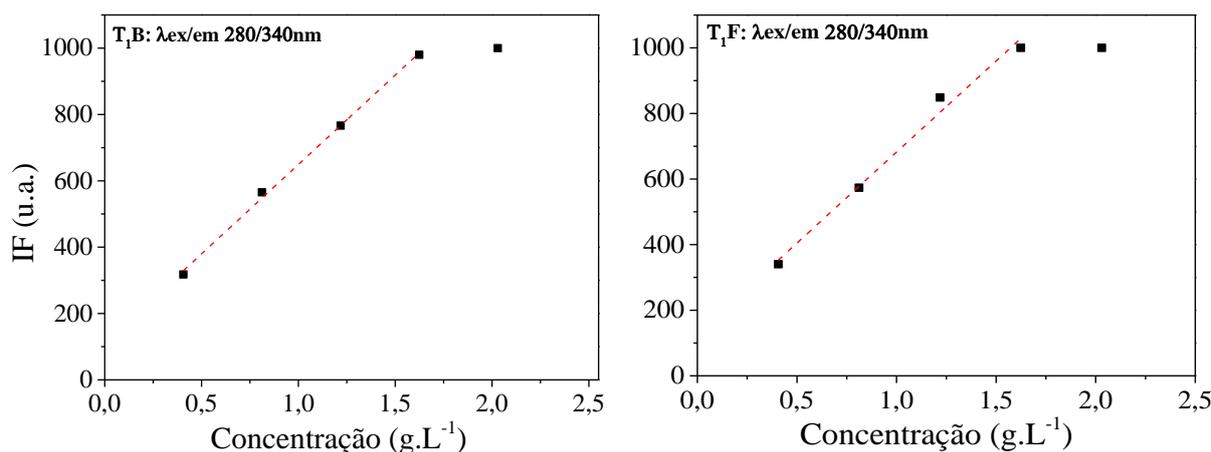


Conforme o mapa 3D de referência (vide Figura 02), observa-se a presença predominante das regiões **1** e **1'** em ambas as amostras de ração, bruta e filtrada (Figura 18). A região **1**, mais intensa, é relacionada a substâncias semelhantes a proteínas do tipo tirosina [20]. Porém, como mencionado anteriormente, Bridgman *et al*, [17] pontua dois pares de comprimentos de onda de excitação e emissão, tanto para a tirosina (B_1 e B_2) quanto para o triptofano (T_1 e T_2). Nitidamente podemos observar a separação dessas regiões nos espectros das rações bruta e filtrada, porém, com maior evidência após filtragem.

Com base nos espectros da ração, podemos inferir que os espectros das águas dos viveiros sofrem influência da ração utilizada, principalmente nas regiões de comprimentos de onda associados aos componentes proteicos, tirosina e triptofano. Figueiró *et al.* [20] mostrou que há uma forte relação da ração na água de sistemas de cultivo de tilápias em tanques lonados, sugerindo ainda, a possibilidade de quantificar a presença de proteína na água através do monitoramento da emissão referente ao triptofano T_1 , mesmo sem a filtragem, apresentando uma intensidade de fluorescência linear em função de sua concentração na água.

A Figura 19 apresenta as respostas das IF em função da concentração de ração na água deionizada para cinco diferentes concentrações variando de 0,4 a 2,03 g.L^{-1} para o triptofano T_1 das amostras diluídas brutas (B) e filtradas (F) em T_1B e T_1F : $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 280/340 nm.

Figura 19 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da proteína do tipo triptofano T_1B e T_1F ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 280/340 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada. A linha pontilhada é um guia para os olhos.



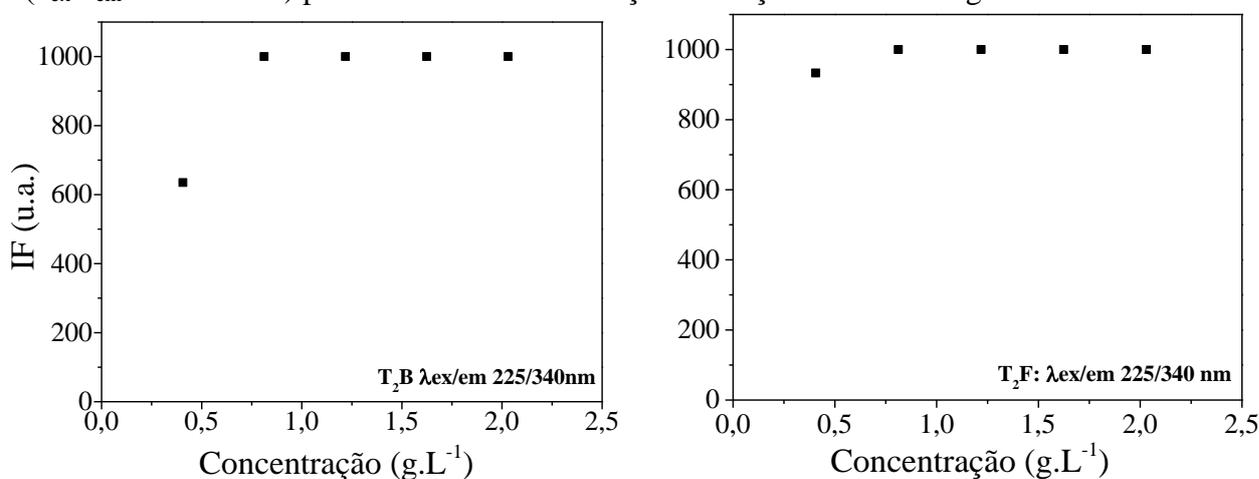
Observa-se a dependência linear da emissão fluorescente para o triptofano T_1B e T_1F ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 280/340 nm) em função da concentração de ração em água deionizada. Mesmo após a filtragem, a dependência permanece linear, com um aumento das intensidades. Sabendo que a ração é o maior contribuinte para a emissão da proteína presente na água dos viveiros, esse resultado indica uma nova possibilidade de quantificar a proteína disponível no meio, estando em perfeito acordo com nosso trabalho prévio realizado em tanques lonados para o cultivo de tilápias [20].

Segundo Hambly *et al.*, [19] a MOD extraída da ração oferecida aos peixes também é caracterizada por uma alta intensidade de fluorescência na região UV, com um pico UVA em $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 280/340 nm, de acordo com o presente trabalho e nosso trabalho prévio [20].

Portanto, podemos dizer que a ração dissolvida na água dos viveiros pode contribuir fortemente com a fluorescência na região do triptofano T_1 , como visto na Figura 18.

Com base O segundo par de emissão para o triptofano foi identificado nos mapas 3D como T_2 , com comprimentos de onda em $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/350 nm. A curva de IF versus concentração de reação foi obtida nas mesmas condições aplicadas para T_1 . Na Figura 20 é possível verificar as respostas das intensidades das diluições brutas e filtradas para o triptofano T_2 em função de diferentes concentrações.

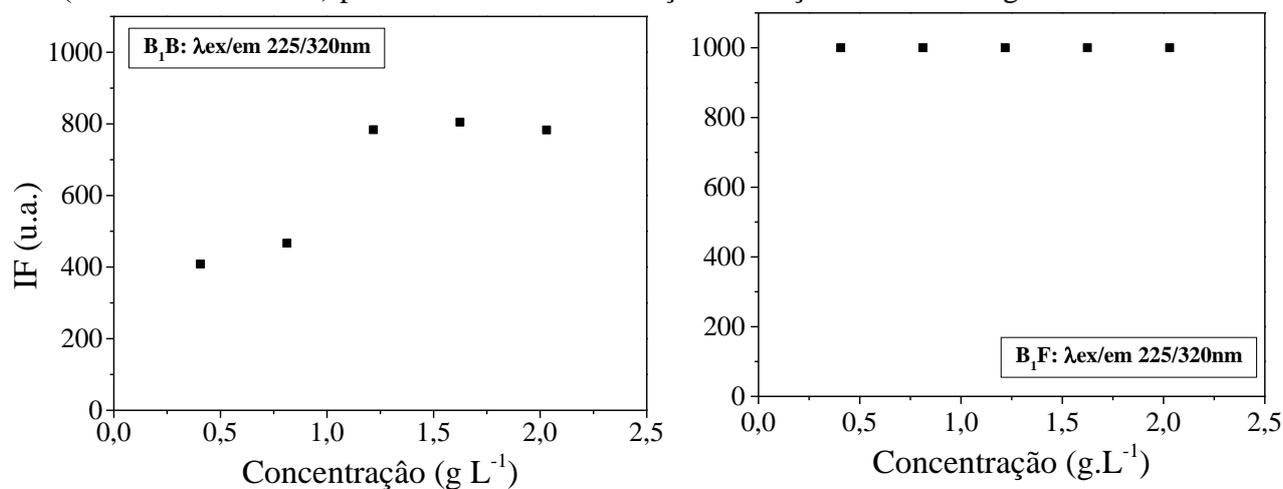
Figura 20 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da proteína do tipo triptofano T_2B e T_2F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/340 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada.



Observa-se na Figura 20 que o comportamento das IFs do triptofano T_2 é visivelmente diferente do tipo T_1 , com o aumento da concentração (g.L^{-1}) da ração na água, a IF satura rapidamente, não apresentando uma resposta linear com a concentração para T_2 . Isso demonstra que, se utilizadas concentrações menores que $0,4 \text{ g.L}^{-1}$, o comportamento da IF T_2 poderia se apresentar linearmente às baixas concentrações. No entanto, com base nesses resultados, o componente T_1 para o triptofano apresenta-se como um melhor indicador para o monitoramento de proteína na água.

No sentido de observar o comportamento das substâncias proteicas do tipo tirosina, B_1 e B_2 detectadas nas amostras da água da piscicultura, são apresentadas nas Figuras 21 e 22 respostas das IF da tirosina, tanto das diluições brutas (B_1B e B_2B) quanto as filtradas (B_1F e B_2F) nos comprimentos de ondas para B_1 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/320 nm e B_2 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/310 nm.

Figura 21 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da proteína do tipo tirosina B₁B e B₁F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/320 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada.

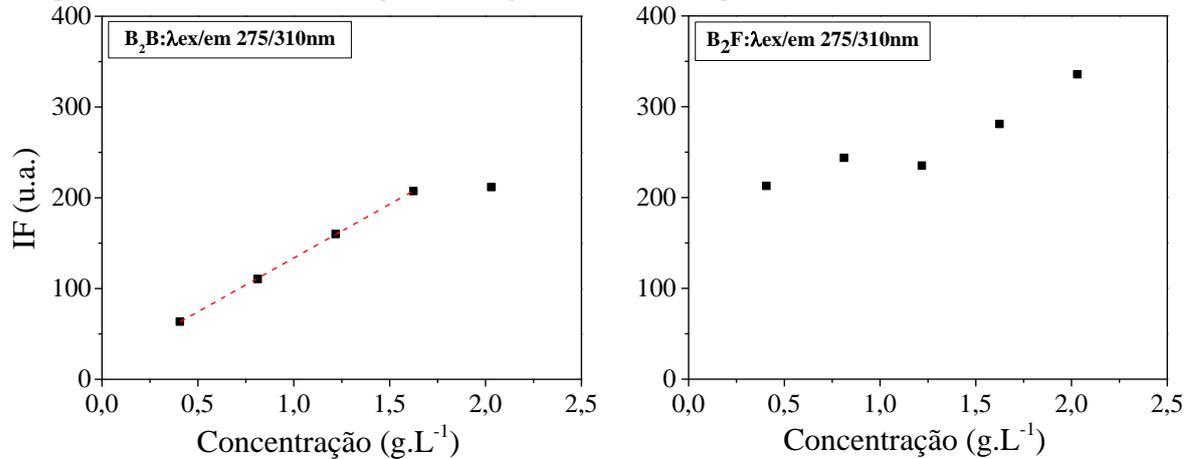


Observa-se que o comportamento da tirosina do tipo B₁B com a concentração não é linear, e B₁F apresenta-se saturado, ou seja, não sendo possível mensurar um valor de concentração em função da IF da tirosina de maneira confiável para essas concentrações e intensidades de fluorescência apresentadas na Figura 21.

A saturação da IF tanto para T₂ (Figura 20) quanto para B₁ (Figura 21) versus concentração (g.L⁻¹) ocorreu devido às elevadas concentrações das diluições propostas e à alta tensão da fotomultiplicadora utilizada para a leitura do espectrofluorímetro. Portanto, nessas condições apresentadas não foram possíveis considerá-las confiáveis e adequadas para o monitorar os componentes proteicos dos tipos T₂ e B₁ na água bruta e filtrada.

A curva construída para o outro par da tirosina, do tipo B₂ está apresentada na Figura 22 como bruta (B₂B) e filtrada (B₂F).

Figura 22 - Resposta da Intensidade de Fluorescência da tirosina B₂B e B₂F ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/310 nm) para diferentes concentrações de ração diluída em água deionizada.

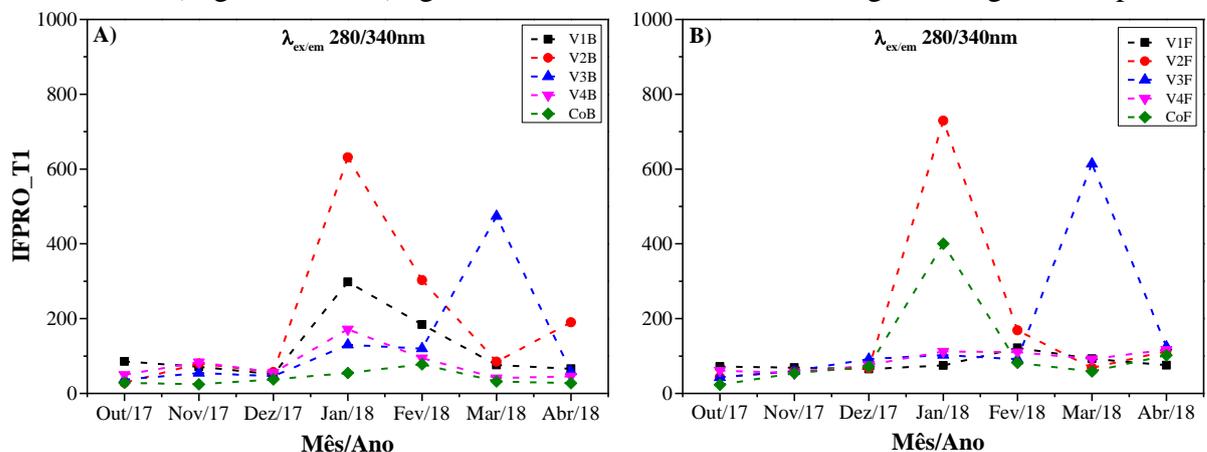


Observou-se na Figura 22 uma tendência mais linear da correlação entre a IF e a concentração da proteína do tipo tirosina B₂B, quando comparada a B₂F. Porém, a tirosina B₂F apresenta-se com uma IF maior do que a B₂B. Portanto, a tirosina B₂ pode ser utilizada como outro indicador de proteína na concentração da água de piscicultura.

Informações detalhadas sobre as regiões de interesse **1**, **1'** e **2** nas amostras de água dos viveiros, seguem apresentadas nos gráficos das intensidades de fluorescência confeccionados nos comprimentos de onda específicos de cada região, de modo a acompanhar a evolução dessas emissões ao longo do ciclo produtivo da piscicultura com cultivo de tilápias.

A Figura 23 A e B apresenta o comportamento da IFPro, triptofano T₁, para amostras de água bruta e filtradas, respectivamente. Os resultados obtidos para os viveiros e córrego são apresentados ao longo do tempo de cultivo.

Figura 23 - Intensidade de Fluorescência de Proteína (IFPro _T₁: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 280/340 nm), das amostras de: A) água bruta e B) água filtrada dos viveiros e do córrego ao longo do tempo.



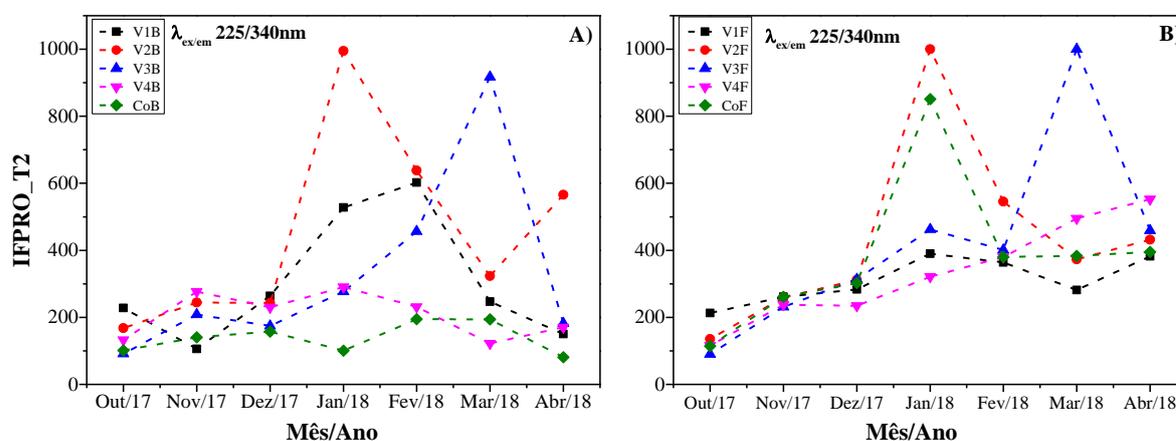
Observando a Figura 23, nota-se que a IFPro_T₁ manteve-se praticamente constante nos primeiros três meses de cultivo, tanto para amostras de águas brutas como filtradas. A partir de jan/18, ocorreram variações na IFPro_T₁, sendo mais intensa em V₂ no mês de jan/18, em concordância para as amostras bruta e filtrada (V₂B e V₂F). Lembrando que a oferta de ração teve um aumento significativo no mês de jan/18 (Figura 06), podemos afirmar que o aumento da IFPro_T₁ em todas as amostras de água bruta (Figura 23 A) se deve a esse fato. Relembrando ainda que, os viveiros 1 e 4 receberam adubação de cama de frango (CF) no primeiro mês de cultivo (out/17), porém nenhuma influência dessa adubação na IFPro_T₁ pode ser observada nas amostras brutas ou filtradas, o que também pode ser observado nos resultados obtidos dos parâmetros físico-químicos.

Outra consideração importante deve ser feita com relação à precipitação nos meses de dez/17 a mar/18, nos quais ocorreram precipitações acima de 200 mm para todo esse período, e naturalmente o material pedogênico do entorno pode ter sido carregado para dentro do córrego, contribuindo para a suspensão de sólidos bem como da matéria orgânica existentes no corpo d'água.

Ademais, no mês de março observa-se um aumento da IFPro_T₁ somente para o viveiro 3 (V₃B e V₃F), enquanto os demais viveiros apresentaram comportamentos semelhantes e com intensidades bem menores de IFPro_T₁, porém, não foi possível fazer correlação dessa variação com a oferta de ração nesse período.

A segunda emissão do triptofano, o T₂ ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/340 nm), é apresentada na Figura 24 A e B, em que as intensidades IFPro_T₂ das amostras das águas brutas e filtradas dos viveiros e do córrego são consideradas ao longo do tempo.

Figura 24 - Intensidade de fluorescência de proteína (IFPro_T₂: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/340 nm), das amostras de A) água bruta e B) água filtrada dos viveiros e do córrego ao longo do tempo.



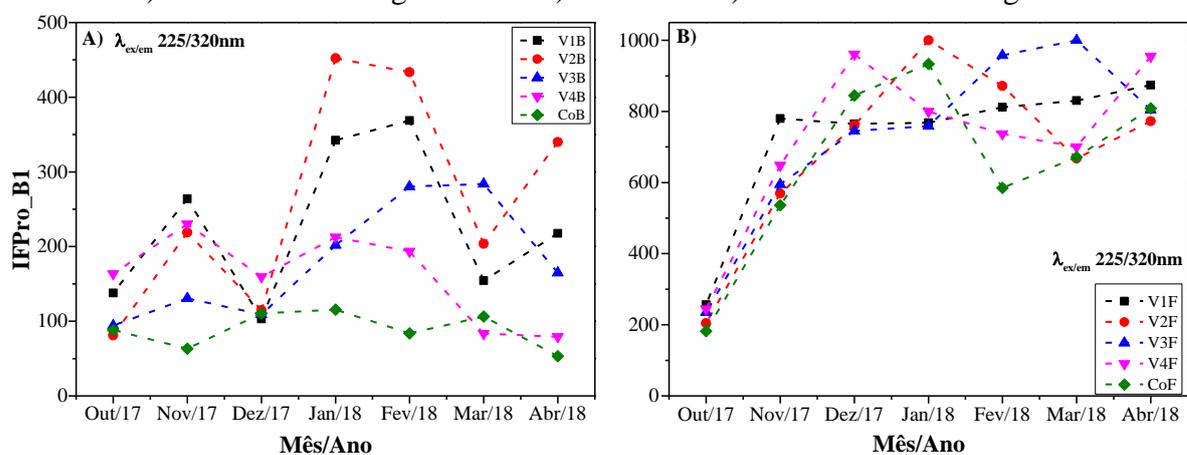
Observa-se que as amostras brutas (IFPro_T₂ A) possuem um comportamento inicial menos intenso em relação aos meses subsequentes a dez/17. Em jan/18, V₁B e V₂B apresentam-se mais intensos com relação aos demais pontos, e V₃B apresenta-se uma maior IFPro_T₂ em mar/18 decaindo em abr/18, ao contrário de V₂B, o qual aumenta ao final do ciclo produtivo.

Já para amostras de água filtrada, as intensidades IFPro_T₂ F apresentam um aumento gradual e mais intenso ao longo dos meses. Em jan/18, V₂F e CoF apresentaram intensidades maiores comparado com outros meses e com relação aos outros pontos. Já em mar/18, V₃F foi destaque com intensidades superiores aos demais meses. No entanto, como visto anteriormente na Figura 20, a resposta da IFPro_T₂ em função da concentração de ração não é linear o que dificulta uma análise confiável, visto que em baixas concentrações sua intensidade satura rapidamente.

Ainda, com o objetivo de apresentar separadamente as regiões relacionadas às substâncias semelhantes à proteína, a Figura 25 A e B mostra as intensidades das substâncias do tipo tirosina, do tipo B₁, com comprimentos de onda específicos em $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/320 nm, para amostras de água brutas e filtradas, respectivamente.

A Figura 25 mostra que a tendência das intensidades de fluorescência das amostras brutas IFPro_B₁ A) dos viveiros e córrego ao longo do tempo se apresentam menores em relação às intensidades IFPro_B₁ B). Observa-se que as amostras filtradas IFPro_B₁, para todos os pontos coletados, apresentaram um comportamento similar e crescente a partir de nov/17, mantendo-se crescente em V₂F, V₃F, V₄F e CoF, enquanto V₁F se apresentou mais constante ao longo do tempo. Isso demonstra que o componente do tipo tirosina B₁ foi encontrado nas amostras de água brutas e filtradas, sendo mais evidente após o processo de filtragem.

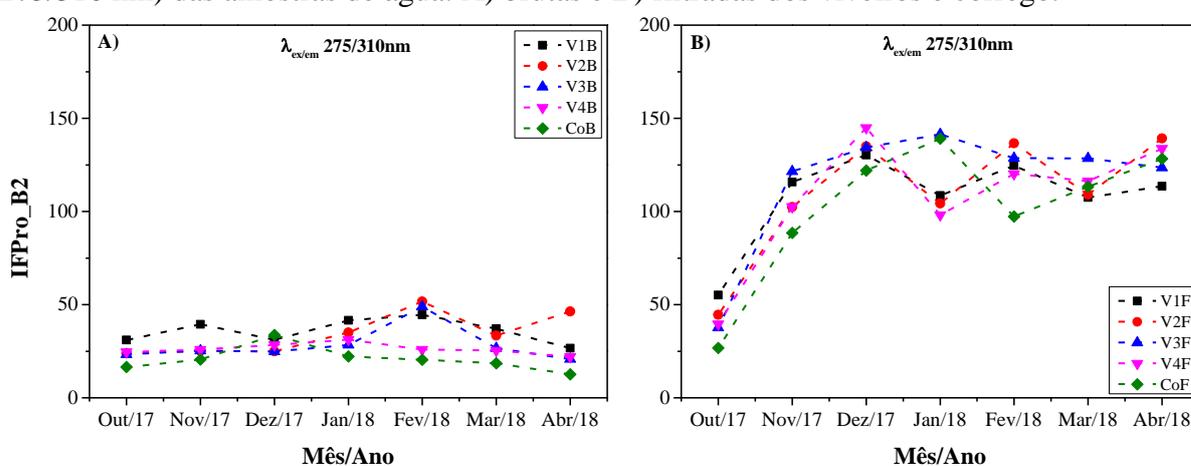
Figura 25 - Intensidade de fluorescência da proteína (IFPro), do tipo tirosina B₁ ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 225/320 nm) das amostras de água brutas A) e filtradas B) dos viveiros e córrego.



Observa-se ainda, na Figura 25 IFPro_B₁ (A), que ao longo do tempo, o comportamento das intensidades de fluorescência das amostras brutas possui maior flutuação se comparada às amostras filtradas (IPro_B1 (B)), porém, com intensidade menor do que as observadas nas amostras filtradas.

Ainda com relação à proteína do tipo tirosina, a Figura 26 A e B apresenta o comportamento de sua intensidade de fluorescência, IFPro_B₂ das amostras brutas e filtradas respectivamente, nos viveiros e córrego ao longo do tempo.

Figura 26 - Intensidade de fluorescência da proteína (IFPro), do tipo tirosina B₂ ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 275/310 nm) das amostras de água: A) brutas e B) filtradas dos viveiros e córrego.

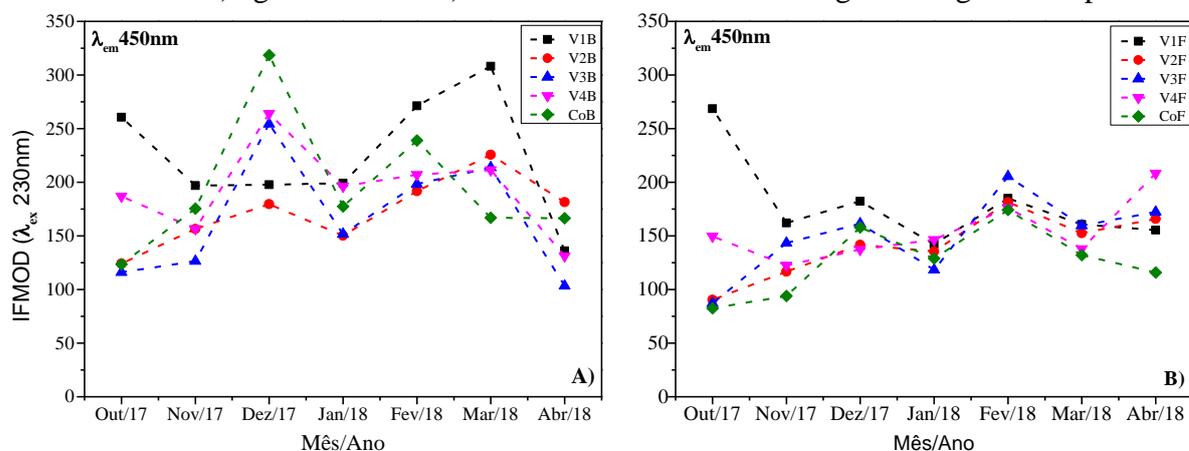


Pode-se observar que o componente B₂, associado à tirosina, apresenta-se com sinal de fluorescência bem menos intenso quando comparado ao B₁. No entanto, como visto anteriormente na Figura 25, a resposta da IFPro_B₁ em função da concentração de ração não é linear o que dificulta uma análise confiável, nas condições apresentadas.

Porém, é possível notar que as amostras filtradas (Figura 26 B) apresentam-se mais intensas do que as intensidades de fluorescência das amostras brutas (Figura 26 A), principalmente a partir de nov/17 até abr/18.

A seguir, a Figura 27 mostra as intensidades de fluorescência da matéria orgânica dissolvida (IFMOD), para os comprimentos de onda relacionados a região (2): $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 230/450 nm, encontradas nas águas brutas e filtradas dos viveiros e no córrego ao longo do tempo.

Figura 27 - Intensidades de fluorescência da IFMOD (região (2): $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 230/450 nm), observados das A) águas brutas e B) filtradas dos viveiros e córrego ao longo do tempo.



Conforme Carstea [13] a IFMOD apresentada na Figura 27 está relacionada às substâncias húmicas, que podem ser provenientes das fontes externas (adubos orgânicos, ração, solo, etc), e fontes internas, como as atividades biológicas através dos organismos existentes nesses sistemas (excretas, decomposição de plantas e microrganismos aquáticos), contribuindo para o enriquecimento da água do viveiro [46,63].

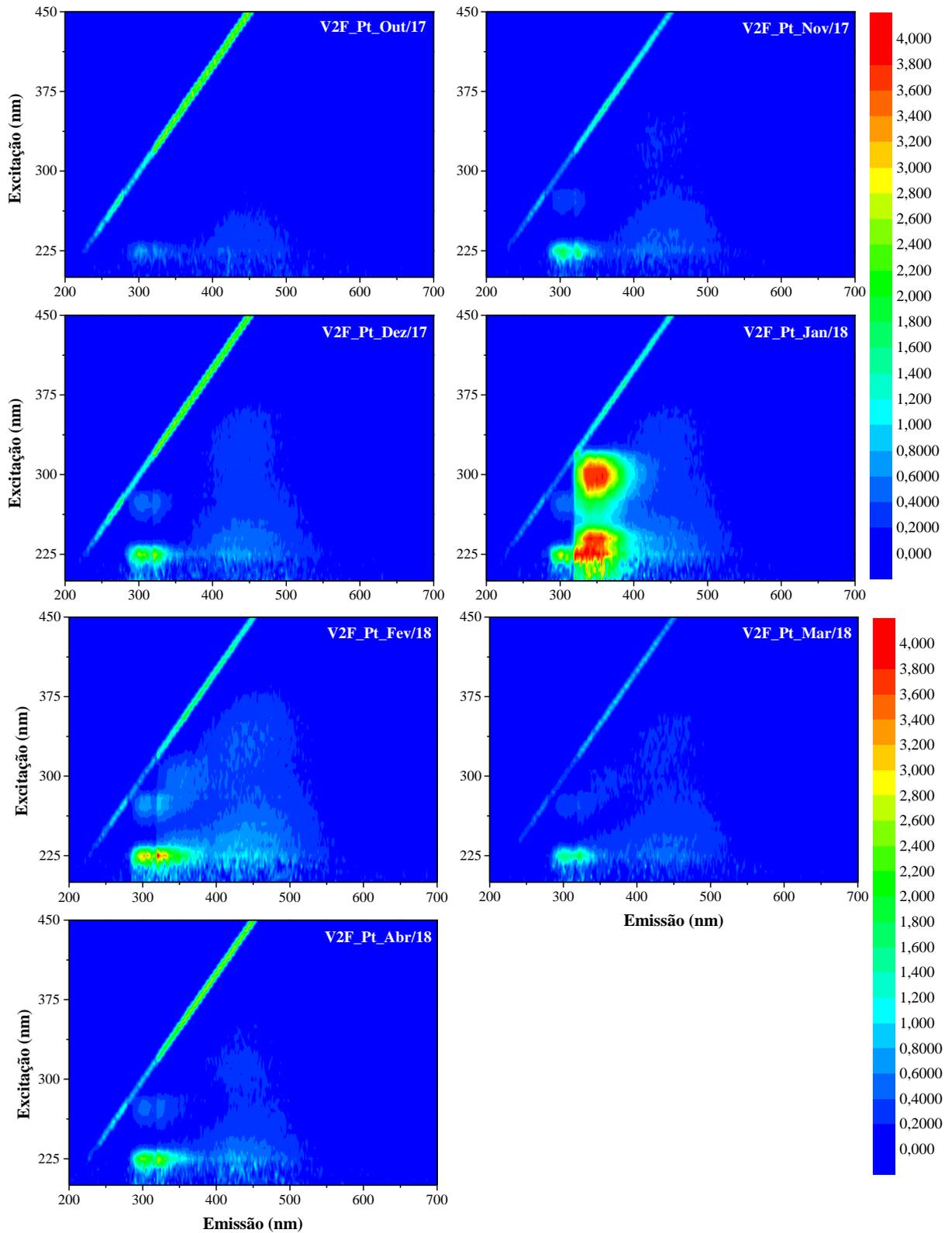
Em geral, é notável que as maiores IFMOD estão relacionadas às amostras brutas (Figura 27 A) quando comparadas às filtradas (Figura 27 B). Em dez/17 observa-se um aumento da IFMOD em V₃B, V₄B e CoB. A maior IFMOD nas amostras brutas foi observada em mar/18 para V₁B. Porém, as amostras filtradas apresentaram intensidades semelhantes entre si ao longo de todo o ciclo produtivo, tanto para os viveiros como para o córrego.

4.3.1 Espectroscopia de Fluorescência: Espectros Pós-Tratamento

O pós-tratamento aplicado à matriz (MEE) da Figura 28 teve a finalidade de apresentar uma MEE através do programa chamado FEEMC 2.0. Esse programa gera uma nova matriz (MEE) com as mesmas dimensões da original (ver Figura 15). Os valores dos comprimentos de onda do UVVis (por ex. X₁ até X_n) são multiplicados um de cada vez pelo valor do Raman do espectro da água deionizada (área sobre a curva de λ_{em} 380 a 410 nm e λ_{ex} 350 nm) e o valor de COD utilizados para fazer uma normalização [13,22,66].

A Figura 28 apresenta gráficos 3D da água filtrada pós-tratamento (Pt) para o Viveiro 2 (V2F_Pt) realizado pelo programa FEEMC 2.0.

Figura 28 - Gráficos 3D - Matriz de Excitação-Emissão, Viveiro 2 pós-tratamento (Pt), amostras filtradas (V₂F_Pt), entre os meses de out/17 e abr/18.

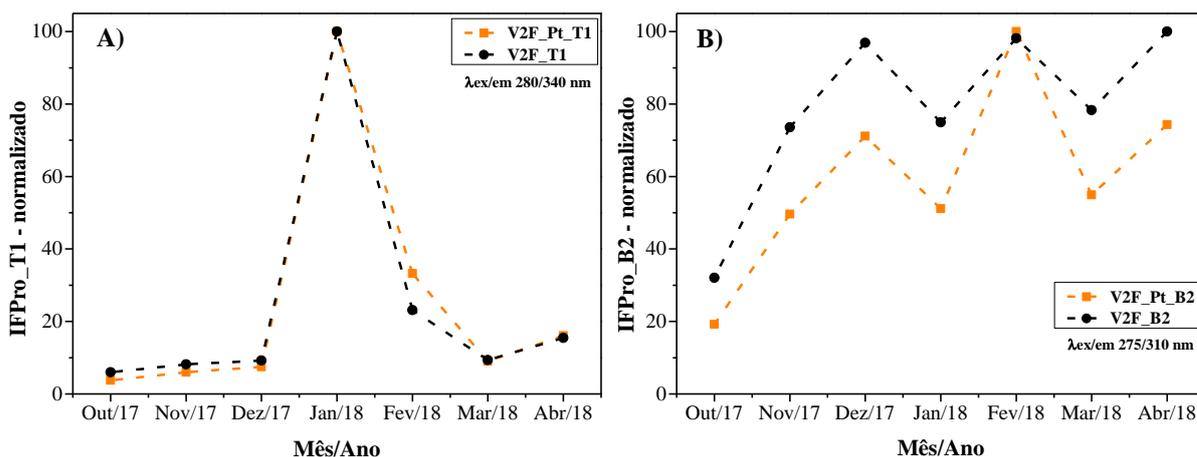


O pós-tratamento somente foi aplicado às amostras de água filtradas que permitiram uma distinção melhor dos componentes de interesse (ver seção 4.3).

Observando a Figura 28 nota-se uma diminuição nas intensidades de fluorescência quando comparadas aos dados obtidos para o V₂F (Figura 15). O pós-tratamento aplicado às MEE's das amostras filtradas não trouxe alterações significativas. Sendo obtida uma melhor distinção entre os componentes proteicos de interesse nas MEE's nas amostras filtradas.

A título de comparação, o comportamento da IFPro, considerando somente os compostos T₁ e B₂, pois são os que apresentam uma dependência linear entre IF e concentração, estão mostrados em um gráfico normalizado na Figura 29 para as amostras de água filtrada e pós-tratamento.

Figura 29 - Comportamento das intensidade da Proteína (IFPro) do Viveiro 2 (V₂): A) triptofano (T₁) filtrada (V₂F_T₁) e filtrada pós tratamento (V₂F_Pt_T₁) e B) tirosina (B₂) filtrada (V₂F_B₂) e filtrada pós tratamento (V₂F_Pt_B₂).



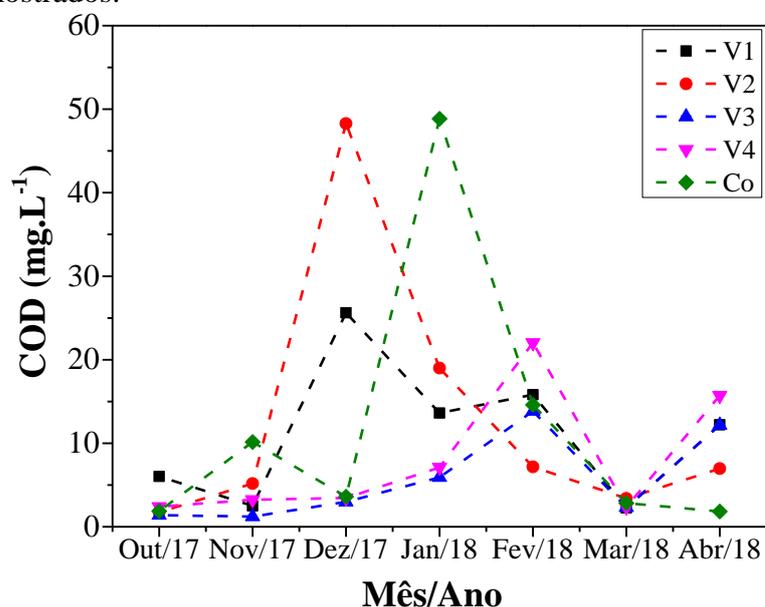
Observa-se na Figura 29 A o comportamento entre as intensidades de fluorescência das substâncias proteicas do tipo triptofano (IFPro_T₁) da amostra de água previamente filtrada do viveiro 2 (V₂F_T₁) e da mesma amostra filtrada, porém com pós-tratamento (V₂F_Pt_T₁), onde nota-se um comportamento semelhante. Já a Figura 29 B apresenta o comportamento da intensidade de fluorescência das substâncias proteicas do tipo tirosina (IFPro_B₂) da mesma amostra, e observa-se alteração quanto às intensidades, onde o V₂F_B₂ apresenta-se com as intensidades mais altas, porém, segue o mesmo comportamento da V₂F_Pt_B₂.

Portanto, nota-se que as informações obtidas apenas pela filtragem foram suficientes para interpretar os dados com base na literatura pesquisada, já que o intuito da análise foi de comparar a MEE das amostras filtradas com a MEE pós tratamento das mesmas amostras, e assim obter uma avaliação real dos componentes em questão.

4.4 Determinação do Carbono Orgânico Dissolvido – COD

Com base na abordagem metodológica de diversos trabalhos avaliados, esse estudo adotou a determinação das concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD) (mg.L^{-1}) ao longo do tempo, para correção dos espectros de fluorescência e para uma estimativa da origem da matéria orgânica por meio da absorção no UV-Vis, que serão apresentados nas seções subsequentes. Os valores obtidos da variação sazonal nas concentrações de COD são apresentados na Figura 30.

Figura 30 - Variação sazonal nas concentrações de COD para os Viveiros (V₁, V₂, V₃ e V₄) e Córrego (Co) amostrados.



As maiores concentrações de COD foram encontradas nos viveiros V₁ ($25,6 \text{ mg.L}^{-1}$) e V₂ ($48,3 \text{ mg.L}^{-1}$) em dez/17 e para o córrego ($48,9 \text{ mg.L}^{-1}$) em jan/18. Já para os viveiros V₃ e V₄ as concentrações de COD foram gradativamente crescentes até o mês de fev/18 atingindo valores máximos de $13,8 \text{ mg.L}^{-1}$ e $22,0 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente.

No caso da piscicultura, a determinação das concentrações de COD ainda é bastante incipiente e necessita de mais estudos para uma interpretação com relação a valores. No entanto, a título de comparação observamos que Kramer *et al.* [14] na análise COD da água de cinco rios impactados, que recebiam efluentes da região Metropolitana de Curitiba, obteve resultados semelhantes à água dos viveiros em questão, o que se justifica, visto que os viveiros apresentam-se como um ambiente bastante enriquecido de matéria orgânica dissolvida, proveniente dos alimentos ofertados, não consumidos pelos peixes, e da morte e excretas dos diversos organismos existentes [20].

Azevedo *et al.* [44], demonstram em seus estudos que valores de COD abaixo de 4,0 mg.L⁻¹ implicam na predominância de MOD autóctone e, à medida que esses valores aumentam (acima de 4,0 mg.L⁻¹), ocorre uma maior proporção alóctone, considerando sistemas de rio-planícies de inundação, que sofrem a influência dos pulsos hidrológicos. Conforme Nguyen *et al.* [35], nos eventos de intensas precipitações ocorre um aumento considerável nas concentrações de COD, como também foi observado por Kramer *et al.* [14]. Considerando o exposto, assume-se que, a fonte de COD nos viveiros estudados pode ser considerada predominantemente autóctone para V₃ e V₄.

Já para os viveiros V₁ e V₂ observa-se alguns meses com valor COD compatível com fontes alóctones, podendo estar relacionada a uma maior oferta de ração e período de precipitação intensa. No caso do córrego ocorre a predominância do COD autóctone com alguns meses alóctones devido a influência de precipitação e da descarga de efluentes de piscicultura a montante.

4.5 Espectroscopia Ultravioleta Visível - UV-Vis

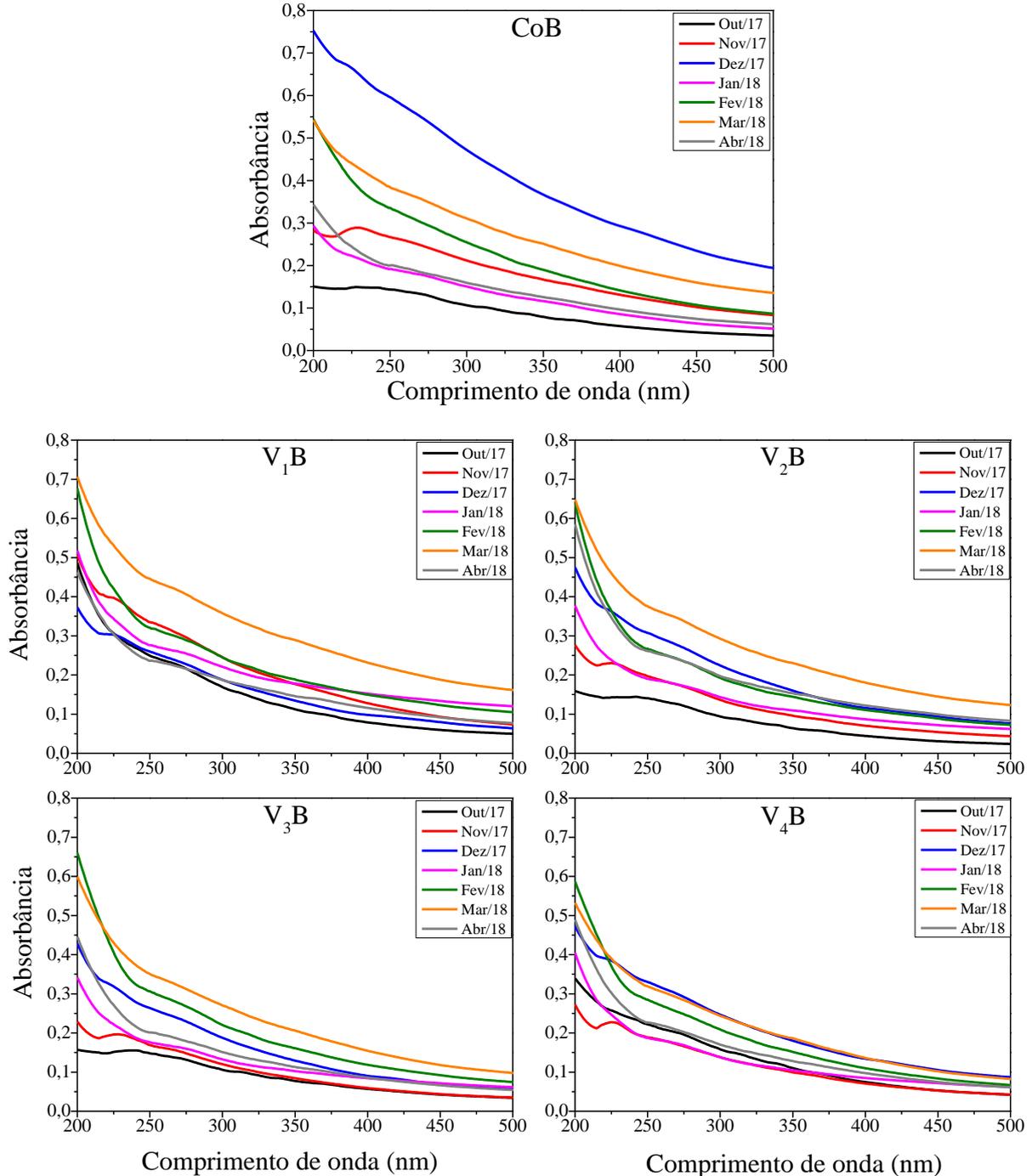
A técnica de espectroscopia de absorção no UV-Vis se apresenta como uma ferramenta cada vez mais utilizada em diversos ambientes aquáticos para identificar a fonte da matéria orgânica, permitindo também determinar se a principal fonte do COD é de origem autóctone ou alóctone [10,12,14,20,30,44].

Um dos principais interferentes nas medidas de absorção na região do UV-Vis em água são as partículas dissolvidas em suspensão, as quais estão presentes e dispersas na coluna d'água que podem dificultar a análise com relação aos componentes de interesse [8,20]. Em linhas gerais, ambientes aquáticos podem ser colonizados ao longo do tempo por organismos aquáticos presentes no meio, bem como outros componentes que contribuem para o aumento dos sólidos no ambiente [4,46].

A Figura 31 apresenta as absorbâncias no UV-Vis de todas as amostras de água brutas do córrego e viveiros ao longo do tempo (out/17 a abr/18). Observa-se que a absorção para todos os viveiros se inicia acima do valor zero (0,0), assumindo que ocorreu o espalhamento da luz pela amostra de água bruta, diminuindo assim sua transmitância devido aos sólidos dissolvidos em suspensão.

A Figura 31 apresenta as absorbâncias no UV-Vis de todas as amostras de água bruta nos viveiros (V₁B, V₂B, V₃B, V₄B) e córrego (CoB) ao longo de um ciclo produtivo.

Figura 31 - Absorbância no UV-Vis das amostras brutas do córrego (CoB) e dos Viveiros (V₁B, V₂B, V₃B, V₄B) e ao longo do ciclo produtivo.



A primeira coleta foi realizada no mês de out/17 e observando que a presença de sólidos dissolvidos na água apresenta valores de absorbância acima de zero na região do UV, encontrado em todos os pontos analisados, conforme a Figura 31.

Para o córrego (CoB), no mês de dez/17, houve um aumento da absorbância, comparado aos outros meses, sendo este o mês em que ocorreu a maior precipitação (264 mm).

Já nos viveiros (V₁B, V₂B, V₃B, V₄B) essa interferência não foi significativa, visto que a água dos viveiros se encontrava no início do processo de colonização dos organismos aquáticos.

À medida que os viveiros são colonizados pelos organismos aquáticos, bem como por outros componentes que contribuem para o aumento de sólidos dissolvidos nesses ambientes [4] observa-se um aumento na absorvância com relação ao início do cultivo, apresentando uma máxima absorvância em mar/18 para todos os viveiros. Em concordância, os espectros de fluorescência também mostraram um aumento na intensidade de fluorescência da MOD, região (2), podendo relacionar-se ao aporte de compostos orgânicos de fontes alóctones e/ou autóctones [14,29].

Segundo Korshin *et al.* [31], as substâncias inorgânicas presentes nas águas naturais não absorvem a luz significativamente em comprimentos de onda menor ou igual a 230 nm. Adicionalmente, com base em vários estudos, a absorvância em 254 nm está relacionada ao compostos orgânicos ricos em anéis aromáticos [9-15,17-19,29-32], como substâncias húmicas [10,11,14,15,30,44].

A Tabela 09 apresenta os valores de absorção em 254 nm (Abs₂₅₄) para as amostras brutas do córrego (CoB) e viveiros (V₁B, V₂B, V₃B, V₄B). Os valores de erro apresentados são resultado de cálculos de desvio padrão nas medidas realizadas em triplicatas.

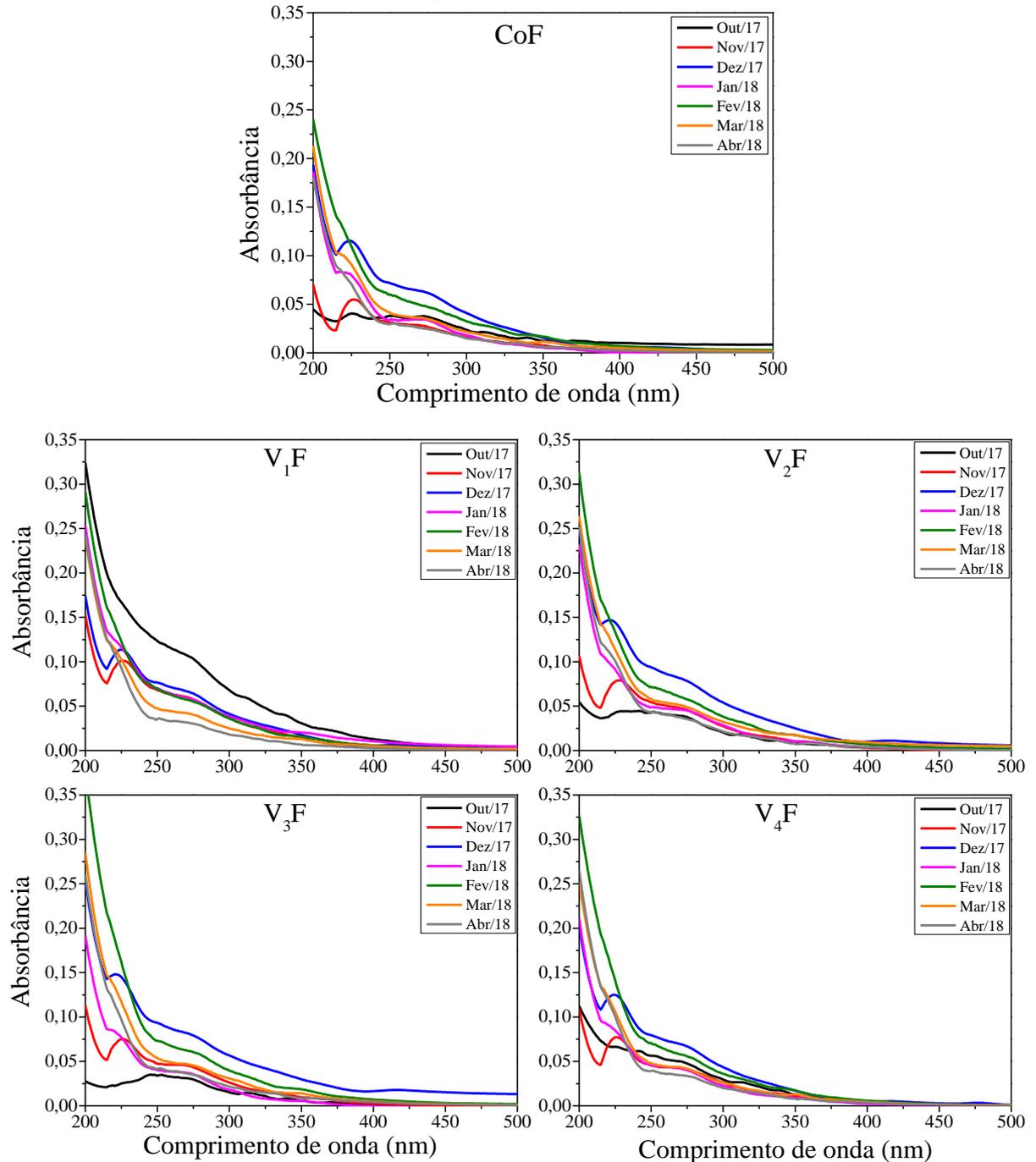
Tabela 09 - Valores de absorvância em λ_{abs} 254 nm (Abs₂₅₄) para amostras brutas.

Pontos Mês/ano	CoB	V₁B	V₂B	V₃B	V₄B
Out/17	0,142±0,004	0,244±0,001	0,138±0,004	0,146±0,001	0,218±0,002
Nov/17	0,264±0,003	0,331±0,003	0,193±0,002	0,165±0,001	0,186±0,003
Dez/17	0,587±0,002	0,255±0,001	0,302±0,002	0,258±0,001	0,324±0,001
Jan/18	0,190±0,002	0,273±0,003	0,188±0,003	0,174±0,001	0,18±0,01
Fev/18	0,329±0,004	0,317±0,002	0,262±0,004	0,299±0,003	0,278±0,001
Mar/18	0,379±0,002	0,439±0,001	0,3682±0,0003	0,344±0,006	0,313±0,003
Abr/18	0,199±0,001	0,235±0,002	0,26±0,01	0,200±0,002	0,224±0,004

Os maiores valores de Abs₂₅₄ são observados para as amostras brutas, principalmente no mês de dez/17 (0,587±0,002) para a água do córrego. Conforme resultados de Azevedo *et al* [44] valores de Abs₂₅₄ menores do que 2,0 indicam predominância de COD autóctone, o que foi observado para todos os viveiros e córrego.

A Figura 32 apresenta as absorbâncias das amostras filtradas para o córrego (CoF) e viveiros (V_1F , V_2F , V_3F e V_4F) ao longo do tempo.

Figura 32 - Absorbância no UV-Vis das amostras filtradas do córrego (CoF) e dos Viveiros (V_1F , V_2F , V_3F , V_4F) e ao longo do tempo.



De maneira geral, a absorbância das amostras diminui após filtragem, quando comparadas às amostras brutas da Figura 31. No entanto, evidenciam-se bandas de absorção nos comprimentos de onda menores que 300 nm, os quais não puderam ser notadas nos espectros das amostras brutas.

Somente o viveiro 1 (V₁F) apresentou uma absorvância maior no mês de out/17 (início do cultivo) com relação aos demais meses, quando comparado aos outros viveiros, e que pode estar associado à adubação com cama de frango (CF). O mesmo não ocorre para V₄F, que também recebeu CF, mas a absorvância nesse mesmo mês (out/17) apresentou-se maior quando comparado aos viveiros 2 e 3.

A seguir, na Tabela 10 são apresentados os valores de absorvância (Abs₂₅₄) para as amostras filtradas do córrego (CoF) e viveiros (V₁F, V₂F, V₃F, V₄F) ao longo do tempo.

Tabela 10 - Valores de absorvância em $\lambda_{\text{abs}} 254\text{nm}$ (Abs₂₅₄) para amostras filtradas.

Pontos	CoF	V₁F	V₂F	V₃F	V₄F
Mês/ano					
Out/17	0,038±0,001	0,120±0,002	0,043±0,002	0,035±0,003	0,056±0,003
Nov/17	0,030±0,002	0,066±0,001	0,052±0,001	0,047±0,002	0,044±0,001
Dez/17	0,070±0,001	0,0746±0,0004	0,091±0,001	0,091±0,001	0,077±0,001
Jan/18	0,034±0,002	0,067±0,003	0,049±0,002	0,040±0,001	0,045±0,001
Fev/18	0,058±0,001	0,066±0,003	0,070±0,001	0,071±0,002	0,068±0,001
Mar/18	0,039±0,001	0,0458 ±0,0002	0,056±0,002	0,051±0,001	0,046±0,001
Abr/18	0,030±0,001	0,035±0,002	0,040±0,0004	0,0413±0,0004	0,038±0,002

Para amostras filtradas observa-se uma diminuição nas absorvâncias em 254 nm ao longo do tempo em comparação aos valores obtidos para amostras brutas. No viveiro V₁F, no mês de out/17, observamos a absorvância mais elevada em relação aos outros meses, podendo estar relacionado à introdução de cama de frango para adubação.

Uma análise complementar pode ser feita por meio de cálculo do parâmetro SUVA₂₅₄, sendo obtido pela absorvância específica no UV-Vis em 254 nm, dividido pela concentração de COD (mg/L) e o caminho ótico (tamanho da cubeta em m) [40]. Este parâmetro está associado à origem da MOD [72] e representa a origem e aromaticidade da MOD em diversos ambientes aquáticos naturais ou antropizados, como águas superficiais, subterrâneas, águas marinhas [11,12,30,32,35.]

A Tabela 11 apresenta os valores médios da absorvância SUVA₂₅₄ e seus respectivos erros calculados a partir da teoria de propagação de erro para amostras filtradas ao longo do tempo.

Tabela 11 - Resultados dos valores médios de $SUVA_{254}$ ($L.mg^{-1}.m^{-1}$) dos pontos coletados ao longo do tempo.

Pontos	CoF	V₁F	V₂F	V₃F	V₄F
Mês/ano					
Out/17	2,02 ± 0,02	1,99 ± 0,02	2,46 ± 0,03	2,47 ± 0,02	2,32 ± 0,02
Nov/17	0,295 ± 0,003	2,62 ± 0,03	1,01 ± 0,01	3,83 ± 0,03	1,36 ± 0,01
Dez/17	1,94 ± 0,02	0,291 ± 0,003	0,188 ± 0,002	3,04 ± 0,02	2,24 ± 0,02
Jan/18	0,069 ± 0,001	0,49 ± 0,01	0,256 ± 0,003	0,67 ± 0,01	0,64 ± 0,01
Fev/18	0,399 ± 0,004	0,418 ± 0,004	0,97 ± 0,01	0,515 ± 0,005	0,308 ± 0,003
Mar/18	1,38 ± 0,01	2,02 ± 0,02	1,65 ± 0,02	2,20 ± 0,02	1,96 ± 0,02
Abr/18	1,66 ± 0,03	0,288 ± 0,003	0,62 ± 0,01	0,339 ± 0,003	0,244 ± 0,002

Analisando os resultados obtidos, apresentados na Tabela 11, todos os pontos, na maioria dos meses, mostraram os valores de $SUVA_{254}$ abaixo de $3,0 L.mg^{-1}.m^{-1}$. Conforme Matilainen, *et al.* [73] esses valores indicam substâncias da MOD mais hidrofílicas, e valores próximos a $1,2 L.mg^{-1}.m^{-1}$ caracterizam-se pela presença de fontes autóctones e/ou atividades de decomposição biológica [72].

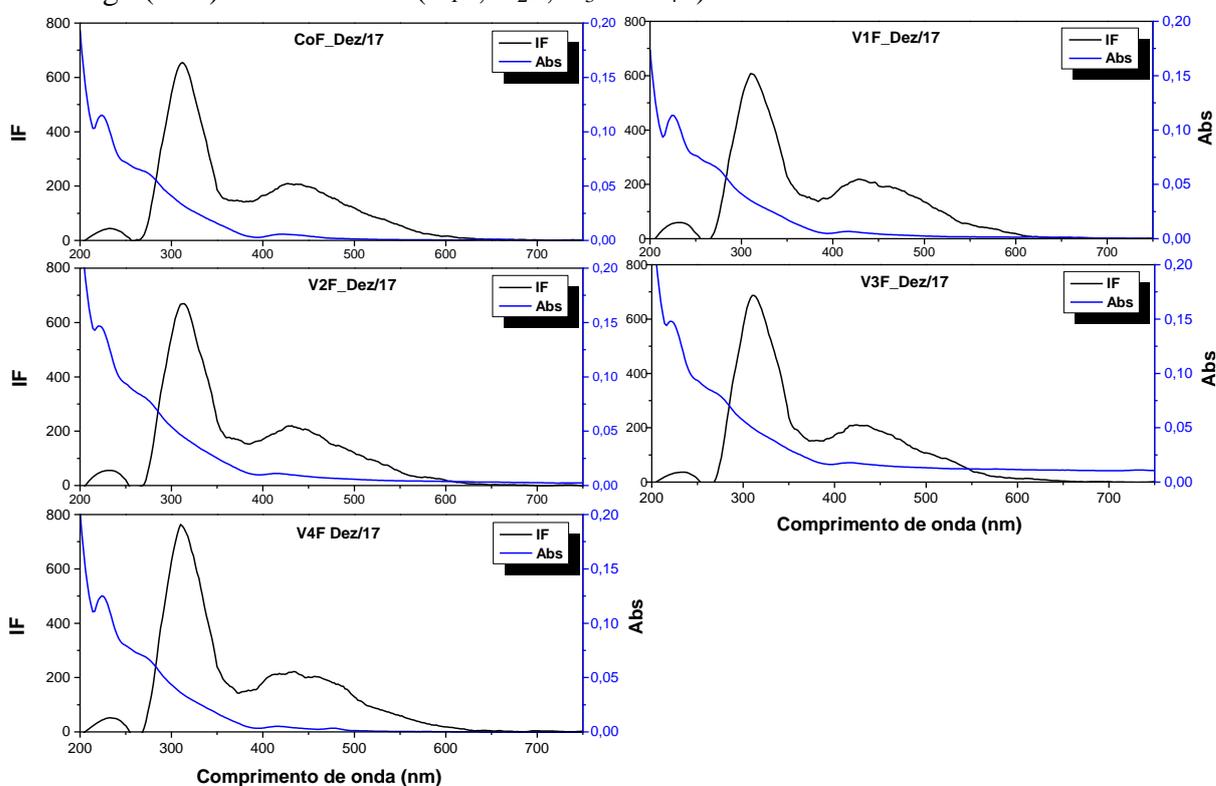
Observa-se que no mês de out/17 e mar/18 para todos os pontos, os valores se apresentam entre 1,2 e $3,0 L.mg^{-1}.m^{-1}$. Com o aumento do $SUVA_{254}$ próximos a $1,8 L.mg^{-1}.m^{-1}$ sugere-se que, os viveiros tem a presença de substâncias de fontes autóctones, com atividades de decomposição biológica, pois a medida que se processa essa decomposição, há o consumo de uma fração mais lábil da MOD [72]. No mês de nov/17 todos os viveiros apresentaram valores próximos a 1,2 e $1,8 L.mg^{-1}.m^{-1}$.

Em sistemas de piscicultura, ainda não existem dados de $SUVA_{254}$ na literatura que possam ser utilizados como referência. Nesse sentido, sabendo da escassez de trabalhos de fluorescência ou mesmo absorvância no UV-Vis, várias tentativas foram feitas na intenção de correlacionar os parâmetros físico-químicos convencionais tanto com a fluorescência quanto com a absorvância, porém não foi possível observar uma relação de proporcionalidade entre eles, sendo necessária a aplicação de análise estatística.

A intensidade dos picos observados nos espectros de excitação é diretamente proporcional ao número de fótons absorvidos. Por outro lado, a espectroscopia de absorção, geralmente se mede a absorbância, sendo o log (base 10) da intensidade da luz incidente sobre a intensidade da luz transmitida.

Sendo assim, para melhor interpretar as análises espectroscópicas entre si, a Figura 33 apresenta gráficos da intensidade de fluorescência (IF) e absorbância (Abs) no comprimento de onda de excitação λ_{ex} 225 nm, do mês de Dez/17 da água filtrada do córrego (CoF) e dos viveiros (V₁F, V₂F, V₃F e V₄F).

Figura 33 – Gráficos da Intensidade de Fluorescência (IF) e Absorbância (Abs) da água filtrada do córrego (CoF) e dos viveiros (V₁F, V₂F, V₃F e V₄F) do mês de Dez/17.



Conforme a Figura 33, observam-se picos aparentes no espectro de excitação (IF), os quais não possuem as mesmas intensidades relativas que os picos no espectro de absorção (Abs), embora eles apareçam nos mesmos comprimentos de onda. O processo de filtragem, assim como uma diluição, reduz a concentração de alguns compostos presentes na amostra, e por esse motivo, o espectro de excitação pode se apresentar com intensidades muito maiores do que os espectros de absorção. Ainda é importante ressaltar que a intensidade dos picos no espectro de excitação é diretamente proporcional ao número de fótons absorvidos, enquanto a intensidade do espectro de absorção (A), usualmente medido no modo de absorbância, pode ser representado pelo log da intensidade da luz incidente (I_0) sobre a luz transmitida (I), ou seja

$A = \log \frac{P_0}{P}$. Por isso, os picos nos espectros de excitação e absorção não necessariamente apresentam as mesmas intensidades.

Diante do exposto, podemos dizer que, as análises espectroscópicas trazem informações adicionais aos parâmetros convencionais da água dos viveiros de piscicultura, permitindo o monitoramento dos componentes proteicos, principalmente com relação à quantificação de triptofano (T_1) na água conforme observado na Figura 19.

Capítulo 5

Conclusão

5 CONCLUSÃO

Os resultados das análises físico-químicas da água dos quatro viveiros mostraram que praticamente todos os parâmetros, analisados em campo, estiveram dentro do recomendado para o cultivo de tilápia (*Oreochromis niloticus*) ao longo de um ciclo produtivo, com exceção do parâmetro OD. O aumento significativo na oferta de ração no mês de jan/18, em todos os viveiros, sendo quase o dobro da quantidade oferecida no mês de dez/17, pode ter contribuído para um aumento da matéria orgânica, promovendo a depleção da concentração de OD na água, principalmente nos viveiros menores, V₃ e V₄, mesmo com uma alta taxa de renovação da água. Além disso, não foram observadas alterações significativas nos parâmetros físico-químicos da água dos viveiros V₁ e V₄, em relação a adição de cama de frango para adubação.

Mapas 3D, obtidos por espectroscopia de fluorescência, mostraram a influência tanto de componentes proteicos (regiões 1 e 1') como de matéria orgânica dissolvida (regiões 2 e 2') nas águas dos viveiros. O processo de filtragem permitiu uma separação mais efetiva das regiões de interesse, principalmente no que tange a componentes proteicos predominantemente advindos da ração fornecida diariamente. Também não foi observada alteração significativa nos espectros dos viveiros V₁ e V₄, após adubação com cama de frango. Espectros de fluorescência, a partir da diluição da ração em água deionizada, permitiram observar uma contribuição predominante de componentes proteicos, basicamente, tirosina e triptofano. Dois pares de comprimentos de ondas puderam ser observados tanto para a tirosina (B₁ e B₂), quanto para o triptofano (T₁ e T₂), em amostras filtradas. Observou-se também que uma relação entre as intensidades de fluorescência da tirosina sendo B₁>B₂ e para o triptofano T₂ > T₁. A emissão específica do triptofano T₁ mostrou-se linear em função da concentração na água, permitindo uma avaliação mais confiável dos espectros dos viveiros ao longo do tempo. O pós-tratamento aplicado aos espectros de fluorescência não trouxe alteração significativa na interpretação dos resultados obtidos para o viveiro 2.

Valores de absorvância em 254 nm, Abs₂₅₄, obtidos pela espectroscopia de absorção no UV-Vis, mostraram que o ambiente possui, em síntese, a predominância do COD autóctone, ou seja, formado a partir de processos internos dos viveiros, podendo ser relacionado com a matéria orgânica pedogênica, bem como com a decomposição de microrganismos e microalgas.

De maneira geral, os espectros de fluorescência permitem uma avaliação quantitativa de componentes proteicos, enquanto a técnica de absorção no UV-Vis pode trazer informações adicionais sobre a origem da matéria orgânica presente no meio, o que é de grande interesse na avaliação de efluentes da piscicultura. Assim, vemos que a aplicação de técnicas

espectroscópicas complementarmente aos parâmetros físico-químicos apresentam grande potencial para avaliação da qualidade de água em pisciculturas.

Capítulo 6

Trabalhos Futuros

6 PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Esta tese de doutorado apresenta pela primeira vez a aplicação das técnicas de espectroscopia, fluorescência e absorção no UV-Vis, como uma ferramenta complementar para auxiliar no monitoramento da qualidade da água de pisciculturas em viveiros escavados. No entanto, foi observada a necessidade de melhorias na utilização dessas ferramentas para um diagnóstico mais fidedigno no monitoramento da qualidade da água:

- Correlacionar parâmetros físicos e químicos com os comprimentos de onda de cada componente de interesse na piscicultura por meio de análise estatística;
- Avaliar em laboratório a influência dos parâmetros físico-químicos, como pH e temperatura, sobre os espectros de fluorescência;
- Analisar os efluentes da piscicultura por espectroscopia de fluorescência e absorção no UV-Vis, concomitantemente acompanhado pelas análises físicas e químicas de interesse.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Diagnóstico da cadeia de valor da tilapicultura no Brasil**. Renata Melon Barroso [Org.]. Embrapa Pesca e Aquicultura. Brasília-DF, 2018. ISBN: 978-85-7035-726-7. 181 p.
- [2] ANUÁRIO 2019 DA PISCICULTURA. **Piscicultura brasileira, uma atividade em constante expansão**. Texto de Comunicação, Peixe BR, Associação Brasileira da Piscicultura, 2019. 148 p.
- [3] MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO, DESENVOLVIMENTO E GESTÃO. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada - Ipea. **Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. Eduardo Pickler Schulter e José Eustáquio Ribeiro Vieira Filho [Org.]. Texto para discussão 2328 - ISSN 1415-4765. 2017. 32p
- [4] FIGUEIRÓ, C.S.M. **Utilização de Técnicas Espectroscópicas na Avaliação da Qualidade da Água em Piscicultura**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal da Grande Dourados. 2016, 95p.
- [5] CODEVASF - COMPANHIA DE DESENVOLVIMENTO DOS VALES SÃO FRANCISCO E DO PARNAÍBA. **Manual de criação de peixes em viveiro**. Regina Helena Sant'Anna de Faria [Org.]. ISBN: 978-85-89503-13-6. Brasília- DF, 2013. 136p.
- [6] SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Uso Racional da Água em Aquicultura**. Jaboticabal -SP. ISBN: 978-85-88805-48-4, 2013, 190p.
- [7] LACHI, G. B. e SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Qualidade da água e composição fitoplanctônica de um viveiro de piscicultura utilizado para fins de pesca esportiva e irrigação. Boletim Instituto de Pesca, São Paulo -SP. **Revista Científica de Pesca, Aquicultura e Limnologia**. v.34, p. 29-38, 2008.
- [8] SOUZA SIERRA, M. M. DE; GIOVANELA, M.; DONARD, O. F. X.; BELIN, C. A. Utilização da Espectroscopia de Fluorescência no Estudo da Matéria Orgânica Dissolvida nas Águas Naturais: Evolução e Perspectivas. Divulgação. **Química Nova**, v.19, p. 294-301, 1996.
- [9] CHEN, W.; WESTERHOFF, P.; LEENHEER, J. A.; BOOKSH, K. Fluorescence Excitation-Emission Matrix Regional Integration to Quantify Spectra for Dissolved Organic Matter. **Environmental Science & Technology**. v.37, p. 5701-5710, 2003.
- [10] LOPARDO, A. T. V.; FERNANDES, C. V. S.; AZEVEDO, J. C. R. Caracterização do Carbono Orgânico para Avaliação Ambiental da Qualidade da Água – Estudo de Caso do Lago Birigui. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**. v. 13, p. 23-34, 2008.
- [11] HUDSON, N., BAKER, A., REYNOLDS, D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - A Review. **River Research and Applications**. v.23: p. 631-649, 2007.
- [12] BIRDWELL, J. E.; ENGEL, A. S. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV-vis absorbance and fluorescence spectroscopy. **Organic Geochemistry**. v.41, p. 270-280, 2010.

- [13] CARSTEAN, M. E. Fluorescence Spectroscopy as a Potential Tool for In-Situ Monitoring of Dissolved Organic Matter in Surface Water Systems. **Water Pollution**. ISBN: 978-953-307-962-2. p. 47-68, 2012. In Tech. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/water-pollution/fluorescence-spectroscopy-as-a-potential-tool-for-in-situ-monitoring-of-dissolved-organic-matter-in>. Acesso em: 19/11/2018.
- [14] KRAMER, R. D.; IDE, A. H.; MIZUKAWA, A.; MARCANTE, L. J. O. & AZEVEDO, J. C. R. Estudo da Caracterização da Matéria Orgânica Aquática da Bacia do Alto Iguaçu, Curitiba-PR, Bento Gonçalves - RS, **Resumo Expandido**, XX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos. p.1-8, 2013.
- [15] COBLE, P.G. Characterization of Marine and Terrestrial DOM in Seawater using Excitation-Emission Matrix Spectroscopy. **Marine Chemistry**, v.51, p.325-346, 1996.
- [16] RUÍZ, S. I. O. **Caracterización de Materia Orgánica Disuelta proveniente de Efluentes de Pisciculturas, mediante Espectroscopía de Fluorescencia**. Tese apresentada na Universidade Austral do Chile, 2014.
- [17] BRIDGEMAN, J.; BIEROZA, M.; BAKER, A. The Application of Fluorescence Spectroscopy to Organic Matter Characterisation in Drinking Water Treatment. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v.10, p. 277-290, 2011.
- [18] CARSTEAN, E. M.; POPA, C. L.; BAKER, A.; BRIDGEMAN, J. In situ fluorescence measurements of dissolved organic matter: A review. **Journal Pre-proof. Science of the Total Environment**. v. 699, p.1-55, 2019.
- [19] HAMBLY, A. C.; ARVIN, E.; PEDERSEN, L. F.; PEDERSEN, P. B.; SEREDYŃSKA-SOBECKA, B.; STEDMON, C. A. Characterising Organic Matter in Recirculating Aquaculture Systems with Fluorescence EEM Spectroscopy. **Water Research**, v.83, p. 112-120, 2015.
- [20] FIGUEIRÓ, C. de S.M.; OLIVEIRA D. B.DE; RUSSO M.R.; CAIRES A.R.L.; ROJAS S.S. Fish farming water quality monitored by optical analysis: The potential application of UV-Vis absorption and fluorescence spectroscopy. **Aquaculture**, v.490, p. 91-97, 2018.
- [21] AZIZ, F.; OUZZANI, N.; MANDI, L.; ASSAAD, A.; PONTVIANNE, S.; POIROT, H.; PONS, M.N. Characterization by fluorescence of dissolved organic matter in rural drinking water storage tanks in Morocco. **Journal of Water and Health**, v. 16.2, p.321-328, 2018.
- [22] McKNIGHT, D. M.; BOYER, E. W.; WESTERHOFF, P. K.; DORAN, P. T.; KULBE, T.; ANDERSEN, D. T. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. **Limnology and Oceanography**. v.46, p.38-48, 2001.
- [23] HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, R.S. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª Edição, 2009. ISBN 978-85-7780-460-3, 1056 p.
- [24] FELLMAN, J. B.; HOOD, E.; SPENCER, R. G. M. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review. **Limnology and Oceanography**, v.55, p. 2452-2462, 2010.

- [25] LAKOWICZ, J.R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3rd Ed., Publisher Springer, New York, 2006. ISBN 978-0-387-31278-1, 954p.
- [26] KOLLER, E.; QUEHENBERGER, O.; JÜRGENS, G.; WOLFBEIS, O. S.; ESTERBAUER H. Investigation of human plasma low density lipoprotein by three-dimensional fluorescence spectroscopy. **FEBS Letters**, v. 198, n.2, p. 229-234, 1986.
- [27] COBLE, P. G.; DEL CASTILLO, C. E.; AVRIL, B. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. **Deep-Sea Research II**, v.45, p.2195-2223, 1998.
- [28] CARSTEANU, E. M., BRIDGEMAN, J., BAKER, A., REYNOLDS, D. M. Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: A review. **Water Research**, v.95, p. 205-219, 2016.
- [29] BAKER, A.; WARD, D.; LIETENC, S. H.; PERIERAD, R.; SIMPSON, E. C.; SLATER, M. Measurement of Protein-like Fluorescence in River and Waste Water using a Handheld Spectrophotometer. **Water Research**, v.38, p. 2934-2938, 2004.
- [30] BEM, C. C.; KNAPIK, H.G.; FERNANDES, C. V. S.; BRAGA, M. C. B.; AZEVEDO, J. C. R. de. Características da Matéria Orgânica – Estudo Comparativo de Padrões de Espectrometria de Fluorescência e UV-Vis de Rio e Lago em Bacias Urbanizadas. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v.18, p. 135-147, 2013.
- [31] KORSHIN, G. V.; LI, C.; BENJAMIN, M. M. Monitoring the Properties of Natural Organic Matter through UV Spectroscopy: A Consistent Theory. **Water Research**, v.31, p. 1787-1795, 1997.
- [32] ETHERIDGE, J. R.; BIRGAND, F.; OSBORNE, J. A.; OSBURN, C. L.; BURCHELL, M. R.; IRVING, J. Using in situ ultraviolet-visual spectroscopy to measure nitrogen, carbon, phosphorus, and suspended solids concentrations at a high frequency in a brackish tidal marsh. **Limnology Oceanography: Methods**, v.12, p. 10-22, 2014.
- [33] WESTERHOFF, P., ANNING, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. **Journal of Hydrology**, v.236, p. 202-222, 2000.
- [34] ISHII, S. K. L.; BOYER, T. H. Behavior of reoccurring PARAFAC components in fluorescent dissolved organic matter in natural and engineered systems: A critical review. **Environmental Science & Technology**, v.46, p. 2006-2017, 2012.
- [35] NGUYEN, H. V.-M.; HUR, J.; SHIN, H.-S. Changes in Spectroscopic and Molecular Weight Characteristics of Dissolved Organic Matter in a River During a Storm Event. **Water Air and Soil Pollution**, v.212, p. 395-406, 2010.
- [36] PITTALIS, D.; IOCOLA I.; FIORANI, L.; MENICUCCI, I.; PALUCCI, A.; LUGLIÈ, A.; GHIGLIERI, G.; IANNETTA, M. **Fluorescence spectroscopy techniques for water quality monitoring**. FSE 2007-2013 L.R. 7/2007 - Promoção de pesquisas científicas e inovação tecnológica em Sardenha, 2012.
- [37] HAMBLY, A., STEDMON, C. FluoroRAS Sensor - Online organic matter for optimising recirculating aquaculture systems. **Research Ideas and Outcomes 4: e23957**, 2018.

- [38] COBLE, P. G., SPENCER, R. G. M., BAKER, A. & REYNOLDS, D. M. Aquatic Organic Matter Fluorescence. **Cambridge Environmental Chemistry Series**, p. 75-122, 2014.
- [39] BAKER, A. Fluorescence properties of some farm wastes: implications for water quality monitoring. **Water Research**. V. 36, p.189–195, 2002.
- [40] SPENCER, R. G. M.; BUTLER, K. D.; AIKEN, G. R. Dissolved organic carbon and chromophoric dissolved organic matter properties of rivers in the USA. **Journal of Geophysical Research**, v.117, p. 1-14, 2012.
- [41] GREEN, S. A.; BLOUGH, N. V. Optical absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter in natural Waters. **Limnology and Oceanography**, v.39, p. 1903-1916, 1994.
- [42] Modern Chemical Techniques. Ultraviolet/Visible Spectroscopy. **The Royal Society of Chemistry**. Ed. 1, 1997. ISBN: 978-187-0343-19-0, 200 p.
- [43] SANTOS, M. M., KNAPIK, H. G., FERNANDES, C. V. S., AZEVEDO, J. C. R. E BERNARDO, J. W.Y. Analysis of anthropogenic and natural sources in the characterization of organic matter in rivers and reservoirs. **Conference Paper**, 2015.
- [44] AZEVEDO, J. C. R.; TEIXEIRA, M. C.; SANTOS, A. M.; LEANDRINI, J. A.; PAGIORO, J. A. Caracterização da Matéria Orgânica Dissolvida da Planície de Inundação do Alto Rio Paraná. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, p. 66-77, 2008.
- [45] SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; SANTEIRO, R. M. Fish farm and water quality management. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.35, p. 21-27, 2013.
- [46] MERCANTE, C. T. J.; ESTEVES, K. E.; PEREIRA, J. S.; OSTI, J. S. Limnologia na Aquicultura: Estudo de Caso em Pesqueiros. **Textos Técnicos**. Instituto de Pesca de São Paulo – SP, 2008.
- [47] XU, Z., BOYD, C.E. Reducing the Monitoring Parameters of Fish Pond Water Quality. **Aquaculture**, p. 359-366, 2016.
- [48] BOYD, C. E. **Water Quality. An Introduction**. 2ª Ed. Springer International Publishing Switzerland, 2015, ISBN 978-3-319-17446-4 (eBook), 353p.
- [49] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – Glossário de poluição das águas, NBR – 9896/1993, 94 p., 1993.
- [50] PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 31, p. 81-88, 2005.
- [51] ESTEVES, F. DE A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. ISBN 978-85-7193-271-5, 771p.

- [52] LEIRA, M. H.; CUNHA, L. T. DA; BRAZ, M. S.; MELO, C. C. V.; BOTELHO, H. A.; REGHIM, L. S. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **PUBVET**. v.11, p.11-17. 2017.
- [53] PREISENDORFER, R. W. Secchi disk science: Visual optics of natural waters. **Limnology and Oceanography**, v.31, p. 909-926, 1986.
- [54] BARBOSA, C. C. F. **Sensoriamento Remoto da Dinâmica da Circulação da Água do Sistema Planície de Curuai/Rio Amazonas**. 2005. Tese (Doutorado em Sensoriamento Remoto) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), São José dos Campos – SP, 2007.
- [55] TUNDISI, G.; MATSUMURA TUNDISI, T. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. ISBN: 978-85-86238-66-6, 625p.
- [56] STEDMON, C.; CORY, R. Biological Origins and Fate of Fluorescent Dissolved Organic Matter in Aquatic Environments. *Aquatic Organic Matter Fluorescence*, **Cambridge Environmental Chemistry Series**, p. 278-300, 2014.
- [57] THOMAS, J.D. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems. **Freshwater Biology**, v.38, p.1-36, 1997.
- [58] McINTYRE, A.M.; GUÉGUEN, C. Binding interactions of algal-derived dissolved organic matter with metal ions. **Chemosphere**, v. 90, p.620-626, 2013.
- [59] RUHALA, S. S.; ZARNETSKE, J. P. Using in-situ optical sensors to study dissolved organic carbon dynamics of streams and watersheds: A review. **Science Total of the Environment**. v. 575, p.713-723, 2016.
- [60] CORY, R. M.; BOYER, E. W.; MCKNIGHT, D. M. Spectral methods to advance understanding of dissolved organic carbon dynamics in forested catchments. **Ecological Studies**, Cap.6, p.117-135, 2011.
- [61] CHIN Y.; ALKEN, G.; O'LOUGHLIN, E. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Environmental Science & Technology**, v. 28, p.1853-1858, 1994.
- [62] SENESI, N.; MIANO, T.; PROVENZANO, M.R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v.152, p. 259-271, 1991.
- [63] MARTINS, Y. K. **Qualidade da água em viveiro de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas**. 2007. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Pesca) – Instituto de Pesca, São Paulo – SP, 2007.
- [64] MATO GROSSO DO SUL. **Localização e Geografia**. Disponível em: <http://www.lagunacarapa.ms.gov.br/pagina/8>. Acesso em: 24/09/2018.
- [65] AGRA, J. U. M.; KLINK, J. M E RODRIGUES, G. G. Monitoramento da piscicultura em reservatórios: Uma abordagem ecológica. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.6, p. 1457-1472, 2012.

- [66] KOZAK, C.; LEITHOLD, J.; DE AZEVEDO, J. C. R.; FERNANDES, C. V. S. **FEEMC 2.0 – Fluorescence Excitation-Emission Matrix Code**. Programa de Computador sem registro. 2017.
- [67] EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Boas Práticas de Manejo (BPMs) para Reduzir o Acúmulo de Amônia em Viveiros de Aquicultura**. Júlio Ferraz de Queiroz e Rita Carla Boeira. Comunicado Técnico 44, Jaguariúna/SP. Embrapa Meio Ambiente, 2007. ISSN 1516-8638. 5p.
- [68] OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. **Piscicultura: Fundamentos e Técnicas de Manejo**. Guaíba: Agropecuária, Livraria e Editora Agropecuária, 1998, ISBN 85-85347-27-9, 211p.
- [69] NOZAKI, C. T., MARCONDES, M. A., LOPES, F.A., SANTOS, K. F. DOS, LARIZZATTI, P. S. DA C. Comportamento temporal de oxigênio dissolvido e pH nos rios e córregos urbanos. **Atas de Saúde Ambiental - ASA**, São Paulo, v.2, p. 29-44, 2014.
- [70] MERCANTE, C. T.J.; CARMO, C. F.DO; RODRIGUES, C. J.; OSTI, J. A. S.; MAINARDES PINTO, C. S.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M.; TUCCI, A.; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiro de criação de tilápias do Nilo: Avaliação diurna visando boas práticas. **Boletim Instituto da Pesca**, São Paulo, v.37, p. 73-84, 2011.
- [71] EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Qualidade da água na piscicultura continental**. Roselany de Oliveira Corrêa. Brasília, DF: Embrapa Amazônia Oriental, 2018. 32p. ISBN 978-85-7035-849-3.
- [72] KNAPIK, H. G., FERNANDES, C. V. S. Aplicabilidade de técnicas de espectroscopia e da concentração de carbono orgânico dissolvido na caracterização da matéria orgânica em rios urbanos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v.19, p. 214-225, 2014.
- [73] MATILAINEN, A., GJESSING, E.T., LAHTINEN, T., HED, L., BHATNAGAR, A., SILLANPÄÄ, M. An overview of the methods used in the characterisation of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment. **Chemosphere**, v.83, p. 1431-1442, 2011.