



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

SHADAI MENDES SILVA

INCLUSÃO DO AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA* MART. 1824) NA DIETA DO  
CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO *LITOPENAEUS VANNAMEI* (BOONE,  
1931) EM SISTEMA DE BIOFLOCOS: EFEITO NO DESEMPENHO  
ZOOTÉCNICO, RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E COLORAÇÃO

RIO GRANDE-RS

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG  
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**Inclusão do açaí (*Euterpe oleracea* Mart. 1824) na dieta do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) em sistema de bioflocos: efeito no desempenho zootécnico, respostas bioquímicas coloração**

**Shadai Mendes Silva**

**Orientador: Dr. José Maria Monserrat**  
**Co-orientador: Dr. Wilson Wasielesky Jr.**

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

**RIO GRANDE-RS**

**2018**

## Índice

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	5
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	6
<b>Resumo</b> .....	8
<b>Abstract</b> .....	10
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	12
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
<b>2.1. Geral</b> .....	18
<b>2.2. Específicos</b> .....	18
<b>3. HIPÓTESES</b> .....	18
<b>4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
<b>CAPÍTULO I</b> .....	26
<b>Resumo</b> .....	27
<b>Abstract</b> .....	28
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	29
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
<b>2.1. Delineamento experimental</b> .....	31
<b>2.2. Preparo das rações</b> .....	32
<b>2.3. Desempenho dos camarões</b> .....	34
<b>2.4. Coleta do biofoco e do biofilme</b> .....	35
<b>2.5. Análises proximal da carcaça</b> .....	35
<b>2.6. Análises bioquímicas</b> .....	35
2.6.1. <i>Determinação do conteúdo de polifenóis totais</i> .....	36
2.6.2. <i>Determinação de flavonoides totais</i> .....	36
2.6.3. <i>Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2- Difenil-1- picrilhidrazilo) no músculo do camarão e no biofilme</i> .....	37
<b>2.7. Análise de cor no tecido do camarão</b> .....	37
<b>2.8. Análises estatística</b> .....	38
<b>3. RESULTADOS</b> .....	38
3.1. <i>Parâmetros físico-químicos da água</i> .....	38
3.2. <i>Avaliação de desempenho zootécnico</i> .....	39
3.3. <i>Análises proximal da carcaça</i> .....	39
3.4. <i>Análise de Cor</i> .....	39
3.5. <i>Polifenóis totais</i> .....	40
3.6. <i>Flavonoides totais</i> .....	42

3.7. Capacidade antioxidante total pelo método do DPPH no músculo e do biofilme.....	43
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>49</b>
<b>6. PERSPECTIVAS PARA O FUTURO.....</b>	<b>49</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>50</b>

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha filha Ana Charis que desde o início me acompanhou, nesta etapa da minha caminhada, sempre me regalando sorrisos e me confortando.*

*Dedico a minha mãe Neuzeli Mendes que sempre me encorajou a continuar estudando mesmo com o coração dela na mão, devido à distância.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por ter me dado força e coragem quando achava que não tinha sou grata pelas vezes que Ele levantou pessoas para me auxiliar, pude ver o Extraordinário de Deus. Grata por todas as bênçãos concedidas.

Meus sinceros agradecimentos aos meus familiares por sempre torcerem por mim para que eu me tornasse uma profissional de sucesso.

Expresso a minha gratidão ao meu orientador Dr. José Maria Monserrat, por sempre estar disposto a me auxiliar no que fosse preciso, fico grata por ter aceitado me orientar, confiando em minha capacidade e investindo em mim tempo e paciência. Sua orientação me foi extremamente válida e relevante para minha dissertação. Obrigado por seus ensinamentos que levarei para toda minha vida. Com o Sr. eu pude aprender ser mais humana.

Ao meu co-orientador Dr. Wilson, agradeço pela acessibilidade, disposição em apoiar e pelas discussões que foram de grande crescimento para minha vida profissional.

Aos parceiros do Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos – BIFOA meus sinceros agradecimentos por me auxiliarem, principalmente a Thamyres Vanessa por ter se tornado uma grande amiga, não medindo esforços para me ajudar nos momentos em que mais precisei, ao ter colaborado em fazer minhas análises bioquímicas. Ao Marcos e a Grécica Colombo por ter auxiliado nas análises e durante meu experimento, e a Patrícia Ramos por ter feito a coloração do camarão.

Gostaria também de agradecer ao meu inestimável amigo Juan Rafael, que esteve ao meu lado desde o início do meu experimento, me auxiliando com ideias, e a fazer análises que eu não podia fazer. Logo chegou a Juliana e cuidou da Ana como se fosse a sua filha. Vocês dois foram cruciais para que eu pudesse chegar até aqui.

Sou grata também ao Sandro, por ter deixado usar seu laboratório e pelas longas conversas sobre história e política brasileira que foram enriquecedoras para minha vida.

Agradecida ao Projeto camarão por ter disponibilizados alguns materiais necessário para os experimentos.

Grata ao Alessandro, por estar sempre disposto em me ajudar no que eu precisava; ao Anderson por me levar a comprar materiais para o experimento, sempre acompanhado do Django que também me auxiliou na estrutura dos experimentos.

Agradeço pelo companheirismo da Gabi Lara, que me ajudou ver o mundo com outros olhos, mesmo depois de ter ido embora. Agradecida pelas conversas e discussões com Professor Marcelo Tesser, Julio, Kennia, Fabio, Prof. Geraldo, Joca, Victor Torres, Professor Paulo Abreu, Andreline, Dani Lemes e Cleber que acrescentaram para minha vida acadêmica. Grata pelas amizades que fiz com a Mari, Inácio, Ide, Jun, Gabriel, Virginia, Romano, Lica, Hellyjunior, Aline, Lidia, Luiza, Joel, Mario Carneiro, Mario Junior Guilherme e aos demais colegas e professores do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Agradeço pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos de Mestrado.

## Resumo

O camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) tem sido a espécie de crustáceo mais cultivado no mundo, mas pode estar sujeito a fatores abióticos que promovam estresse oxidativo o que leva a considerar a importância de suplementar a dieta desta espécie com antioxidantes. O fruto *Euterpe oleracea*, conhecido na região amazônica como açaí, contém quantidades significativas de antioxidantes da classe de flavonoides, tais como antocianina e quercetina. Assim o objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho zootécnico, a coloração e respostas bioquímicas do *L. vannamei*, alimentados com diferentes níveis de inclusão de açaí *Euterpe oleracea* na dieta em um sistema de cultivo de bioflocos. Foram utilizadas 16 unidades de 40 litros, com 4 repetições, contendo 20 camarões (0,9 g) por unidade. Foram avaliadas quatro dietas suplementadas com polpa de açaí liofilizado (0; 2,5; 5; e 10% de inclusão). Foi no final do experimento os parâmetros zootécnicos e coloração (na região do abdômen e cefalotórax) em camarões não cozidos e cozidos por 2 min a 70 °C, se medindo neste último caso os parâmetros L\* (luminosidade), a\* (componente vermelho/verde) e b\* (componente amarelo/azul) com colorímetro digital. Os dados de desempenho zootécnico, coloração, teores de flavonoides e polifenóis totais e capacidade antioxidante (DPPH) foram submetidos à análise de variância modelo misto (ANOVA) e, quando houve diferenças estatísticas as médias foram contrastadas por meio do teste Newman-Keuls ( $\alpha=0,05$ ). As médias dos resultados obtidos de cada tratamento nos parâmetros físicos e químicos da água e sólidos totais não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, assim como os parâmetros zootécnicos ( $p>0,05$ ). Os valores dos lipídeos da carcaça dos camarões alimentados com as dietas com inclusão de açaí (2,5%, 5% e 10%), mostrou diferenças estatísticas significativas ( $p<0,05$ ) comparando com o controle. Houve diferenças ( $p<0,05$ ) no parâmetro L\* na região do cefalotórax entre o controle e a inclusão de 10% de açaí na dieta. No do abdômen dos camarões não cozidos, também teve alterações ( $p<0,05$ ) entre 2,5% e 10% da concentração de açaí na ração. Em relação a cromaticidade a\* ocorreu diferença ( $p<0,05$ ) apenas no abdômen tanto dos camarões cozidos, como dos não cozidos entre o controle e a inclusão de 10% de açaí na dieta. Nas análises bioquímicas o músculo não apresentou diferenças significativas na concentração de polifenóis totais, polifenóis totais, flavonoides totais e na capacidade antioxidante total (DPPH) ( $p>0,05$ ). No hepatopâncreas houve diferenças estatísticas, entre a inclusão de 2,5% de açaí, com valores mais elevados do a inclusão de 10% de açaí. Nas brânquias o controle juntamente com 2,5% de inclusão de açaí teve valores superiores ( $p<0,05$ ) quando comparados com o tratamento com 10% de inclusão do açaí. A concentração de

polifenóis no biofilme foi superior nos tratamentos com 5 e 10% de inclusão de açaí ( $p < 0.05$ ). Já no biofilme não houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Os valores de polifenóis da ração não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), porém a concentração de flavonoides na ração apresentou diferenças significativa ( $p < 0.05$ ), entre os tratamentos, apresentando um valor superior na maior inclusão de açaí. Em relação aos flavonoides apenas as brânquias tiveram diferenças estatísticas ( $p < 0.05$ ) entre o controle e 2,5% de inclusão de açaí apresentaram menores valores quando comparados com os tratamentos. A concentração de flavonoides no biofilme não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). No biofilme ocorreram alterações ( $p < 0.05$ ), quando compara 2,5 % de inclusão de açaí com 10% de inclusão de açaí. A capacidade antioxidante total no biofilme também não houve alterações ( $p > 0,05$ ). A inclusão de 10% do açaí como substituição total do óleo de peixe, não altera o desempenho zootécnico, o que pode ser como fonte de óleo vegetal para camarão em sistemas de cultivo de biofilmes. A cromaticidade  $a^*$  no abdômen do camarão na inclusão de 10% de açaí foi satisfatório, já que avaliação desta cor é atraente para o consumidor. Novas análises devem ser realizadas para avaliar o perfil lipídico e a peroxidação lipídica do músculo do camarão já que demonstraram grande teor de extrato etéreo. E fazer composição centesimal do biofilme e perfil lipídico, além ver se existe diferenças na comunidade dos microrganismos que compõe o biofilme e o biofilme nos tratamentos estudados.

**Palavras chaves:** Flavonoides, polifenóis, capacidade antioxidante, antocianina.

## Abstract

Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) has been the most widely cultivated crustacean species in the world but may be subject to abiotic factors that promote oxidative stress, which leads to the importance of supplementing the diet of this species with antioxidants. The fruit *Euterpe oleracea*, known in the Amazon region as açai, contains significant amounts of antioxidants of the class of flavonoids, such as anthocyanin and quercetin. The objective of this work was to evaluate the zootechnical performance, color and biochemical responses of *L. vannamei* fed with different levels of inclusion of açai *Euterpe oleracea* in the diet in a biofloc culture system. Sixteen 40-liter units were used, with 4 replicates, containing 20 shrimp (0.9 g) per unit. Four diets supplemented with lyophilized açai pulp (0, 2.5, 5, and 10% inclusion) were evaluated. At the end of the experiment were the zootechnical parameters and coloration (in the abdomen and cephalothorax) in uncooked and cooked prawns for 2 min at 70 °C, measured in the latter case the parameters L\* (luminosity), a\* (red / green) and b\* (yellow / blue component) with digital colorimeter. The data of performance, coloration, flavonoids and total polyphenols and antioxidant capacity (DPPH) were submitted to analysis of variance mixed model (ANOVA) and, when there were statistical differences, the means were tested using the Newman-Keuls test ( $\alpha = 0.05$ ). The averages of the results of each treatment in the physical and chemical parameters of water and total solids did not present significant differences between the treatments, as well as the zootechnical parameters ( $p > 0.05$ ). The values of the carcass lipids of the shrimp fed diets with açai inclusion (2.5%, 5% and 10%) showed significant statistical differences ( $p < 0.05$ ) compared to the control. There were differences ( $p < 0.05$ ) in the L\* parameter in the cephalothorax region between the control and the inclusion of 10% of açai in the diet. In the abdomen of uncooked prawns, there were also changes ( $p < 0.05$ ) between 2.5% and 10% of the açai concentration in the diet. In relation to chromaticity a\* there was a difference ( $p < 0.05$ ) only in the abdomen of both cooked and uncooked shrimps between the control and the inclusion of 10% of açai in the diet. In the biochemical analysis, the muscle did not present significant differences in the concentration of total polyphenols, total polyphenols, total flavonoids and total antioxidant capacity ( $p > 0.05$ ). In the hepatopancreas there were statistical differences between the inclusion of 2.5% of açai, with values higher than the inclusion of 10% of açai. In the gills the control with 2.5% inclusion of açai had higher values ( $p < 0.05$ )

when compared with the treatment with 10% inclusion of açai. The concentration of polyphenols in the biofloc was higher in treatments with 5 and 10% inclusion of açai ( $p < 0.05$ ). In the biofilm, there were no significant differences between treatments ( $p > 0.05$ ). However, the concentration of flavonoids in the diet presented significant differences ( $p < 0.05$ ) between the treatments, presenting a higher value in the higher inclusion of açai. In relation to the flavonoids only the gills had statistical differences ( $p < 0.05$ ) between the control and 2.5% of inclusion of açai had lower values when compared with the treatments. The concentration of flavonoids in the biofloc showed no significant differences ( $p > 0.05$ ). Changes in the biofilm occurred ( $p < 0.05$ ), when it compared 2.5% of inclusion of açai with 10% inclusion of açai. The total antioxidant capacity in the biofilm also did not change ( $p > 0.05$ ). The inclusion of 10% of the açai as total replacement of the fish oil does not alter the zootechnical performance, which can be as a source of vegetable oil for shrimp in biofloc culture systems. The chromaticity  $a^*$  in the shrimp abdomen in the inclusion of 10% of açai was satisfactory, since evaluation of this color is attractive for the consumer. New analyzes should be performed to evaluate the lipid profile and lipid peroxidation of the shrimp muscle, since they showed a high content of ethereal extract. And make a centesimal composition of the biofilm and lipid profile, and see if there are differences in the community of microorganisms that make up the biofilm and the bioflock in the treatments studied.

Keywords: Flavonoids, polyphenols, antioxidant capacity, anthocyanin.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A espécie de camarão mais comercializada em várias partes do mundo é o *Litopenaeus vannamei* (BOONE 1931), conhecido como o camarão branco do Pacífico, sendo a espécie com maior volume de produção (KIM et al. 2014) por apresentar rápido crescimento, maior índice de sobrevivência e ser tolerante a alta densidade e estocagem. (KRUMMENAUER, 2011; CRAB, 2012).

A introdução desta espécie no Brasil, ocorreu na década de 80, demonstrando alta adaptabilidade às condições climáticas brasileiras, devido à sua rusticidade, rapidez no crescimento e ampla faixa de tolerância à salinidade (NATORI et al., 2011).

Para o cultivo do camarão recentemente se tem estudado o sistema de bioflocos (Biofloc Technology - BFT), o qual é um modelo de cultivo de camarão que tem sido desenvolvido para ser um sistema de produção sustentável, reduzindo ou mesmo eliminando impactos negativos sobre o meio ambiente, uma vez que requer pouca ou nenhuma troca de água, reduzindo assim a emissão de resíduos e a fuga das espécies cultivadas, para o ambiente aquático (AVINMELECH, 2012). Além disso, o sistema de BFT tolera elevadas densidades de armazenagem, permitindo aumentar a produtividade e um melhor aproveitamento da utilização da área (KRUMMENAUER et al. 2011).

A biomassa microbiana tem dois papéis principais: (i) manutenção da qualidade da água, pela absorção de compostos nitrogenados e assim gerando "in situ" proteína microbiana; e (ii) a nutrição, aumentando a viabilidade do cultivo, reduzindo a taxa de conversão alimentar e uma redução de custos de alimentação (EMERENCIANO, 2013).

Os bioflocos são compostos de fitoplâncton, zooplâncton, bactérias, e detritos sob a forma de partículas suspensas e agregados. A fertilização orgânica no sistema otimiza o crescimento de bactérias heterotróficas, as quais convertem o nitrogênio inorgânico em proteína bacteriana, melhorando a qualidade da água, e permitindo que o camarão cresça a altas densidades de estocagem (ARNOLD et al, 2009; KRUMMENAUER et al. 2011; AVNIMELECH, 2012).

Outros estudos também revelam que o sistema BFT poderia melhorar a resposta imune celular do camarão cultivado, provavelmente porque ele é rico em microorganismos naturais e compostos bioativos (XU e PAN, 2013). Muitos autores determinaram que as partículas de bioflocos são também uma fonte de lipídios e ácidos graxos que poderia contribuir para a nutrição do camarão (ANAND et al., 2014).

Dentro do sistema de bioflocos uma película é formada por microrganismos através do *quorum sensing* na parede do viveiro, o qual se denomina biofilme. Este substrato tem composições similares ao biofoco, contendo colonização de bactérias, protozoários, microalgas e cianobactérias. (Silva, et al. 2008). Na pesquisa de Zhang et al. (2016) mostrou que a utilização artificial do substrato em sistema BFT, promoveu a eficiência no controle da qualidade de água, e na melhora da sobrevivência e o crescimento do camarão *L. vannamei*, obtendo uma redução significativa da taxa de conversão alimentar.

Da mesma forma, inúmeras pesquisas têm observado que os camarões são mais saudáveis e crescem melhor em sistemas de aquicultura que têm altos níveis de algas, bactérias e outros tipos de biota natural. Ou seja, este sistema pode contribuir para o bem-estar do camarão. (AVNIMELECH, 2012; FERREIRA et al, 2016b; LARA et al, 2016).

Para o camarão ter um melhor desenvolvimento em suas funções metabólicas, crescimento e reprodução, necessita de uma alimentação que se enquadra em seus requisitos nutricionais. Um dos ingredientes utilizados na ração, é o óleo de peixe, que o qual supre as necessidades de ácidos graxos essenciais que necessita o camarão. Contudo esta fonte de lipídios, vem diminuindo, devido a sobrepesca dos peixes e leis ambientais para regulamentar a pesca, além do valor do preço vir aumentando. Diante disso vem crescendo estudos para a substituição do óleo de peixe pelo o óleo de fonte vegetal para a alimentação de organismos aquáticos, além de reduzir custos na ração (CABALLERO, 2002; TACON, 2008; TURCHINI, et al. 2009 e 2010; GONZÁLEZ-FÉLIX, 2010; AYISI, 2017).

Dentre os óleos vegetais há pesquisas com o óleo de palma que tem sido usado em dietas para camarões tigre asiático (HAJRA et al. 1988; RAMESH et. al. 2005) em tilápias (NG et al. 2006 e 2011; BAHURMIZ et al., 2007) e truta arco-íris (NG et al. 2003 e 2010), e outras espécies de peixes e crustáceos, com resultados promissores. Estas fontes de ácidos graxos são ricas em antioxidantes como a vitamina A ( $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno) e a vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis) (NG, 2002). Também fornece ácidos graxos saturados e monoinsaturados, que conferem a esse óleo sua reputação estabilidade e resistência à oxidação.

A planta *Euterpe oleracea Martius*, popularmente conhecida como açazeiro ou açai, também é uma palmeira, nativa da bacia Amazônica, onde se distribui na floresta

de várzea do estuário desta localidade (DE LIMA YAMAGUSHI, 2015; SCHAUSS 2016).

O açaí vem ganhando novos mercados desde a década de 90. Tal fruto é amplamente consumido pelos brasileiros, por meio de pratos típicos ou sobremesas tais como sorvetes e compotas. Sua produção é um pilar importante para a economia regional, envolvendo mais de 50 000 famílias que dependem basicamente disso, gerando renda mais de US \$ 150 milhões por ano (SCHAUSS 2006; DE LIMA YAMAGUSHI, 2015).

O fruto desta palmeira tem recebido muita atenção nos últimos anos, devido aos benefícios à saúde associado com a alta capacidade antioxidante e composição fitoquímica (RODRIGUES, 2016; SCHAUSS 2016).

A polpa de açaí apresenta possui elevado teor de ácidos graxos insaturados, similares ou superiores aos encontrados em azeitonas ou abacates (MIYAZAWA et al., 1999). Segundo Do Nascimento (2008) o óleo de açaí representa 68,71% de monoinsaturados e polinsaturados em relação aos outros lipídios. As monoinsaturadas são benéficas ao organismo, pois diminuem os níveis de colesterol LDL e aumentam os níveis de colesterol HDL, auxiliando, assim, na proteção do sistema cardiovascular, alguns estudos demonstraram que o açaí tem tido essas propriedades em ratos e humanos. (JENSEN et al., 2008; SOUZA et al. 2010; UDANI et al., 2011; YUYAMA et al., 2011; ODENDAAL e SCHAUSS, 2014; OLIVEIRA et al., 2015). Lubrano et al., (1994) observou que dentro do perfil lipídico, 60% dos ácidos graxos são ácido oléico, 22% ácido palmítico, 12% ácido linoléico e 6% de ácido palmitoleico. Outros estudos observaram também que o ácido oleico é o maior composto dos ácidos graxos insaturados e o ácido palmítico é o segundo maior composto (MANTOVANI et al., 2003; SCHAUSS et al., 2006; FERREIRA, 2016a). Lubrano et al., (1994) também relata que há pelo menos cinco fitoesteróis:  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol,  $\delta^5$ -avenasterol, campesterol e colesterol na composição lipídica.

Tal planta também é rica em carboidratos, fibras, vitaminas E, proteínas e minerais (Mn, Fe, Zn Cu, Cr). (SCHAUSS 2006; ODENDAAL e SCHAUSS, 2014; SCHAUSS 2016)

Este fruto apresenta em sua composição química altas concentrações de compostos fenólicos, como flavonoides e antocianinas, pigmentos responsáveis pela coloração roxa do fruto (DIAS et al., 2012, DIAS et al., 2013; SCHAUSS 2016). Este grupo de moléculas são responsáveis pela coloração vermelha até a coloração azul em

muitas frutas, legumes e hortaliças (MAZZA & MINIATI, 1993; HE, et al 2010). A função destes compostos é de proteção, defesa, e ação antioxidante (LOPES, 2007).

Atualmente a um aumento constante em investigações de corantes alimentares naturais e fontes alimentares funcionais, não só devido às preferências do consumidor por pigmentos naturais, mas também por seus benefícios relacionados à saúde (MEYER et al.,1997; SKREDE et al, 2000)

Logo estudos tentam determinar a melhor estratégia de suplementar pigmentos no camarão, atualmente tem se usado os carotenoides, os quais são compostos fenólicos, que possui uma coloração avermelhada. Investigadores tentam introduzir a mesma cor característica do camarão do ambiente natural por meio de dietas, com inclusão de compostos do grupo de carotenoides. Quanto maior a coloração do camarão para o vermelho, mais atrativos para a compra. (ARREDONDO et al., 2003; SACHIRA, 2005; TUME et al., 2009; PARISENTI et al, 2011; WADE et al , 2017 a e b).

O grupo das antocianinas e flavonoides também tem atraído muita atenção pelas indústrias alimentícias, por serem o maior grupo de pigmentos solúveis em água. Tais compostos permitem sua incorporação em uma variedade de alimentos. (BRIDLE & TIMBERLAKE, 1997; RODRIGUEZ-SAONA et al. 1999; COÏSSON et al., 2005).

Segundo Rogez, (2000) o açaí possui, em grande quantidade a antocianina, a qual está também presente nas uvas, sendo que um litro de açaí médio (entre a consistência fina e grossa) contém 33 vezes mais antocianina que um litro de vinho tinto francês.

As principais antocianinas encontradas na polpa do açaí são representadas pela cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3- rutinosídeo (GALORI, 2004), perlagonidina-3-glucosídeo cianidina-3-sambiosídeo, peonidina-3-glucosídeo, peonidina-3-rutinosídeo. Existe uma prevalência das cianidinas entre as antocianinas, sendo que a mais frequente no açaí é a cianidina-3-rutinosídeo com 60 a 67% e a cianidina-3- glucosídeo com 26 a 30% (DA SILVA, 2015)

Para analisar a cor de um produto o equipamento, o colorímetro utiliza sensores que simulam a maneira como o olho humano vê a cor, expressando a cor na forma numérica e quantificando a diferença de cor entre um padrão e uma amostra de produção. Este avalia os valores L\* (luminosidade) que variam entre zero (preto) e 100 (branco) e os valores das coordenadas de cromaticidade a\* e b\*, que variam de - a\* (verde) até + a\* (vermelho), e de -b\* (azul) até + b\* (amarelo) (CHAMBERS & BOWERS, 1993).

A polpa de *Euterpe oleracea* Mart., liofilizado existe grande quantidade de componentes fenólicos como ácidos fenólicos, flavanóis e flavonóis. Estas características fazem que o açaí seja considerado como pertencente a categoria de “alimentos funcionais”. (ODENDAAL e SCHAUSS, 2014).

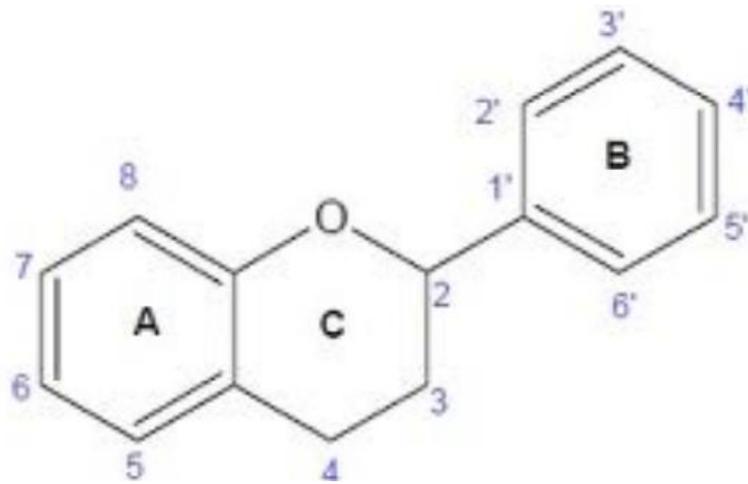
Logohá estudos crescentes de que o consumo de uma variedade de compostos fenólicos presentes nos alimentos, possa reduzir o risco de doenças devido à sua atividade antioxidante. Estes são considerados os alimentos funcionais. Os antioxidantes são adicionados neste alimento, controlando a rancidez, retardando a formação de produtos de oxidação tóxica, mantendo a qualidade nutricional e prolongando o prazo de validade dos produtos. Devido a preocupações de segurança alimentar, os antioxidantes naturais têm sido de crescente interesse (LOBO et al., 2010; GÓMEZ-ESTACA et al, 2014; SHAHIDI et al., 2015; GALANO et al., 2016).

Segundo ODENDAAL e SCHAUSS (2014) e MARTINO (2016), a polpa do açaí apresenta nos consumidores uma relação de ação vasodilatadora, anti-hipertensiva, antiinflamatória, ação na redução dos fatores de risco em desordens metabólicas.

A classe dos flavonoides é um dos grupos de compostos com maior atividade antioxidante e são usados como suplementos em organismos aquáticos para a conservação e aumento do “shelf time” no camarão *L. vannamei*, linguados (*Paralichthys olivaceus*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), devido a preservação da propriedade de sabor e textura na carne dos animais (GAI, 2015; LI, 2016; LI, 2017).

A ação antioxidante do grupo dos flavonoides depende da sua estrutura em relação ao número e ao grupo de hidroxilas. Estes agem como doadores de prótons e elétrons, reduzindo quimicamente as ERO e, desta forma protegendo os tecidos das reações provocadas por radicais livres, prevenindo a peroxidação lipídica. Estes compostos também são ideais para a quelação de íons metálicos, podendo ser mais efetivos que as vitaminas C e E (BARREIROS et al, 2006).

Os Flavonoides possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais, podem se apresentar conjugados com mono e polissacarídeos. (BALASUNDRAM, SUNDRAM E SAMMAN, 2006).



**Figura 1.** A estrutura química dos flavonoides consiste de 15 carbonos organizados em três anéis (C6-C3-C6). Fonte: Dornas et al (2007).

Até o momento foram identificadas diversas propriedades farmacológicas e medicinais das antocianinas, incluindo anticarcinogênica, antiinflamatória, antimicrobiana e antioxidante, prevenindo a oxidação do LDL, doenças cardiovasculares e neurológicas (DA SILVA MENEZES, 2008).

No entanto existe a necessidade de mais estudos randomizados e controlados in vivo, para demonstrar os benefícios à saúde dos componentes do açaí, além do mecanismo de ação que precisam serem mais bem compreendidos (PORTINHO, 2012).

Nesse contexto, há claramente uma lacuna na literatura sobre os possíveis benefícios que o açaí pode trazer na produção do *L. vannamei*, principalmente na região brasileira onde há uma grande produção desse fruto.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Geral

Avaliar o efeito da adição do açaí *Euterpe oleracea* na dieta sobre o desempenho zootécnico, coloração e respostas bioquímicas do camarão branco do Pacífico *L. vannamei* no sistema de bioflocos

### 2.2. Específicos

- Avaliar o desempenho zootécnico e composição centesimal do *L. vannamei*, alimentados com diferentes níveis de inclusão e açaí *Euterpe oleracea* na dieta.
- Analisar a coloração no abdome e no cefalotórax nos camarões não cozidos e cozidos, avaliando os valores L\* (luminosidade) os valores das coordenadas de cromaticidade a\* e b\*;
- Estimar a quantidade do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais nos seguintes tecidos do *L. Vannamei* : músculo, brânquias e hepatopâncreas;
- Quantificar compostos fenólicos totais e flavonoides totais na ração, no biofoco, no biofilme;
- Avaliar a capacidade antioxidante do músculo e do biofilme dos camarões alimentados com as dietas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de açaí *Euterpe oleracea* na dieta.

## 3. HIPÓTESES

- A dieta com a inclusão do açaí melhorará o desempenho zootécnico dos camarões, devido a quantidade de antioxidantes que tem este fruto.
- A coloração do músculo e do cefalotórax do camarão serão alteradas pela antocianina presente na polpa de açaí.
- O teor de flavonoides e polifenóis no tecido do camarão, no biofoco e no biofilme aumentarão com o consumo do açaí.
- O músculo do camarão e o biofilme terão uma maior capacidade antioxidantes, em função dos antioxidantes presentes na dieta.

#### 4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ANAND, P. S., KOHLI, M. P. S., KUMAR, S., SUNDARAY, J. K., ROY, S. D., VENKATESHWARLU, G., & PAILAN, G. H. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, 418, 108-115, 2014
- ARNOLD SJ, COMAN FE, JACKSON CJ High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density. **Aquaculture** 293(1):42–48, 2009.
- ARREDONDO-FIGUEROA, J.L., PEDROZA-ISLAS, R., PONCE-PALAFOX, J.T. & VERNON-CARTER, E.J. Pigmentation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) with esterified and saponified carotenoids from red chili (*Capsicum annuum*) in comparison to astaxanthin. **Rev. Mex. Ingen. Quim.** , 2, 101–108, 2003.
- AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology – A Practical Guide Book. 2nd ed. **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, United States. 2012.
- AYISI, C. L., HUA, X., APRAKU, A., AFRIYIE, G., KYEI, B. A. Recent studies toward the development of practical diets for Shrimp and their nutritional requirements. **HAYATI Journal of Biosciences**, 24(3), 109-117, 2017.
- BAHURMIZ, O. M., NG, W. K. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.*, raised from stocking to marketable size. **Aquaculture**, 262(2-4), 382-392, 2007.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., & SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, 99(1), 191-203, 2006.
- BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, 29, 1, 113-123 2006.
- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, 58, 103-109, 1997.
- CABALLERO, M. J., OBACH, A., ROSENLUND, G., MONTERO, D., GISVOLD, M., & IZQUIERDO, M. S. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, 214(1-4), 253-271, 2002.
- CHAMBERS, E. & BOWERS, J. Consumer perception of sensory qualities in muscle foods. **Food Technol.** 47:116–120.1993.
- CHIH-HUNG, P., C. YEW-HU, C. JIN-HUA. Effects of light regime, algae in the water, and dietary astaxanthin on pigmentation, growth, and survival of black tiger prawn *Penaeus monodon* post-larvae. **Zoological Studies** 40:371–382, 2001.

- CHIEN, Y.H. & JENG, S.C. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. **Aquaculture**, 102, 333–346. 1992.
- COÏSSON, J. D., TRAVAGLIA, F., PIANA, G., CAPASSO, M., & ARLORIO, M. *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**, 38(8-9), 893–897, 2005.
- CRAB, R., DEFOIRDT, T., BOSSIER, P., & VERSTRAETE, W. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 356, 351–356, 2012.
- DA SILVA, L. D. Composição centesimal da polpa integral de açaí. In: **Congresso de Ciência e Tecnologia da UTFPR** Campus Dois Vizinhos. 412-414, 2015.
- DA SILVA MENEZES, E.M.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amazonica**, 38, 311 – 316, 2008.
- DE LIMA YAMAGUCHI, K. K., PEREIRA, L. F. R., LAMARAO, C. V., LIMA, E. S., & DA VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, 179, 137-151, 2015.
- DIAS, A.L.S., ROZET, E., CHATAIGNÉ, G., OLIVEIRA, A. C., RABELO, C. A. S., HUBERT, PH., ROGEZ, H., QUETIN-LECLERCQ, J. A rapid validated UHPLC–PDA method for anthocyanins quantification from *Euterpe oleracea* fruits. **Journal of Chromatograph B**, 907, 108-116, 2012.
- DIAS, A.L.S., ROZET, E., LARONDELLE, Y., HUBERT, P., ROGEZ, H., QUETIN-LECLERCQ, J. Development and validation of an UHPCL-LQT-Orbitrap MS method for nonanthocyanin flavonoids quantification in *Euterpe oleracea* juice. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 405, 9235-9249, 2013.
- DO NASCIMENTO, R. J. S., COURI, S., ANTONIASSI, R., & FREITA, S. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30(2), 498-502, 2008.
- DORNAS, W. C., OLIVEIRA, T. T., RODRIGUES-DAS-DORES, R. G., SANTOS, A. F., & NAGEM, T. J. Flavonoids: therapeutic potential against oxidative stress. **Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada**, 28, 241-249, 2007.
- EMERENCIANO, M., GAXIOLA, G., & CUZON, G. Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. **Biomass Now: Cultivation and Utilization**. Rijeka, Croatia: InTech, 2013.
- FERREIRA D. S.; GOMES, A. L., DA SILVA, M. G.; ALVES, A. B.; AGNOL, W. H. D.; FERRARI, R. A.; CARVALHO, P.R. N.; PACHECO, M. T. B. Antioxidant Capacity and Chemical Characterization of Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) Fruit Fractions. **Food Science and Technology**, 4, 95 - 102., 2016 a.

- FERREIRA LM, LARA G, WASIELESKY W Biofilm versus biofloc: are artificial substrates for biofilm production necessary in the BFT system? **Aquacult Int** 24:921–930, 2016 b.
- GALORI, S.; BILIA, AR.; BERGONZI, MC.; BARBOSA, WLR.; VINCIERI, FF. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm). **Chromatographia**, 59, 739-743, 2004.
- GALANO, A., MAZZONE, G., ALVAREZ-DIDUK, R., MARINO, T., ALVAREZ-IDABOY, J. R., RUSSO, N. Food antioxidants: chemical insights at the molecular level. **Annual review of food science and technology**, 7, 335-352, 2016.
- GÓMEZ-ESTACA, J., LOPEZ-DE-DICASTILLO, C., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P., CATALÁ, R., & GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, 35(1), 42-51, 2014.
- GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L., DA SILVA, F. S. D., DAVIS, D. A., SAMOCHA, T. M., MORRIS, T. C., WILKENFELD, J. S., & PEREZ-VELAZQUEZ, M. Replacement of fish oil in plant based diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 309(1-4), 152–158, 2010.
- GONZALES, G. B., SMAGGHE, G., GROOTAERT, C., ZOTTI, M., RAES, K., & KRONSTADT, S. M., M. Z. DARNELL, P. MUNGUIA. Background and temperature effects on *Uca panaceacolor* change. **Marine Biology** 160:1373–1381., 2013.
- HAJRA, A., GHOSH, A., & MANDAL, S. K. Biochemical studies on the determination of optimum dietary protein to energy ratio for tiger prawn, *Penaeus monodon* (Fab.), juveniles. **Aquaculture**, 71(1-2), 71-79, 1988.
- HE, J., GIUST, M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. **Annual Reviews in Food Science and technology**, 1, 163 – 187, 2010.
- JENSEN, G. S.; WU, X.; PATTERSON, K. M.; BARNES, J.; CARTER, S. G.; SCHERWITZ, L.; BEAMAN, R.; ENDRES, J. R.; SCHAUSS, A. G. In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend: results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 56, n. 18, p. 8326-8333, 2008.
- KIM, S-K, Z PANG, H-C SEO, Y-R CHO, T SAMOCHA, I-K JANG. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. **Aquaculture Research**. 45: 362–371 2014.
- KRUMMENAUER, D., PEIXOTO, S., CAVALLI, R. O., POERSCH, L. H., & WASIELESKY, W. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42, 726-733, 2011.

- LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A., & CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy reviews**, 4(8), 118. 2010.
- LUBRANO, C.; ROBIN, J.; KHAIAT, A. Composition en acides gras, sterols, et tocopherols d'huiles de pulpe de fruits de six especes de palmiers de Guyane. **Oleagineux** 49, 59–65, 1994.
- MANTOVANI, I. S. B., FERNANDES, S. B. O., & MENEZES, F. S. Constituintes apolares do fruto do açaí (*Euterpe oleracea* M.-Arecaceae). **Revista Brasileira de farmacognosia**, 13, 41-42, 2003.
- MAZZA, G.; MINIATI, E., Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. **CRC Press, London**, 362 p.1993.
- MEYER, A. S.; YI, O. PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. L.; FRANKEL, E. N. Inhibition of human low-density lipoprotein in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis Vinifera*). **J. Agric. Food Chem.** 45, 1638-1643, 1997.
- MIYAZAWA, T., NAKAGAWA, K., KUDO, M., MURAISHI, K., SOMEYA, K., Direct intestinal absorption of cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. **J. Agric. Food Chem.** 47, 1083–1091, 1999.
- NATORI M.M., SUSSEL F.R., SANTOS E.C.B. Desenvolvimento da Carcinicultura Marinha no Brasil e no Mundo: avanços Tecnológicos e Desafios. **Inf Econ** 41:61–73, 2011.
- NG, W. K., LIM, H. A., LIM, S. L., & IBRAHIM, C. O. Nutritive value of palm kernel meal pretreated with enzyme or fermented with *Trichoderma koningii* (*Oudemans*) as a dietary ingredient for red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*). **Aquaculture Research**, 33(15), 1199-1207, 2002.
- NG, W. K., CAMPBELL, P. J., DICK, J. R., BELL, J. G. Interactive effects of dietary palm oil concentration and water temperature on lipid digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Lipids**, 38(10), 1031-1038, 2003.
- NG, W. K., KOH, C. B., DIN, Z. B. Palm oil-laden spent bleaching clay as a substitute for marine fish oil in the diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, 12(6), 459-468, 2006.
- NG, W. K., CODABACCUS, B. M., CARTER, C. G., NICHOLS, P. D. Replacing dietary fish oil with palm fatty acid distillate improves fatty acid digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, maintained at optimal or elevated water temperature. **Aquaculture**, 309(1-4), 165-172, 2010.
- NG, W. K., & WANG, Y. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. **Aquaculture**, 314(1-4), 122-131, 2011.
- ODENDAAL, A. Y.; SCHAUSS, A. G. Chapter 18: Potent antioxidant and anti-inflammatory flavonoids in the nutrient-rich Amazonian palm fruit, Açaí (*Euterpe*

*spp.*). In: Watson, R.R., Reedy, V.R., Zibadi, S. (Eds.), **Polyphenols in Human Health and Disease**. Academic Press, San Diego, pp. 219–239. 2014.

OLIVEIRA, P. R. B.; COSTA, C. A.; BEM, G. F.; CORDEIRO, V. S. C.; SANTOS, I. B.; CARVALHO, L. C. R. M.; CONCEIÇÃO, E. P. S.; LISBOA, P. C.; OGNIBENE, D. T.; SOUSA, P. J. C.; MARTINS, G. R.; SILVA, A. J. R.; MOURA, R. S.; RESENDE, A. C. *Euterpe oleracea* Mart.- derived polyphenols protect mice from diet-induced obesity and fatty liver by regulating hepatic lipogenesis and cholesterol excretion. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0143721, 2015.

PARISENTI J., BEIRAO L.H., MOURINO J.L., VIEIRA F.N., BUGLIONE C.C. & MARASCHIM M. Effect of background color on shrimp pigmentation. **Boletim de Instituto de Pesca** 37, 177–182, 2011.

PORTINHO, J. A., ZIMMERMANN, L. M., & BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do Açaí. **International Journal of Nutrology**, 5, 15-20, 2012.

RAMESH, S., BALASUBRAMANIAN, T. Dietary value of different vegetable oil in black tiger shrimp *Penaeus monodon* in the presence and absence of soy lecithin supplementation: effect on growth, nutrient digestibility and body composition. **Aquaculture**, 250(1-2), 317-327, 2005.

RODRIGUES, R. A.; DO AMARAL, E.A.; GALVÃO, A. S.. Acarofauna em açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) conduzido em diferentes sistemas de cultivo. **REVISTA AGRO@MBIENTE ON-LINE**,10, 273-281, 2016

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Color and pigment stability of red radish anthocyanins and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. **J. Food Sci.** 61, 688-694, 1999,.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. pp313 2000.

SACHINDRA, N. M., BHASKAR, N., & MAHENDRAKAR, N. S. Carotenoids in different body components of Indian shrimps. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 85(1), 167-172, 2005.

SCHAUSS, A.G., WU, X., PRIOR, R.L., OU, B., PATEL, D., HUANG, D., Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). **J. Agric. Food Chem.** 54, 8598–8603, 2006a.

SCHAUSS, A.G., WU, X., PRIOR, R.L., OU, B., HUANG, D., OWENS, J., ET AL., Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). **J. Agric. Food Chem.** 54, 8604–8610, 2006 b.

SCHAUSS, A. G. Advances in the study of the health benefits and mechanisms of action of the pulp and seed of the Amazonian palm fruit, *Euterpe oleracea* Mart., known as “Açaí”. **In Fruits, Vegetables, and Herbs** pp. 179-220, 2016.

- SHAHIDI, F., & AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of functional foods**, 18, 820-897, 2015.
- SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal Food Sci.** 65, 357-364, 2000.
- SILVA CF, BALLESTER E, MONSERRAT J, GERACITANO L, WASIELESKY W, ABREU PC Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contents. **Aquac Nutr** 14:507–514, 2008.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Bilógicos**, 3ed., Viçosa, MG: UFV, 235 p., 2009.
- SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, R. P.; PEDROSA, M. L. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 804-810, 2010.
- TACON, A. G., METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, 285(1-4), 146-158, 2008.
- THOMPSON FL, ABREU PC, WASIELESKY W Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. **Aquaculture** 203:263–278, 2002.
- TUME R.K., SIKES A.L., TABRETT S. & SMITH D.M. Effect of background color on the distribution of astaxanthin in black tiger prawn (*Penaeus monodon*): effective method for improvement of cooked color. **Aquaculture** 296, 129–135, 2009.
- TURCHINI, G. M., TORSTENSEN, B. E., NG, W. K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, 1(1), 10-57, 2009.
- TURCHINI, G. M., NG, W. K., & TOCHER, D. R.. Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. **CRC Press**, 2010.
- UDANI, J. K.; SINGH, B. B.; SINGH, V. J.; BARRETT, M. L. Effects of Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. **Nutrition Journal**, v. 10, n. 1, p. 45, 2011.
- ZHANG JL, CHEN H, DONG Y ET AL Artificial substrates in zero-water-exchange culture system regulate the rearing performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*(Boone, 1931) under the winter indoor condition. **Aquac Res** 47(1):91–100 2016.
- WADE, N. M., CHEERS, S., BOURNE, N., IRVIN, S., BLYTH, D., GLENCROSS, B. D. Dietary astaxanthin levels affect colour, growth, carotenoid digestibility and the

accumulation of specific carotenoid esters in the Giant Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture Research**, 48(2), 395-406, 2017 a.

WADE, N. M., GABAUDAN, J., & GLENCROSS, B. D. A review of carotenoid utilisation and function in crustacean aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, 9(2), 141-156, 2017 b.

WASIELESKY, WJ, HI ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258: 396-403, 2006.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA FILHO, D. F.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M. J.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M. B. A.; PIMENTEL, S. A.; CARUSO, M. S. F. Physicochemical characterization of acai juice of *Euterpe precatoria Mart.* from different amazonian ecosystems. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 4, p. 545-552, 2011.

**Universidade Federal do Rio Grande**  
**Programa de Pós-Graduação em Aquicultura**  
**Instituto de Oceanografia(IO)**

**CAPÍTULO I**

**Inclusão do açaí (*Euterpe oleracea* Mart. 1824) na dieta do camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931): efeito no desempenho zootécnico, coloração e respostas bioquímicas**

**Shadai Mendes Silva**

O presente capítulo está apresentado de acordo com as normas para submissão da revista **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**

## **Resumo**

O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho zootécnico, a coloração e respostas bioquímicas do camarão branco *L. vannamei*, alimentados com diferentes níveis de inclusão de açaí *Euterpe oleracea* na dieta em um sistema de bioflocos. Foram avaliadas quatro dietas suplementadas com polpa de açaí liofilizado (0; 2,5; 5; e 10% de inclusão). No final do experimento foram medidos os parâmetros zootécnicos e a coloração (na região do abdômen e cefalotórax) em camarões não cozidos e cozidos, se medindo os parâmetros L\*, a\* e b\* com colorímetro digital. Os dados de desempenho zootécnico, coloração, teores de flavonoides e polifenóis totais e DPPH foram submetidos à análise de variância modelo misto (ANOVA), e quando houve diferenças estatísticas as médias foram contrastadas por meio do teste Newman-Keuls ( $\alpha= 0,05$ ). Não houve diferença ( $p>0,05$ ) na sobrevivência e desempenho zootécnico entre os tratamentos. A cromaticidade a\* (componente vermelho/verde) no abdômen do camarão na inclusão de 10% de açaí foi superior que os demais tratamentos. Não houve alterações ( $p>0,05$ ) no músculo do camarão em nenhuma das análises bioquímicas. A concentração de polifenóis no biofoco foi superior nos tratamentos com 5 e 10% de inclusão de açaí ( $p<0.05$ ). O teor de flavonoides apenas as brânquias tiveram diferenças ( $p <0.05$ ) entre o controle e 2,5% de inclusão de açaí. A inclusão de 10% do açaí como substituição total do óleo de peixe, não altera o desempenho zootécnico, servindo como fonte de óleo vegetal para camarão em sistemas de cultivo de bioflocos.

**Palavras chaves:** cromaticidade a\*, *Flavonoides*, *polifenóis*, *capacidade antioxidante*, nutrição, sistema de biofoco.

## **Abstract**

The objective of this work was to evaluate the zootechnical performance, color and biochemical responses of white shrimp *L. vannamei*, fed different levels of inclusion of açai *Euterpe oleracea* in the diet in a biofloc system. Four diets supplemented with lyophilized açai pulp (0, 2.5, 5, and 10% inclusion) were evaluated. At the end of the experiment, the zootechnical parameters and coloration (in the abdomen and cephalothorax) were measured in uncooked and cooked prawns, measuring the L \*, a \*, and b \* parameters with a digital colorimeter. The data of zootechnical performance, staining, total flavonoids, and total polyphenols and DPPH levels were submitted to analysis of variance mixed model (ANOVA), and when statistical differences were found the means were compared using the Newman-Keuls test ( $\alpha = 0.05$ ). There was no difference ( $p > 0.05$ ) in survival and zootechnical performance among treatments. The chromaticity a \* (red/green component) in the shrimp abdomen in the inclusion of 10% açai was higher than the other treatments. There were no changes ( $p > 0.05$ ) in the shrimp muscle in any of the biochemical analyzes. The concentration of polyphenols in the biofloc was higher in treatments with 5 and 10% inclusion of açai ( $p < 0.05$ ). The content of flavonoids only the gills had differences ( $p < 0.05$ ) between the control and 2.5% inclusion of açai. The inclusion of 10% of the açai as a total replacement of fish oil does not alter the zootechnical performance, serving as a source of vegetable oil for shrimp in biofloc culture systems.

Keywords: a \* chromaticity, Flavonoids, polyphenols, antioxidant capacity, nutrition, biofloc system.

## 1. INTRODUÇÃO

O *Litopenaeus vannamei* também conhecido como camarão branco do Pacífico é a espécie com maior volume de produção mundial, devido a fatores como o seu rápido crescimento, grande índice de sobrevivência e apresentar alta tolerância aos processos de estocagem (KRUMMENAUER, 2011; KIM et al., 2014;).

O sistema de bioflocos pode ser empregado para esta espécie, pois o mesmo dentre outros métodos destaca-se por ser sustentável, em função de seus vários benefícios ambientais, principalmente pela otimização das trocas de água, reciclagem dos compostos nitrogenados e manter um alto padrão de biossegurança (MCINTOSH et al., 2000; MCINTOSH, 2000; AVNIMELECH, 2006; WASIELESKY et al., 2006; NOOTONG et al., 2011; EMERENCIANO, 2013;).

Neste sistema de cultivo os microrganismos criam uma película, que se denomina o biofilme nas paredes dos viveiros, tendo um papel importante no controle da qualidade da água, reciclando também os nutrientes, gerados pelo uso de rações com elevado teor proteico (THOMPSON et al, 2002; LARA et al, 2016; ZHANG et al. 2016).

Para o camarão ter um melhor desenvolvimento em suas funções metabólicas, crescimento e reprodução, necessita de uma alimentação que se enquadra em seus requisitos nutricionais. Um dos ingredientes utilizados na ração, é o óleo de peixe, que o qual supre as necessidades de ácidos graxos essenciais que necessita o camarão. Contudo esta fonte de lipídios, vem diminuindo, devido a sobrepesca dos peixes e leis ambientais para regulamentar a pesca, além do valor do preço vir aumentando. Diante disso vem crescendo estudos para a substituição do óleo de peixe pelo o óleo de fonte vegetal para a alimentação de organismos aquáticos, além de reduzir custos na ração (CABALLERO, 2002; TACON, 2008; TURCHINI, et al. 2009 e 2010; GONZÁLEZ-FÉLIX, 2010; AYISI, 2017).

Dentre os óleos vegetais há pesquisas com o óleo de palma que tem sido usado em dietas para camarões tigre asiático (HAJRA et al. 1988; RAMESH et. al. 2005) em tilápias (NG et al. 2006 e 2011; BAHURMIZ et al., 2007) e truta arco-íris (NG et al. 2003 e 2010), e outras espécies de peixes e crustáceos, com resultados promissores. Estas fontes de ácidos graxos são ricas em antioxidantes como a vitamina A ( $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno) e a vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis) (NG, 2002). Também fornece ácidos graxos saturados e monoinsaturados, que conferem a esse óleo sua reputação estabilidade e resistência à oxidação.

A planta *Euterpe oleracea Martius*, popularmente conhecida como açaizeiro ou açai, também é uma palmeira, nativa da bacia Amazônica, onde se distribui na floresta de várzea do estuário desta localidade (DE LIMA YAMAGUSHI, 2015; SCHAUSS 2016).

A polpa de açai apresenta possui elevado teor de ácidos graxos insaturados, similares ou superiores aos encontrados em azeitonas ou abacates (MIYAZAWA et al., 1999). Estudos observaram que o ácido oleico é o maior composto dos ácidos graxos insaturados e o ácido palmítico é o segundo maior composto (MANTOVANI et al., 2003; SCHAUSS et al., 2006; FERREIRA, 2016a).

Atualmente há um aumento constante em investigações de corantes alimentares naturais e fontes alimentares funcionais, não só devido às preferências do consumidor por pigmentos naturais, mas também por seus benefícios relacionados à saúde (MEYER et al., 1997; SKREDE et al., 2000). O açai apresenta em sua composição química altas concentrações de compostos fenólicos, como flavonoides e antocianinas, pigmentos responsáveis pela coloração roxa do fruto (DIAS et al., 2012, DIAS et al., 2013; SCHAUSS 2016).

Há estudos crescentes de que o consumo de uma variedade de compostos fenólicos presentes nos alimentos, possa reduzir o risco de doenças devido à sua atividade antioxidante. Estes são considerados os alimentos funcionais (LOBO et al., 2010; GÓMEZ-ESTACA et al., 2014; SHAHIDI et al., 2015; GALANO et al., 2016).

A classe dos flavonoides é um dos grupos de compostos com maior atividade antioxidante e são usados como suplementos em organismos aquáticos para a conservação e aumento do “shelf time” no camarão *L. vannamei*, linguados (*Paralichthys olivaceus*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), devido à preservação da propriedade de sabor e textura na carne dos animais (GAI, 2015; LI, 2016; LI, 2017).

No Brasil uma das maiores fontes naturais de flavonoides é o fruto *Euterpe oleracea Mart.*, amplamente conhecido como açai. Segundo ODENDAAL e SCHAUSS (2014) e MARTINO (2016), a polpa do açai apresenta nos consumidores uma relação de ação vasodilatadora, anti-hipertensiva, anti-inflamatória, ação na redução dos fatores de risco em desordens metabólicas.

Nesse contexto, há claramente uma lacuna na literatura sobre os possíveis benefícios que o açai pode trazer na produção do *L. vannamei*, principalmente na região brasileira onde há uma grande produção desse fruto.

Assim, o presente trabalho visa avaliar o efeito da adição do açai (*Euterpe oleracea*) na dieta do camarão branco (*L. vannamei*) produzidos em sistema de bioflocos, verificando o desempenho zootécnico, a coloração e as respostas bioquímicas do animal. Em termos mais específicos propõe-se: (1) avaliar o desempenho zootécnico e composição centesimal do *L. vannamei*, alimentados com diferentes níveis de inclusão e açai *Euterpe oleracea* na dieta; (2) analisar a coloração no abdome e no cefalotórax nos camarões não cozidos e cozidos, avaliando os valores L\* (luminosidade) e os valores das coordenadas de cromaticidade a\* e b\*; (3) quantificar compostos fenólicos totais e flavonoides totais na ração, no biofoco, no biofilme no músculo, nas brânquias e no hepatopâncreas do *L. vannamei*; e (4) avaliar a capacidade antioxidante do músculo e do biofilme dos camarões alimentados com as dietas suplementadas com diferentes proporções de açai *Euterpe oleracea*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Delineamento experimental**

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquacultura (EMA) do Instituto de Oceanografia (IO) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), localizado na região sul do Brasil.

O sistema de cultivo para o experimento foi de bioflocos. Antes de introduzir os camarões foi utilizado um inoculo de 25% de água com bioflocos (aproximadamente 12,5 L) de um tanque de cultivo superintensivo de *Litopenaeus vannamei* com 90 dias de duração. E o restante do volume dos tanques foi preenchido com água marinha filtrada, previamente clorada a 10 ppm e declorada com ácido ascórbico (1g para cada 1000 L de água). Depois de 24 horas foram introduzidos os camarões nas unidades experimentais.

As larvas de *L. vannamei* foram adquiridos do laboratório comercial (Aquatec), e mantidos até a fase de pós-larvas no setor de larvicultura do laboratório de Carcinocultura. Na fase de berçário, ao atingir o tamanho de 0,9 g, os juvenis foram transferidos para as respectivas unidades experimentais de uma das salas da larvicultura. Ao início do experimento foi realizada uma biometria inicial (n=30) para estimar o peso médio dos camarões a serem estocados.

A distribuição dos animais no experimento seguiu uma divisão aleatória destes em quantidades idênticas para 16 unidades experimentais de 40 litros, sendo 4 tratamentos 0 (grupo controle sem adição da polpa), 2,5, 5 e 10% de inclusão do açaí, foram 4 repetições com 20 camarões por unidade. A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia (9:00 e 15:00). A taxa de arraçoamento inicial foi igual a 25% da biomassa total de camarões do tanque (JORY et al. 2001) sendo esta taxa posteriormente ajustada de acordo com o consumo dos camarões. A ração foi fornecida em bandejas de alimentação de acordo com a metodologia descrita por Wasielesky et al. (2006). Toda semana 10 camarões foram coletados aleatoriamente de cada unidade experimental e pesados individualmente em balança de precisão de 0,01g.

### *2.1.1. Parâmetros físico-químicos da água*

A temperatura, oxigênio dissolvido, e pH foram aferidos duas vezes ao dia, a temperatura e oxigênio dissolvido com oxímetro digital multiparâmetros (YSI®-550A) e pH com o um pHmetro digital ( $\pm 0,01$ , YSI®-pH100). A salinidade foi aferida 3 vezes na semana, para controle usando o um refratômetro ATAGO®. As análises de amônia total (N-AT) ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) (UNESCO, 1983) e nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ), foram mensuradas duas vezes por semana, e a de nitrato ( $\text{NO}_3$ ) e fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) uma vez por semana conforme metodologias propostas por Strickland & Parsons (1972). A alcalinidade foi analisada uma vez por semana, seguindo a metodologia proposta por APHA (1998). Para análise dos sólidos suspensos totais, foram coletadas amostras de 20 mL de cada tanque semanalmente para filtragem. O método de análise foi o de Strickland & Parsons (1972), obtido pela diferença de peso seco inicial e final do material retido em filtro de  $0,45 \mu\text{m}$  de porosidade.

O tempo de duração do experimento foi de 42 dias. Ao fim do período experimental, os camarões de cada unidade experimental foram contados e pesados individualmente.

## **2.2.Preparo das rações**

O experimento avaliou quatro dietas elaboradas na proporção de 0 (grupo controle) e as demais foram suplementadas com a polpa de açaí liofilizado 2,5, 5 e 10% de inclusão. As rações mantiveram-se isoprotéicas e isolipídicas com aproximadamente 35% de proteína, 6% de extrato etéreo (Tabela 1).

Para a formulação das rações, previamente foi realizada a análise da composição bromatológica dos ingredientes conforme metodologia descrita pela AOAC (1999).

Onde a análise da matéria seca (MS) foi realizada em estufa a 102°C por 5 h; para cinzas (MM) as amostras foram levadas à mufla a 600°C por 6 h; a análise de proteína bruta (PB) foi realizada de acordo a metodologia de Kjeldahl, após digestão da amostra e destilação do nitrogênio, multiplicando-se o resultado por 6,25; o extrato etéreo (EE) foi efetuado em extrator de Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente, por 6 h. (SILVA & QUEIROZ, 2009). O extrativo não nitrogenado foi calculado pela diferença dos valores somados de proteína bruta, extrato etéreo e cinzas.

**Tabela 1** -Composição (g/100g) dos ingredientes avaliados nas dietas experimentais oferecidos ao *L. vannamei*, níveis de suplementação do açaí e composição proximal na matéria seca das rações.

<b>Ingredientes</b>	<b>Proteína Bruta</b>	<b>Extrato Etéreo</b>	<b>Cinzas</b>	<b>ENN (Extrato não nitrogenado)<sup>1</sup></b>	<b>Umidade</b>	<b>Fibra</b>
<b>Farinha de Peixe</b>	71,46	4,47	16,28	7,79	5,1	0,71
<b>Polpa de açaí liofilizado<sup>2</sup></b>	10,54	42,00	3,02	31,44	8,22	13,00
<b>Níveis de inclusão</b>						
<b>Ingredientes</b>	<b>0% (controle)</b>	<b>2,5%</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>		
<b>Farinha peixe</b>	27,00%	27,00%	27,00%	27,00%		
<b>Farelo de Soja<sup>3</sup></b>	25,00%	25,00%	24,00%	23,40%		
<b>Levedura de cervejaria<sup>4</sup></b>	5,00%	5,00%	5,00%	5,00%		
<b>Amido de Milho<sup>5</sup></b>	23,00%	22,00%	22,05%	19,70%		
<b>Farelo de Trigo<sup>6</sup></b>	5,60%	5,60%	5,60%	5,60%		
<b>Óleo de Peixe<sup>7</sup></b>	3,90%	2,75%	1,65%	0,00%		
<b>Mist. Mineral e vit.<sup>8</sup></b>	1,00%	1,00%	1,00%	1,00%		
<b>Colesterol<sup>9</sup></b>	0,50%	0,50%	0,50%	0,50%		
<b>Fosfato de cálcio<sup>10</sup></b>	2,00%	2,00%	2,00%	2,00%		
<b>Celulose<sup>11</sup></b>	7,000%	6,650%	6,200%	5,8%		
<b>Polpa de açaí Liofilizado</b>	0,000%	2,500%	5,000%	10%		
<b>Composição proximal na matéria seca das rações</b>						
<b>Proteína (%)</b>	36,8 ±1,37	36,4 ± 0,81	34,9 ±0,12	35,3 ± 0,12		
<b>ENN (%)</b>	38,7 ±1,15	38,8 ± 1,79	38,8 ±0,19	38,5 ± 0,40		
<b>Extrato etéreo (%)</b>	6,4 ±0,07	6,1 ±0,10	6,0 ±0,05	6,8 ± 0,10		
<b>Umidade (%)</b>	4,3 ±0,06	3,5 ±0,29	3,0 ±0,29	3,7 ± 0,12		
<b>Cinzas (%)</b>	8,7 ±0,12	8,0 ±0,77	8,7 ±0,00	8,8 ± 0,00		

- <sup>1</sup>ENN= 100 - (proteína bruta + extrato etéreo + cinzas+ umidade).  
<sup>2</sup> Empresa Amazon Comercio de acai liofilizado e exportação Ltda, Pará, Brasil.  
<sup>3</sup> Sulinos, Rio Grande do Sul, Brasil.  
<sup>4</sup> Relva Verde, Paraná, Brasil.  
<sup>5</sup> Maisena, Pernambuco, Brasil.  
<sup>6</sup> Sulinos, Rio Grande do Sul, Brasil.  
<sup>7</sup> Indústria e comércio de óleos vegetais Campestre, São Paulo, Brasil.  
<sup>8</sup> Vitamina A (500.000 UI/kg), Vit. D3 (250.000 UI/kg), Vit. E (5.000 mg/kg), Vit. K3 (500 mg/kg), Vit. B1 (1.000 mg/kg), Vit. B2 (1.000 mg/kg), Vit. B6 (1.000 mg/kg), Vit. B12 (2.000 mcg/kg), Niacina (2.500 mg/kg), Pantotenato de Cálcio (4.000 mg/kg), Ácido Fólico (500 mg/kg), Biotina (10mg/kg), Vit. C (10.000 mg/kg), Colina (100.000 mg/kg), Inositol (1.000 mg/kg), Selênio (30 mg/kg), Ferro (5.000 mg/kg), Cobre (1.000 mg/kg), Manganês (5.000 mg/kg), Zinco (9.000 mg/kg), Cobalto (50 mg/kg), Iodo (200 mg/kg).  
<sup>9</sup> INLAB, Rio Grande do Sul, Brasil  
<sup>10</sup> Dinâmica Quimi. Contemp. Ltda. Rio Grande do Sul, Brasil.  
<sup>11</sup> Labyrinth Produtos para laboratório Ltda., São Paulo, Brasil.

O farelo de soja, a farinha de peixe e o farelo de trigo foram moídos com auxílio de um moedor elétrico com malha de 100 µm. Os demais ingredientes foram obtidos já prontos para fazer a mistura. Para o preparo das dietas primeiramente foram colocados em uma bateadeira, procedendo com a mistura dos ingredientes da menor proporção para a maior, e em seguida o óleo de peixe e água à 50°C, buscando a homogeneização completa. Após obter uma pasta firme, essa foi peletizada utilizando moedor de carne. Logo os pellets foram levados à estufa com circulação forçada de ar com temperatura de 60°C durante 24 h. O tamanho dos pellets foi ajustado com peneiras, conforme o nível de desenvolvimento dos camarões, de acordo com Jory *et al.* (2001). As rações foram armazenadas em sacos plásticos e conservadas em freezer à -18°C até o momento da utilização.

### 2.3. Desempenho dos camarões

Para obtenção dos parâmetros zootécnicos, os camarões de cada unidade experimental foram contados e pesados individualmente em balança de precisão (0,01 g) ao final do experimento. A avaliação do desempenho zootécnico foi realizada por meio dos seguintes índices:

1. Ganho de peso (g) = peso final – peso inicial;
2. Conversão alimentar aparente = ração fornecida / ganho de peso;
3. Taxa de crescimento específico =  $[(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{dias de criação}] \times 100$ ;
4. Sobrevivência (%) =  $(\text{quantidade final de animais} / \text{quantidade inicial dos animais}) \times 100$ ;
5. Ganho em peso relativo (%) =  $100 \times (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{peso inicial}$ .

Após pesar os camarões para o cálculo de desempenho zootécnico, os animais foram mortos com nitrogênio líquido, e logo foram dessecados os tecidos (musculo, hepatopâncreas, brânquias) e estocados em um ultrafreezer -80°C, para as posteriores análises.

#### **2.4.Coleta do biofoco e do biofilme**

O biofoco foi colocado em cones imhoff de acordo com Avnimelech (2012), esperou-se a decantação, e logo foi retirado em um tubo falcon de 15ml de amostra de cada unidade experimental, e em seguida as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 10.000 x g a 4 °C, sendo removido a água e a massa que restou, foi colocada em tubos de eppendorf e depois estocados em um ultrafreezer -80°C, para as posteriores análises.

As amostras de biofilme foram coletados nas paredes das unidades experimentais em tubo falcon de 15 ml e também centrifugou-se por 5 minutos a 10.000 x g a 4 °C, sendo removido a água e o precipitado, foi em tubos de eppendorf e depois estocou0se em um ultrafreezer -80°C, para as posteriores análises.

#### **2.5.Análises proximal da carcaça**

Para a quantificação de proteína, lipídeos, cinza e matéria seca, foram feitas as análises da composição proximal de sete indivíduos, por réplica de cada unidade, no LANOVA/FURG, segundo metodologia descrita pela AOAC (1999): a análise da matéria seca (MS) foi realizada em estufa a 102°C por 5 h; para cinzas (MM) as amostras foram levadas à mufla a 600°C por 5 h; a análise de proteína bruta (PB) foi efetuada de acordo com a metodologia de Kjeldahl, após digestão da amostra e destilação do nitrogênio, multiplicando-se o resultado por 6,25; extrato etéreo (EE) foi obtido no extrator de Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente, por 6h.

#### **2.6.Análises bioquímicas**

Para as análises de bioquímicas, foram utilizados três camarões de cada replica, sendo 12 camarões por tratamento. Estes foram homogeneizadas em metanol 100% numa relação de 1:4 (g/v) para as análises de ração; 1:1 para o biofilme e o biofoco, sendo que para as demais amostras (brânquias, musculo e hepatopâncreas) foram de 1:2. Após a homogeneização, as amostras foram transferidas para eppendorfs cobertos com papel alumínio, prontamente agitadas durante três horas em uma caixa de isopor

contendo gelo. A seguir as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 x g a 4 °C. Logo foi retirado o sobrenadante para a realização das análises de polifenóis totais e flavonoides totais. Nas amostras do músculo e do biofilme foram realizados a dosagem da capacidade antioxidante total pelo método de DPPH.

#### 2.6.1. *Determinação do conteúdo de polifenóis totais*

Os compostos fenólicos totais foram determinados, em triplicata, por espectrometria de UV/visível usando o protocolo de Gajula et al. (2009).

As análises do tecido do camarão e da ração. Foi adicionada 25 µl da amostra em eppendorf, em seguida foi adicionado 625 µl do reagente Folin-Ciocalteu 0,1M. Após 5 min, adicionou-se 500 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7%(P/V). Logo foi incubado por 60 min na escuridão e lido a 740nm. A estimativa de concentração de fenóis foi realizada com uma curva de calibração da quercetina, cuja faixa de concentração variou entre 1,5312 a 100 µg/mL, com linearidade demonstrada pelo R<sup>2</sup> de 0,99.

Para as amostras de bioflocos e biofilme. Foi adicionada 50 µl da amostra no eppendorf, em seguida foi adicionado 1,25 ml do reagente Folin-Ciocalteu 0,1M. Após 5 min, adicionou-se 1 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7%(P/V). Logo foi incubado também por 60 min na escuridão e lido a 740nm. A estimativa de concentração de fenóis foi realizada com uma curva de calibração da quercetina, cuja faixa de concentração variou entre 6, 125 a 100 µg/mL, com linearidade demonstrada pelo R<sup>2</sup> de 0,99.

#### 2.6.2. *Determinação de flavonoides totais*

O teor de flavonoides totais determinado nas amostras de ração e nos tecidos do camarão coletadas ao final do experimento. Seguinte a metodologia de Gajula et al. (2009). Para as amostras do tecido de camarão e da ração foi adicionado 160 µl, logo 110 µl de metanol e em seguida 80 µl de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) a 5% (em metanol) foi incubada a placa por 30 min a temperatura ambiente e no escuro e logo após lida em 450nm em leitora de microplacas (Biotek Elx 800). A estimativa da concentração dos flavonoides foi realizada com uma curva de calibração da quercetina, cuja faixa de concentração variou entre 0,07812 a 5 µg/mL, com linearidade demonstrada pelo R<sup>2</sup> de 0,99 t.

Nas amostras de bioflocos e biofilme foram colocadas 50 µl da amostra, 50 µl de água destilada, logo 37,5 µl de nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) em água destilada incubando por 6 minutos. Depois foi adicionado 75 µl de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) a 10% (em

metanol) incubando também por 5 min. Finalmente foi colocado 250 µl de hidróxido de sódio (NaOH) sendo logo a placa incubada por 30 min a temperatura ambiente e no escuro para finalmente ser lida em 450nm em leitora de microplacas (Biotek Elx 800). A estimativa da concentração dos flavonoides foi realizada com uma curva de calibração da quercetina, cuja faixa de concentração variou entre 0 a 50 µg/mL, com linearidade demonstrada pelo R<sup>2</sup> de 0,99 t.

### 2.6.3. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2- Difetil-1-picrilhidrazilo) no músculo do camarão e no biofilme.

O método utilizado está baseado na capacidade do radical DPPH em reagir com doadores de hidrogênio. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe um átomo de hidrogênio, sendo então reduzido. O ensaio é iniciado pela adição de DPPH à amostra, então a capacidade da amostra de reduzir o DPPH é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Isto pode ser determinado espectrofotometricamente, toda vez que o radical DPPH tem absorvância em 515 nm (cor violeta escura) e quando reduzido fica de cor violeta clara, se verificando uma queda na absorvância. Desta forma, quanto maior a capacidade do antioxidante (RH) em doar hidrogênio, maior a queda de absorvância que será registrada.

Preparou-se uma solução de 200 µM de DPPH (4mg de DPPH diluído em 50 ml de metanol). Foi então adicionado em uma placa transparente 50µL de amostra e 200 µL da solução e imediatamente foi realizada a leitura a 515 nm durante 15 minutos, sendo uma leitura a cada minuto para montar a curva de absorvância. A atividade antioxidante (AE) foi aferido pela seguinte equação.

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = (A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}} * 100$$

**A<sub>controle</sub>**: absorvância da solução de DPPH sem a amostra.

**A<sub>amostra</sub>**: absorvância da amostra com DPPH.

## 2.7. Análise de cor no tecido do camarão

A cor foi determinada utilizando um colorímetro digital marca Minolta®, modelo CR400 (MINOLTA, 1993). Avaliando os valores L\* (luminosidade) e os valores das coordenadas de cromaticidade a\* e b\* na região do cefalotórax e do abdômen em camarões não cozidos e cozidos (2 min a 70 °C).

## 2.8. Análises estatística

Os dados de desempenho zootécnico foram submetidos à um modelo misto de análise de variância (ANOVA) e quando houve diferenças estatísticas as médias foram contrastadas por meio do teste Newman-Keuls, ( $\alpha = 0,05$ ). A inclusão de açaí foi o fator fixo e as unidades experimentais foram o fator aleatório. Para a análise estatística dos parâmetros de qualidade de água foi usada a análise de variância (ANOVA) de uma via (fato % de inclusão de açaí). Previamente os pré supostos de normalidade e homogeneidade das variâncias foram avaliadas pelos testes de Shapiro –Wilks e Levene respectivamente.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Parâmetros físico-químicos da água

As médias dos resultados obtidos de cada tratamento para a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), o oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), o pH a salinidade (%), amônia, nitrito e nitrato durante o período experimental (Tabela 2) não apresentou diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ) nos diferentes grupos.

**Tabela 2-** Parâmetros físicos e químicos da água e sólidos totais (médias  $\pm$  desvio padrão) nos tratamentos 0% (controle), 2,5%, 5 e 10% de inclusão de açaí, durante o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema BFT.

Tratamentos	0% (controle)	2,5%	5%	10%
O.D. ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	5,01 $\pm$ 0,09	5,13 $\pm$ 0,34	5,07 $\pm$ 0,19	5,04 $\pm$ 0,03
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	28,78 $\pm$ 0,23	28,29 $\pm$ 0,38	28,86 $\pm$ 1,52	28,55 $\pm$ 0,56
pH	7,99 $\pm$ 0,08	8,06 $\pm$ 0,15	8,04 $\pm$ 0,12	8,01 $\pm$ 0,05
Salinidade ppm	34,67 $\pm$ 0,32	34,60 $\pm$ 1,46	34,28 $\pm$ 1,23	34,20 $\pm$ 0,66
Alcalinidade ( $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ )	125,71 $\pm$ 27,31	153,53 $\pm$ 13,99	156,01 $\pm$ 36,72	128,57 $\pm$ 22,67
Fosfato ( $\text{m.g L}^{-1}$ )	0,30 $\pm$ 0,05	0,29 $\pm$ 0,06	0,32 $\pm$ 0,09	0,29 $\pm$ 0,06
NAT ( $\text{m.g L}^{-1}$ )	0,07 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01
Nitrito ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,35 $\pm$ 0,22	0,29 $\pm$ 0,29	0,82 $\pm$ 1,01	0,28 $\pm$ 0,29
Nitrato ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	46,87 $\pm$ 11,20	49,66 $\pm$ 6,30	50,77 $\pm$ 3,86	48,56 $\pm$ 1,34
Sólidos Totais (SST) ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	178 $\pm$ 27,87	207,50 $\pm$ 87,23	211,25 $\pm$ 65,14	170,00 $\pm$ 83,00

\*A análise por ANOVA indicou que não teve diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) para nenhuma das variáveis medidas

As médias de temperatura, salinidade e pH ao longo do período experimental foram 28,6  $^{\circ}\text{C}$  ( $\pm$  0,2 $^{\circ}\text{C}$ ), 34,5 ( $\pm$  0,84) e 8,0 ( $\pm$  0,10), respectivamente. A concentração média de oxigênio dissolvido (O.D.) foi de 7,30  $\text{mg.L}^{-1}$  ( $\pm$  0,37  $\text{mg.L}^{-1}$ ). A amônia total

na água se manteve em torno de  $0,08 \pm 0,02$  mg /L e foi mensurada semanalmente juntamente com o nitrito ( $0,32 \pm 0,58$  mg.L<sup>-1</sup>) e o nitrato ( $49,55 \pm 6,33$  mg.L<sup>-1</sup>). Os sólidos suspensos foi de  $178,75 (\pm 64,69)$  mg/L.

### 3.2. Avaliação de desempenho zootécnico

Os parâmetros zootécnicos obtidos ao final do experimento estão na Tabela 3. Não foram verificadas variações nos parâmetros zootécnicos e na sobrevivência ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 3.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão (n=10) do peso e indicadores de desenvolvimento de *L. vannamei* ao final de 43 dias de experimento.

Inclusão de açaí na dieta	Ganho de Peso (g)	Ganho de Peso (g) semana	Taxa de Conversão Alimentar (%)	Taxa de Crescimento Específico (%)	Sobrevivência (%)
Controle	$3,33 \pm 0,08$	$0,52 \pm 0,13$	$2,1 \pm 0,1$	$7,74 \pm 0,18$	$92,50 \pm 4,7$
2,5%	$3,36 \pm 0,12$	$0,58 \pm 0,08$	$2,0 \pm 0,08$	$7,81 \pm 0,28$	$97,5 \pm 3,5$
5%	$3,33 \pm 0,09$	$0,55 \pm 0,081$	$2,2 \pm 0,2$	$7,75 \pm 0,21$	$85 \pm 8,6$
10%	$3,30 \pm 0,08$	$0,60 \pm 0,06$	$1,8 \pm 0,02$	$7,68 \pm 0,20$	$100 \pm 0,0$

\* Não houve diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para todas as variáveis medidas.

### 3.3. Análises proximal da carcaça

Os valores dos lipídeos da carcaça dos camarões alimentados com as dietas com inclusão de açaí (2,5%, 5% e 10%) (Tabela 4), mostrou diferenças estatísticas significativas comparando com o controle ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4.** Composição centesimal (média  $\pm$  desvio padrão) da matéria seca do *L. vannamei* cultivado em sistema superintensivo de bioflocos, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de açaí.

Inclusão de açaí na dieta	Proteína (%)	Extrato Etéreo (%)	Extrato Não nitrogenado (%)	Cinza (%)	Umidade (%)
Controle	$68,3 \pm 0,8^a$	$3,4 \pm 1,9^c$	$16,0 \pm 0,3^a$	$11,6 \pm 0,5^a$	$75,3 \pm 0,7^a$
2,5%	$68,0 \pm 3,6^a$	$6,7 \pm 0,7^{ab}$	$12,4 \pm 1,7^a$	$11,8 \pm 0,2^a$	$69,5 \pm 0,0^a$
5%	$66,9 \pm 4,3^a$	$5,4 \pm 0,6^b$	$14,0 \pm 3,7^a$	$11,4 \pm 0,4^a$	$74,9 \pm 0,5^a$
10%	$66,0 \pm 0,8^a$	$7,7 \pm 0,7^a$	$13,4 \pm 0,5^a$	$11,4 \pm 1,2^a$	$75,2 \pm 0,6^a$

\* As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p < 0,05$ ).

### 3.4. Análise de Cor

Os valores de cor do camarão do cefalotórax e no abdômen não cozidos e cozidos estão apresentados nas Tabelas 5 e 6. Foram observadas alterações no padrão de

coloração no parâmetro L\* na região do cefalotórax dos camarões não cozidos, alteração ( $p < 0,05$ ) no parâmetro a\* no abdome dos camarões não cozidos e cozidos.

**Tabela 5.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão ( $n=8$ ) dos valores L\* (luminosidade) que variam entre zero (preto) e 100 (branco) e os valores das coordenadas de cromaticidade a\* e b\*, que variam de  $-a^*$  (verde) até  $+a^*$  (vermelho), e de  $-b^*$  (azul) até  $+b^*$  (amarelo) do cefalotórax do *L. vannamei*. Ctr.: grupo controle

Dieta	Não cozido			Cozido		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Ctr.	42,87 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>	-0,11 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	6,52 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	58,38 $\pm$ 5,9 <sup>a</sup>	6,36 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	13,57 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>
2,5%	38,72 $\pm$ 4,0 <sup>ab</sup>	0,39 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	4,51 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>	54,34 $\pm$ 5,1 <sup>a</sup>	4,5 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	10,91 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>
5%	39,61 $\pm$ 4,3 <sup>ab</sup>	0,24 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	4,43 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	52,04 $\pm$ 7,8 <sup>a</sup>	4,67 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	11,07 $\pm$ 3,0 <sup>a</sup>
10%	34,26 $\pm$ 2,7 <sup>b</sup>	1,04 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	3,11 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	47,09 $\pm$ 7,9 <sup>a</sup>	6,97 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	10,65 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>

\* As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p < 0,05$ ).

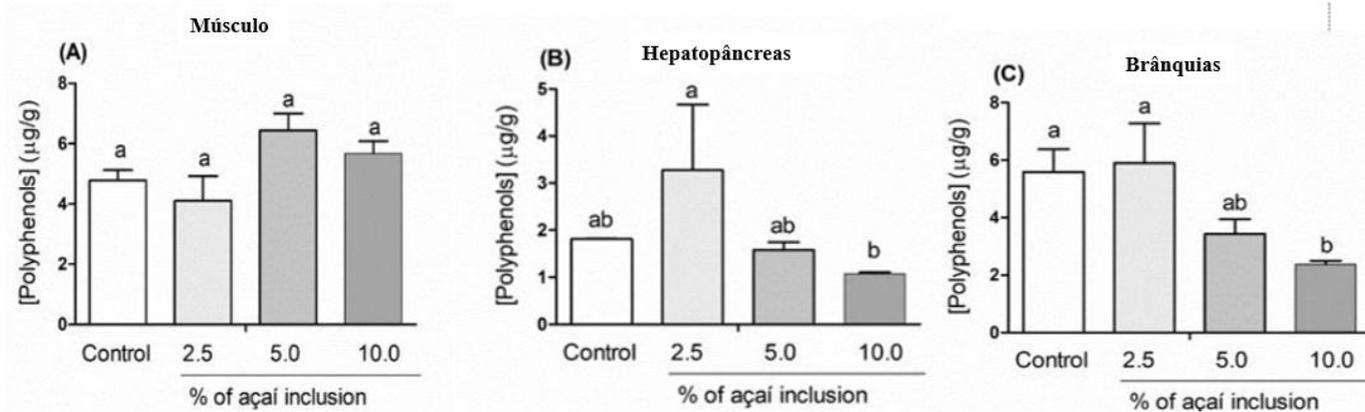
**Tabela 6.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão ( $n=8$ ) dos valores L\* (luminosidade) que variam entre zero (preto) e 100 (branco) e os valores das coordenadas de cromaticidade a\* e b\*, que variam de  $-a^*$  (verde) até  $+a^*$  (vermelho), e de  $-b^*$  (azul) até  $+b^*$  (amarelo) do abdômen do *L. vannamei*. Ctr.: grupo controle

Dieta	Não cozido			Cozido		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Ctr.	42,87 $\pm$ 1,3 <sup>ab</sup>	-1,57 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	2,44 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	68,9 $\pm$ 4,1 <sup>a</sup>	3,70 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	42,87 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>
2,5%	44,06 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	-1,31 $\pm$ 0,3 <sup>ab</sup>	1,89 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	70,29 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	3,19 $\pm$ 1,8 <sup>ab</sup>	44,06 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>
5%	42,25 $\pm$ 1,6 <sup>ab</sup>	-0,97 $\pm$ 0,6 <sup>ab</sup>	2,40 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	62,83 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>	4,28 $\pm$ 2,6 <sup>ab</sup>	42,25 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>
10%	41,39 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>	-0,850 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,41 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	65,82 $\pm$ 6,4 <sup>a</sup>	6,28 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	41,39 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>

\* As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p < 0,05$ ).

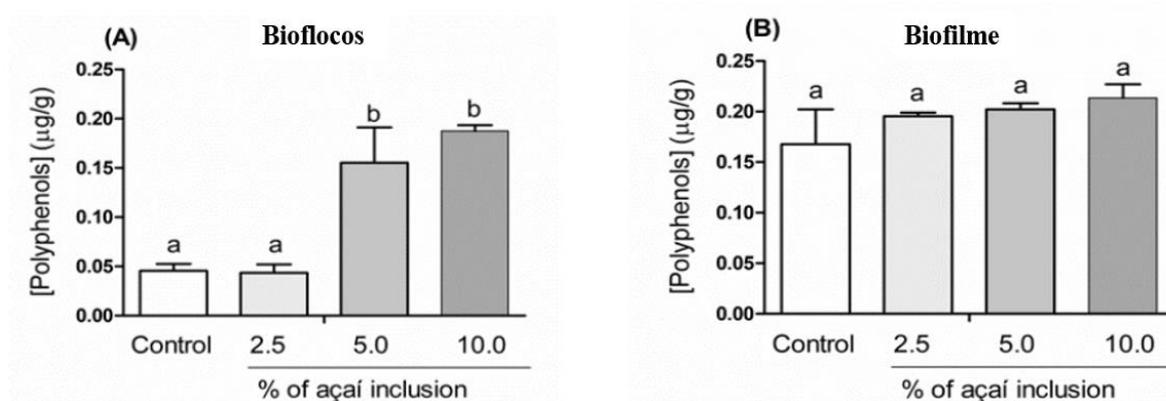
### 3.5. Polifenóis totais

O músculo não teve diferenças significativas do teor de polifenóis totais entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (Fig. 1A). No hepatopâncreas houve diferenças estatísticas, entre a inclusão de 2,5% de açaí, com valores mais elevados do que a inclusão de 10% de açaí (Fig. 1 B). Nas brânquias dos camarões do grupo controle juntamente com 2,5% de inclusão de açaí teve valores superiores ( $p < 0,05$ ) quando comparados com o tratamento com 10% de inclusão do açaí. (Fig. 1 C).



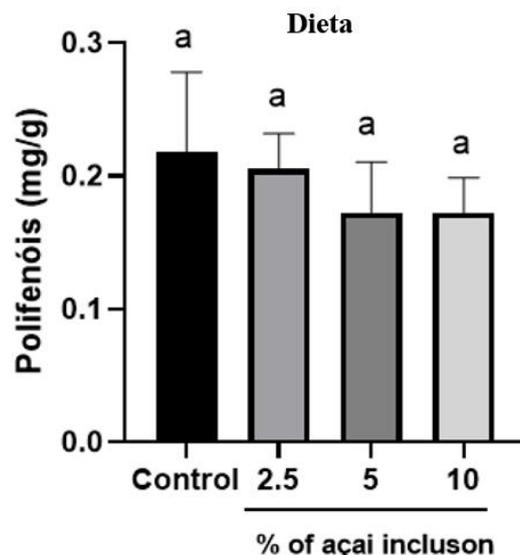
**Figura 1.** Polifenóis no músculo (A) hepatopâncreas (B) e brânquias (C) no *L. vannamei* em sistema BFT com diferentes concentrações na dieta com a inclusão de açaí. As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

A concentração de polifenóis no biofoco foi superior nos tratamentos com 5 e 10% de inclusão de açaí ( $p < 0.05$ ) (Fig. 2 A). Já no biofilme não houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (Fig. 2B).



**Figura 2.** Polifenóis no Biofoco (A) Biofilme (B) com diferentes níveis de inclusão de açaí. As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

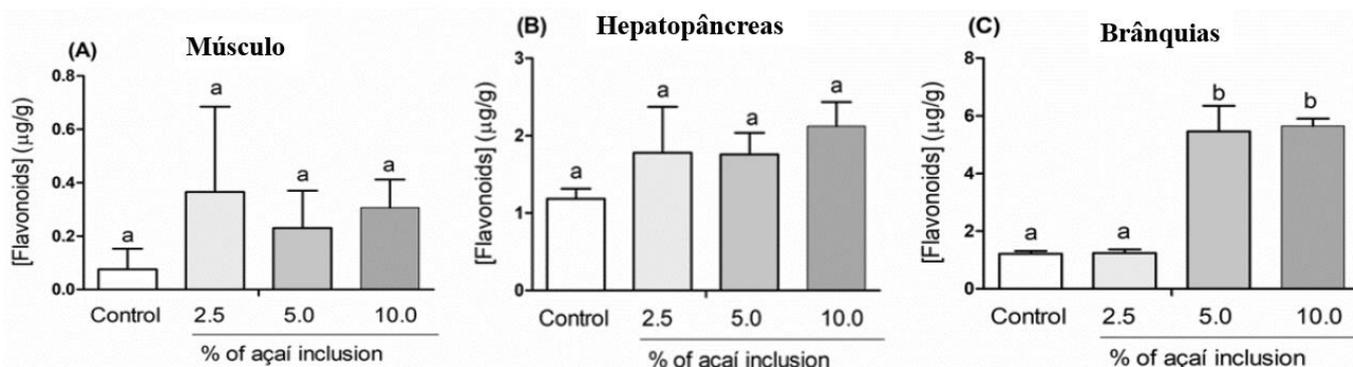
Os valores de polifenóis da ração não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3)



**Figura 3.** Polifenóis na ração com diferentes níveis de inclusão de açaí. Não houve diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p > 0.05$ ).

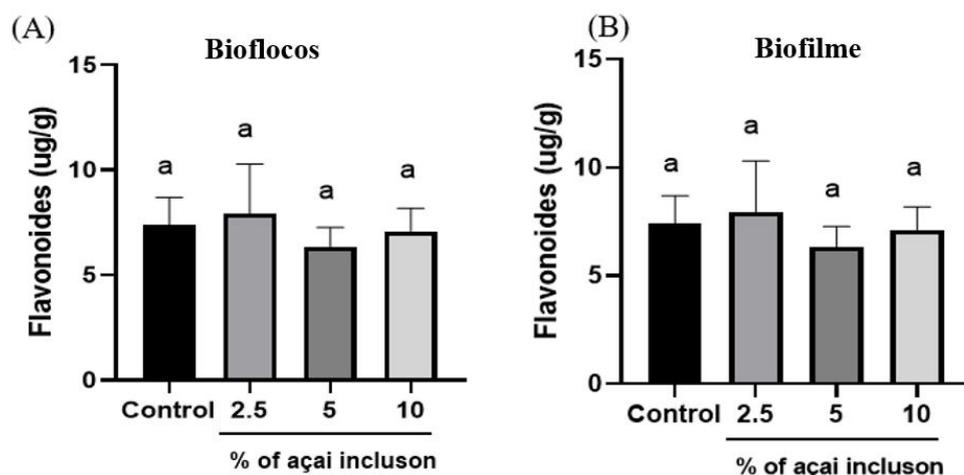
### 3.6. Flavonoides totais

O teor de flavonoides foi inferior no músculo quando se compara com os outros tecidos. Neste tecido não houve diferenças significativas ( $p > 0.05$ ) entre os tratamentos. (Fig. 4 A). No tecido do hepatopâncreas também não houve diferenças significativas ( $p > 0.05$ ) entre os tratamentos. (Fig. 4 B). Nas brânquias o controle e 2,5% de inclusão de açaí apresentaram menores valores quando comparados com os tratamentos 5 e 10 % de inclusão de açaí ( $p < 0.05$ ) (Fig. 4C).



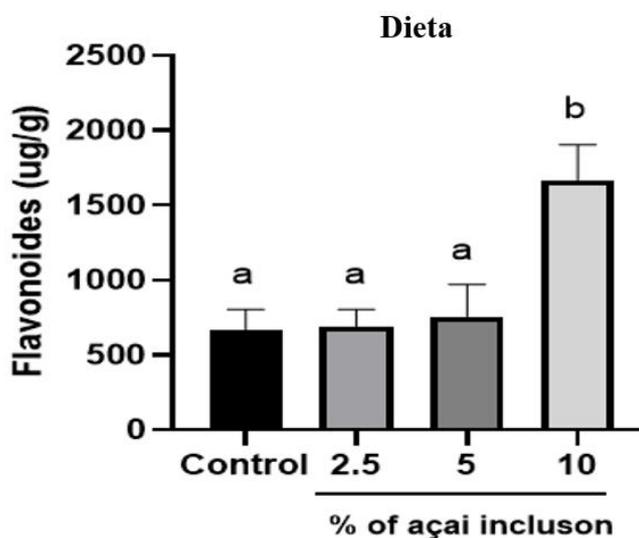
**Figura 4.** Flavonoides totais no músculo (A) hepatopâncreas (B) e brânquias (C) no *L. vannamei* em sistema BFT com diferentes níveis de inclusão de açaí. As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p < 0.05$ ).

A concentração de flavonoides no biofilme não houve diferenças significativa ( $p > 0.05$ ) (Fig. 5A). No biofilme também não houve diferenças significativas ( $p > 0.05$ ) entre os tratamentos conforme aumentava a inclusão de açaí (Fig. 5 B).



**Figura 5.** Flavonoides totais no bioflocos (A) biofilme (B) no sistema BFT com diferentes níveis de inclusão de açai na dieta. Não houve diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p > 0.05$ ).

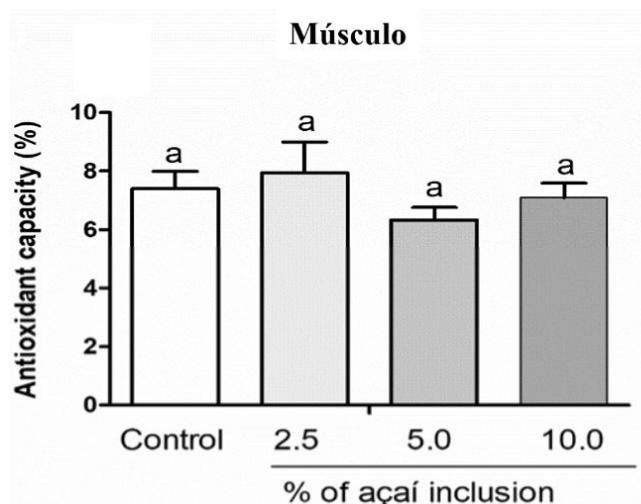
A concentração de flavonoides na ração houve diferenças significativa ( $p < 0.05$ ), entre os tratamentos, apresentando um valor superior na maior inclusão de açai (Fig. 6).



**Figura 6.** Flavonoides totais na ração com diferentes níveis de inclusão de açai. As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p < 0.05$ ).

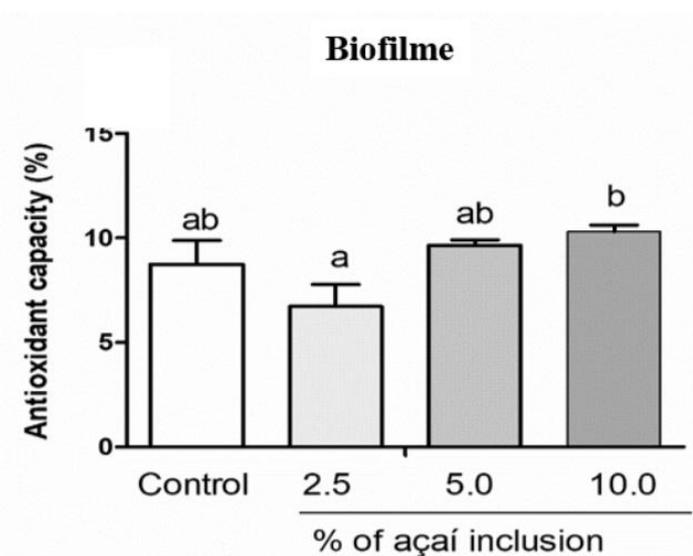
### 3.7. Capacidade antioxidante total pelo método do DPPH no músculo e do biofilme.

A capacidade antioxidante total no músculo do camarão não teve diferenças significativas ( $p > 0.05$ ), entre os tratamentos (Fig. 7).



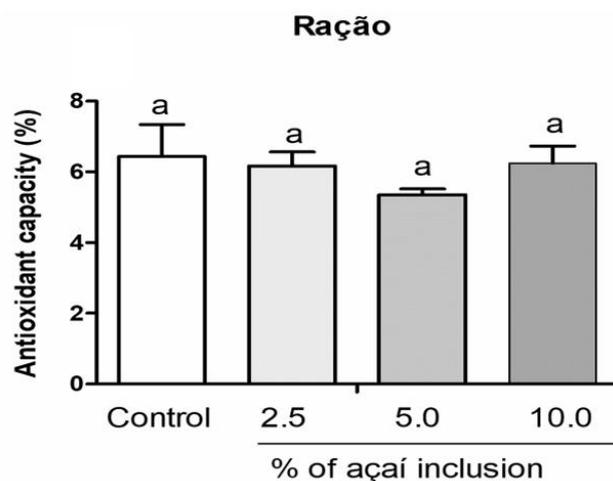
**Figura 7.** Capacidade antioxidante pelo método de DPPH do músculo no *L. vannamei* em sistema BFT com diferentes níveis de inclusão de açai na dieta. Não houve diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p>0.05$ ).

No biofilme houve diferenças significativas ( $p<0.05$ ), quando comparamos 2,5 % de inclusão de açai com 10% de inclusão de açai. (Fig. 8).



**Figura 8.** Capacidade antioxidante pelo método de DPPH do biofilme com diferentes níveis de inclusão de açai na dieta. As letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p<0.05$ ).

A capacidade antioxidante total na ração do camarão não teve diferenças significativas ( $p>0.05$ ), entre os tratamentos (Fig. 9).



**Figura 9.** Capacidade antioxidante pelo método de DPPH da ração com diferentes níveis de inclusão de açai na dieta. Não houve diferenças significativas pelo teste de Newmann-Keuls ( $p > 0.05$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

Em sistemas de cultivo sem renovação de água como o BFT é de suma importância se preocupar com os parâmetros de qualidade de água. Isso se deve ao fato das grandes densidades de estocagem utilizadas, e com isso a qualidade da água pode ser alterada devido ao processo respiratório e de excreção de toda a comunidade microbiana e dos animais que estão sendo cultivados (AVNIMELECH et al., 1995).

No presente estudo os parâmetros de qualidade de água monitorados durante o experimento se mantiveram dentro dos padrões recomendados para o camarão branco *L. vannamei* e não tiveram diferenças estatísticas que comprovassem uma interferência destes na produção.

A temperatura apresentou valores dentro da faixa recomendado por Ponce-Palafox et al. (1997), os quais indicam melhores taxas de crescimento em temperaturas de 25 até 35°C. O oxigênio dissolvido para melhor crescimento e sobrevivência são concentrações acima de 5 mg.L<sup>-1</sup>, e os valores ótimos de pH e alcalinidade para o melhor crescimento do *L. vannamei* encontram-se na faixa de 7-8,3 e  $\geq 100$ mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente (VAN WYK & SCARPA, 1999) valores que foram mantidos no presente estudo. A salinidade esteve dentro da faixa de 33 à 40‰ de acordo com Ponce-Palafox et al. (1997) para um ótimo crescimento e sobrevivência do *L. vannamei*. As

concentrações médias de nitrogênio amoniacal total, nitrito e nitrato também mantiveram dentro dos limites aceitos para o cultivo do *L. vannamei* (LIN & CHEN, 2001, 2003). Samocha et al. (2007) recomenda para sólidos totais (SST) valores abaixo de 500 mg/L para que a densidade dos flocos microbianos seja mantida.

Sobre o desempenho zootécnico este estudo mostra que a inclusão de açai na dieta para o *L. vannamei* não interferiu nas respostas zootécnicas dos animais. Mantendo valores semelhantes ao do controle em todos os parâmetros zootécnicos. No presente trabalho a inclusão de açai 10 % não continha o óleo de peixe (Tabela 1), devido o açai conter quantidades significativas de teor de extrato etéreo. No estudo de Soller *et al* (2018) utiliza o óleo de palma como substituição do óleo de peixe, e também não teve diferenças na sobrevivência ou no ganho de peso, porém na conversão alimentar teve alterações significativas quando se compara com o controle. Para sustentar o rápido crescimento da aquicultura, é importante que a indústria de aquicultura avalie alternativas para a substituição do óleo de peixe (JAKSON, 2006 e 2007; TACON, 2008). Com isso pode-se considerar o fruto do açai, como uma fonte de ácidos graxos de origem vegetal para substituição do óleo de peixe.

A composição centesimal mostrou diferenças na concentração de extrato etéreo dos camarões que receberam a inclusão de açai, poucos animais possuem o sistema de enzimas dessaturases, as quais sintetizam os ácidos graxos insaturados, a polpa de açai é rica em monoinsaturados (MANTOVANI et al., 2003; SCHAUSS et al., 2006; FERREIRA, 2016a), o que indica que os camarões alimentados com a dieta que inclui o açai acumulou no tecido ácidos graxos.

A cor e aparência do camarão cru são usados como critérios de compra pelos consumidores, porém o critério final para aceitação e recompra é baseado em suas características quando cozido (LUCIEN-BRUN et al, 2006 a, b e c; ERICKSON et al., 2007). No cefalotórax houve diferenças significativas na luminosidade entre o controle e a inclusão de 10% de açai, levando a uma queda no brilho (diminuição do parâmetro L\*) nos camarões não cozidos. No parâmetro a\* na região abdominal dos camarões não cozidos e cozidos, a inclusão de açai afetou os parâmetros de coloração do camarão, e houve um aumento na faixa dos vermelhos nos camarões cozidos. Essa característica deve ser devida as antocianinas que são os compostos responsáveis pela cor vermelha escura característica da polpa do açai (IADEROZA, 1992; BOBBIO, 2000). Quanto mais escuro o tom vermelho da polpa do açai, maior será a concentração de antocianinas (LICHTENTHÄLER, 2005). Coïsson et al. (2005), utilizou a antocianina

que está presente no açaí para coloração de iogurtes, e observou que além de obter a cor característica das antocianinas, o *Euterpe oleracea*, pode ser usado como ingrediente funcional para a bebida.

No estudo de Ju et al, (2011), avaliam a astaxantina sintética, comercial e a natural na dieta dos camarões, tal composto é considerado um pigmento com a coloração vermelha, este autor avaliou a luminosidade e as cromaticidade a\* e b\* no músculo de camarões cozidos. Os valores da luminosidade do presente estudo são superiores ao deste autor no mesmo tecido analisado em relação a todas as dietas que foram usadas para o camarão. Os valores da cromaticidade a\* com astaxantina sintética e comercial são inferiores comparados com a inclusão do açaí na dieta do camarão. E o valor da cromaticidade b\* do presente estudo com a adição do açaí tem valores superiores em relação a todas as dietas que Ju et al (2011) utilizou em sua pesquisa.

Os polifenóis no tecido do músculo, no biofilme e na ração não tiveram diferenças entre a dieta controle com as dietas de inclusão do açaí, isso pode ser o efeito de que em todas as dietas formuladas contêm a isoflavona a qual é proveniente da soja (GU et al., 2015; CARDONA et al, 2016; CARRERRA et al., 2016), ingrediente que diminuía conforme a implementação do açaí, para alcançar uma dieta isoproteica e isolipídica para todas as dietas. No hepatopâncreas e brânquias os polifenóis com a inclusão de 2,5% de açaí na dieta dos camarões tiveram teores mais elevados do que os alimentados com a inclusão de 10% de açaí (Figura 1 B e C).

O músculo do camarão não obteve quantidades significativas de flavonoides, comparando com os outros tecidos, possivelmente porque os mesmos podem fazer ligações com as proteínas do biofilme que estão no meio do sistema (ARTS et al 2002; XU et al, 2012; EMERENCIANO, 2013; JAKOBEK, 2015). Segundo Passamonti (2009) e Gonzales (2015) as moléculas dos flavonoides têm dificuldade de ficarem retidas no organismo humano, visto a sua dificuldade de entrar nas células, e quando entram é por meio de transporte ativo. Os componentes que podem entrar geralmente pelo epitélio intestinal possuem um peso molecular menor (PM) 500 g/mol. Por exemplo, Léon et al, 2018 encontraram teores elevados de flavonoides no músculo do camarão, quando subministraram a quercetina no cultivo de biofilme, uma molécula com PM aproximado de 302 g/mol.

Nas brânquias o teor de flavonoides correspondeu de forma diretamente proporcional a concentração de açaí na ração, como os flavonoides poderiam estar dissolvidos na água, estes podem ter sido retidos, pelas lamelas dos animais, dado que a

função deste tecido é de estar filtrando todos os componentes que estão no meio aquático (FREIRE et al, 2008). As brânquias tiveram preferência pelos flavonoides quando se compara com os polifenóis totais, nos tratamentos 5 e 10% de açaí, como já foi visto.

O hepatopâncreas também não teve diferenças, diferente do estudo de Léon et al. (2018), que encontrou como resultado um aumento do teor de flavonoides no hepatopâncreas em relação ao tempo comparando com o controle. O restante dos flavonoides que não fizeram integração com a proteína, pode ter ficado retido no hepatopâncreas não sendo metabolizado para o músculo.

Os bioflocos tiveram maior capacidade de reter os polifenóis da dieta com a inclusão de açaí 5 e 10% na dieta. Em relação aos flavonoides não teve diferenças significativas entre o incremento das concentrações de açaí e o controle. Ao contrário de Léon et al. (2018) que observou diferenças nas concentrações de flavonoides no biofoco com adição de quercetina em relação ao controle.

Por mais que a ração fosse rica em flavonoides no tratamento com a inclusão de açaí 10% este composto não foi detectado com diferenças significativas nos tecidos do camarão, apenas nas brânquias como já foi discutido. E a capacidade antioxidante com a inclusão do açaí foi similar com a do controle, e que a adição deste fruto não aumentou a capacidade antioxidante da ração.

A capacidade antioxidante total pelo método do DPPH, denotou que não há diferenças estatísticas significativas de antioxidantes no músculo do camarão em relação a dieta controle com a dieta com diferentes níveis de inclusão de açaí, isso é devido que o sistema de biofoco em si é uma fonte de antioxidante para o animal (DA SILVA MARTINS, 2015, LÉON, 2018), Segundo os estudos de Cardona *et al.* (2016) o sistema de bioflocos contribui para o subministro de antioxidantes os reprodutores do camarão *Litopenaeus stylirostris* em relação ao desempenho reprodutivo e à saúde das larvas produzidas. E por mais que incrementa-se o açaí não aumentou a capacidade antioxidante no tecido dos camarões. Coïsson et al. (2005), adicionou a antocianina da polpa do açaí em iogurtes, e observou que a junção da *Euterpe oleracea* com o iogurte, os valores de DPPH diminuía em relação ao extrato aquoso original do açaí. Isso pode confirmar que há uma possível conjugação das proteínas com o grupo de flavonoides.

O biofilme é um substrato que promove a sobrevivência e o crescimento do camarão, estes pode atuar como uma fonte alimentar adicional com alta qualidade nutricional, fornecendo nutrientes essenciais como vitaminas (SILVA et al. 2008). Tal

substrato não teve diferenças na capacidade antioxidante do controle com os demais tratamentos com diferentes inclusões de açaí, isso denota que o biofilme serve como uma fonte de antioxidante para o camarão, e que o incremento do açaí em diferentes níveis não reforça a capacidade antioxidante.

## **5. CONCLUSÕES**

Analisando os tratamentos, observa-se que a inclusão do açaí não altera o desempenho zootécnico, apresentando-se como uma alternativa de óleo vegetal para camarão em sistemas de cultivo de bioflocos. E a cromaticidade  $a^*$  no abdômen do camarão cozido na inclusão de 10% de açaí foi maior que o controle. A ração com inclusão de 10% por mais que fosse rica em flavonoides não foi detectado no músculo, porém houve o aumento da pigmentação neste tratamento.

## **6. PERSPECTIVAS PARA O FUTURO**

Para pesquisas vindouras seria de grande interesse avaliar o perfil lipídico e a peroxidação lipídica do músculo do camarão já que demonstraram grande teor de extrato etéreo, nos animais que foram alimentados com a dieta com inclusão de açaí em relação ao controle. Talvez em situações de estresse ambiental pode-se ver a atuação da capacidade antioxidante dos flavonoides. Seria importante fazer mais estudos e análises do biofilme, devido ser preferência alimentar do camarão em esse sistema de cultivo, ressaltando a análise de sua composição centesimal e perfil lipídico do biofilme, pois este podem ter retido as gorduras insaturadas do açaí. E por último ver se existe diferenças na comunidade dos microrganismos que compõe o biofilme e o bioflocos nos tratamentos estudados.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU PC, BALLESTER ELC, ODEBRECHT C, WASIELESKY W, CAVALLI RO, GRANÉLI W, ANESIO AM Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ). *J Exp Mar Biol Ecol* 347:88–96, 2007.
- AOAC International. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 16th ed. Washington, 114p. 1999.
- APHA (American Public Health Association) **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20st edition. Washington, DC. 1193p. 1998.
- ARTS, M. J., HAENEN, G. R., WILMS, L. C., BEETSTRA, S. A., HEIJNEN, C. G., VOSS, H. P., & BAST, A. Interactions between flavonoids and proteins: effect on the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1184-1187, 2002.
- AVNIMELECH, Y., MOZES, N., DIAB S., KOCHBA, M. Rates of organic carbon and nitrogen degradation in intensive fish ponds. *Aquaculture* 134, 211-216., 1995.
- AVNIMELECH Y Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. *Aquac Eng* 34:172–178, 2006.
- AVNIMELECH, Y. *Biofloc Technology – A Practical Guide Book*. 2nd ed. **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, United States. 2012.
- AYISI, C. L., HUA, X., APRAKU, A., AFRIYIE, G., KYEI, B. A. Recent studies toward the development of practical diets for Shrimp and their nutritional requirements. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24(3), 109-117, 2017.
- BAHURMIZ, O. M., NG, W. K. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.*, raised from stocking to marketable size. *Aquaculture*, 262(2-4), 382-392, 2007.
- BALLESTER ELC, WASIELESKY W, CAVALLI RO, ABREU PC Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: biofilm composition and shrimp performance. *Aquaculture* 269:355–362, 2007.
- BOBBIO, EO.; DRUXIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, .20, .388-390, 2000.
- CABALLERO, M. J., OBACH, A., ROSEN LUND, G., MONTERO, D., GISVOLD, M., & IZQUIERDO, M. S. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 214(1-4), 253-271, 2002.

- CARDONA, E., LORGEUX, B., CHIM, L., GOGUENHEIM, J., LE DELLIOU, H., CAHU, C. Biofloc contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive performance of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences for the quality of eggs and larvae. **Aquaculture**, 452, 252-262, 2016.
- CARRERA, C. S., & DARDANELLI, J. L. Changes in the relationship between temperature during the seed-filling period and soya bean seed isoflavones under water-deficit conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, 202(6), 421-432, 2016.
- COÏSSON, J. D., TRAVAGLIA, F., PIANA, G., CAPASSO, M., & ARLORIO, M. *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**, 38(8-9), 893–897, 2005.
- DA SILVA MARTINS, ÁC, JA FLORES, W WASILIESKY JR, J ZANETTE, EG PRIMEL, SS CALDAS; JM MONSERRAT. Modulation of antioxidant and detoxification responses induced by lipoic acid in the Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) subjected to hypoxia and reoxygenation. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**. 47: 335–348, 2014.
- DA SILVA MARTINS, Á. C., ARTIGAS FLORES, J., PORTO, C., WASIELESKY JUNIOR, W., & MONSERRAT, J. M. Antioxidant and oxidative damage responses in different organs of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) reared in a biofloc technology system. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, . 48, 4, 279-288, 2015.
- DA SILVA, L. D. Composição centesimal da polpa integral de açaí. In: **Congresso de Ciência e Tecnologia da UTFPR** Câmpus Dois Vizinhos. p. 412-414, 2015.
- DA SILVA MENEZES, E.M.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amazonica**, 38, 2, 2008.
- DE LIMA YAMAGUCHI, K. K., PEREIRA, L. F. R., LAMARAO, C. V., LIMA, E. S., & DA VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, 179, 137-151, 2015.
- DIAS, A.L.S., ROZET, E., CHATAIGNÉ, G., OLIVEIRA, A. C., RABELO, C. A. S., HUBERT, PH., ROGEZ, H., QUETIN-LECLERCQ, J. A rapid validated UHPLC–PDA method for anthocyanins quantification from *Euterpe oleracea* fruits. **Journal of Chromatograph B**, 907, 108-116, 2012.
- DIAS, A.L.S., ROZET, E., LARONDELLE, Y., HUBERT, P., ROGEZ, H., QUETIN-LECLERCQ, J. Development and validation of an UHPCL-LQT-Orbitrap MS method for nonanthocyanin flavonoids quantification in *Euterpe oleracea* juice. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 405, 9235-9249, 2013.
- EMERENCIANO, M., GAXIOLA, G., & CUZON, G. Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. **Biomass Now: Cultivation and Utilization**. Rijeka, Croatia: InTech, 2013.

- ERICKSON, M.C., BULGARELIL, M.A., RESURRECCION, A.V.A., VENDETTI, R.A. & GATES, K.A. Consumer differentiation, acceptance, and demographic patterns to consumption of six varieties of shrimp. **J Aquatic Food Product Technol.**, 15, 35–51.2007.
- FERREIRA D. S.; GOMES, A. L., DA SILVA, M. G.; ALVES, A. B.; AGNOL, W. H. D.; FERRARI, R. A.; CARVALHO, P.R. N.; PACHECO, M. T. B. Antioxidant Capacity and Chemical Characterization of Açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) Fruit Fractions. **Food Science and Technology**, 4, 95 - 102., 2016.
- FRANCO, R., SÁNCHEZ-OLEA, R., REYES-REYES, E. M., PANAYIOTIDIS, M. I. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: menage a trois. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 674, 3-22, 2009.
- FREIRE, C. A., ONKEN, H., & MCNAMARA, J. C. . A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 151(3), 272-304, 2008.
- GAI, F., ORTOFFI, M., GIANCOTTI, V., MEDANA, C., & PEIRETTI, P. G. Effect of red grape pomace extract on the shelf life of refrigerated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) minced muscle. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, 24, 468-480, 2015.
- GALANO, A., MAZZONE, G., ALVAREZ-DIDUK, R., MARINO, T., ALVAREZ-IDABOY, J. R., RUSSO, N. Food antioxidants: chemical insights at the molecular level. **Annual review of food science and technology**, 7, 335-352, 2016.
- GAJULA, D., VERGHESE, M., BOATENG, J., WALKER, L. T., SHACKELFORD, L., MENTREDDY, S. R., & CEDRIC, S. Determination of total phenolics, flavonoids and antioxidant and hemopreventive potential of Basil (*Ocimum basilicum L.* and *Ocimum tenuiflorum L.*). **International Journal of Cancer Research**, 5, 130–143, 2009.
- GÓMEZ-ESTACA, J., LOPEZ-DE-DICASTILLO, C., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P., CATALÁ, R., & GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, 35(1), 42-51, 2014.
- GONZALES, G. B., SMAGGHE, G., GROOTAERT, C., ZOTTI, M., RAES, K., & CAMP, J. V. Flavonoid interactions during digestion, absorption, distribution and metabolism: a sequential structure–activity/property relationship-based approach in the study of bioavailability and bioactivity. **Drug Metabolism Reviews**, 47, 175-190, 2015.
- GU, M., GU, J. N., PENN, M., BAKKE, A. M., LEIN, I., & KROGDAHL, Å. Effects of diet supplementation of soya-saponins, isoflavones and phytosterols on Atlantic salmon (*Salmo salar*, L) fry fed from start-feeding. **Aquaculture Nutrition**, 21(5), 604-613, 2015.

- HAJRA, A., GHOSH, A., & MANDAL, S. K. Biochemical studies on the determination of optimum dietary protein to energy ratio for tiger prawn, *Penaeus monodon* (Fab.), juveniles. **Aquaculture**, 71(1-2), 71-79, 1988.
- IADEROZA, M.; BALDINI, ISD.; BOVI, MIA. Anthocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Tropical Science**, v.32, p.41-46, 1992.
- JACKSON, A.J., The importance of fishmeal and fish oil in aquaculture diets. **International Aquafeed** 9, 16–19, 2006.
- JACKSON, A.J., Challenges and opportunities for the fishmeal and fish oil industry. **Feed Technology Update** 2 (1) 9, 2007.
- JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**, 175, 556-567, 2015.
- JORY, DE. 2001. Feed management practices for a healthy pond environment. In: BROWDY CL, JORY DE (Eds.). The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, **Aquaculture 2001**. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 118-143.
- Ju, Z. Y., Deng, D.-F., Dominy, W. G., & Forster, I. P. Pigmentation of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by Dietary Astaxanthin Extracted from *Haematococcus pluvialis*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42(5), 633–644, 2011.
- KIM, S-K, Z PANG, H-C SEO, Y-R CHO, T SAMOCHA, I-K JANG. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. **Aquaculture Research**. 45: 362–371 2014.
- KRUMMENAUER, D., PEIXOTO, S., CAVALLI, R. O., POERSCH, L. H., WASIELESKY, W. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. **Journal of the World Aquaculture Society**, 42, n. 726-733, 2011.
- LARA G, KRUMMENAUER D, ABREU PC; POERSCH, L. H., WASIELESKY, W. The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. **Aquaculture International**, 25, 1; 147-162, 2016.
- LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. **Aquaculture**, v.191, p.121-131, 2000.
- LEÓN, C. M. D., WASILIESKY JUNIOR, W., & MONSERRAT, J. M. Quercetin influence in water quality and biochemical responses of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in Biofloc Technology System. **Aquaculture Research**, 49(11), 3569-3576, 2018.

- LIN, Y.; CHEN, J. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 259, 109-119, 2001.
- LI, X. X., TIAN, X., CAI, L. Y., LV, Y. F., LIU, X. F., LI, J. R. Effects of chitosan and hawthorn flavonoid coating on quality and shelf life of flounder (*Paralichthys olivaceus*) fillets during refrigerated storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, 41, e12831, 2016
- LI, Y.; YANG, Z.; LI, J. Shelf-life extension of Pacific white shrimp using algae extracts during refrigerated storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 97, 291-298, 2017.
- LIU, C. H., CHENG, W., HSU, J. P., CHEN, J. C. *Vibrio alginolyticus* infection in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. **Diseases of aquatic organisms**, 61, 169-174, 2004.
- LICHTENTHÄLER, R.; RODRIGUES, R. B.; MAIA, J. G. S.; PAPAGIANNPOULOS, M; FABRICIUS, H.; Marx, F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) fruits. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v.56, 53-64, 2005.
- LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A., & CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy reviews**, 4(8), 118. 2010.
- LUCIEN-BRUN, H. AND F. VIDAL. Quality issues in marketing white shrimp. **AQUA Culture Asia Pacific Magazine** 32–33. 2006a.
- LUCIEN-BRUN, H. AND F. VIDAL. Alfalfa Concentrate: Natural Shrimp Color Enhancer shrimp Color Enhancer. **Global Aquaculture Advocate** 35–37. 2006b.
- LUCIEN-BRUN, H. AND F. VIDAL. Shrimp pigmentation with natural carotenoids. **AQUA Culture Asia Pacific Magazine**. 34–35, 2006c.
- MARTINO, H. S. D., DOS SANTOS DIAS, M. M., NORATTO, G., TALCOTT, S., & MERTENS-TALCOTT, S. U. Anti-lipidaemic and anti-inflammatory effect of açai (*Euterpe oleracea Martius*) polyphenols on 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Functional Foods**, 23, 432-443, 2016.
- MCINTOSH D, SAMOCHA TM, JONES ER, LAWRENCE AL, MCKEE DA, HOROWITZ S, HOROWITZ A The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. **Aquac Eng** 21:215–227, 2000.
- MEYER, A. S.; YI, O. PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. L.; FRANKEL, E. N. Inhibition of human low-density lipoprotein in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis Vinifera*). **J. Agric. Food Chem.** 45, 1638-1643, 1997.

- MIYAZAWA, T., NAKAGAWA, K., KUDO, M., MURAISHI, K., SOMEYA, K., Direct intestinal absorption of cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. **J. Agric. Food Chem.** 47, 1083–1091, 1999.
- NG, W. K., LIM, H. A., LIM, S. L., & IBRAHIM, C. O. Nutritive value of palm kernel meal pretreated with enzyme or fermented with *Trichoderma koningii* (*Oudemans*) as a dietary ingredient for red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*). **Aquaculture Research**, 33(15), 1199-1207, 2002.
- NG, W. K., CAMPBELL, P. J., DICK, J. R., BELL, J. G. Interactive effects of dietary palm oil concentration and water temperature on lipid digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Lipids**, 38(10), 1031-1038, 2003.
- NG, W. K., KOH, C. B., DIN, Z. B. Palm oil-laden spent bleaching clay as a substitute for marine fish oil in the diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, 12(6), 459-468, 2006.
- NG, W. K., CODABACCUS, B. M., CARTER, C. G., NICHOLS, P. D. Replacing dietary fish oil with palm fatty acid distillate improves fatty acid digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, maintained at optimal or elevated water temperature. **Aquaculture**, 309(1-4), 165-172, 2010.
- NG, W. K., & WANG, Y. Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. **Aquaculture**, 314(1-4), 122-131, 2011.
- NOOTONG K, PAVASANT P, POWTONGSOOK P Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a Biofloc System. **J World Aquac Soc** 42(3):339–346, 2011.
- ODENDAAL, A. Y.; SCHAUSS, A. G. Chapter 18: Potent antioxidant and anti-inflammatory flavonoids in the nutrient-rich Amazonian palm fruit, Açai (*Euterpe spp.*). In: Watson, R.R., Reedy, V.R., Zibadi, S. (Eds.), **Polyphenols in Human Health and Disease**. Academic Press, San Diego, pp. 219–239. 2014.
- OLIVEIRA, P. R. B.; COSTA, C. A.; BEM, G. F.; CORDEIRO, V. S. C.; SANTOS, I. B.; CARVALHO, L. C. R. M.; CONCEIÇÃO, E. P. S.; LISBOA, P. C.; OGNIBENE, D. T.; SOUSA, P. J. C.; MARTINS, G. R.; SILVA, A. J. R.; MOURA, R. S.; RESENDE, A. C. *Euterpe oleracea* Mart.- derived polyphenols protect mice from diet-induced obesity and fatty liver by regulating hepatic lipogenesis and cholesterol excretion. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0143721, 2015.
- QIU, J., WANG, W. N., WANG, L. J., LIU, Y. F., WANG, A. L. Oxidative stress, DNA damage and osmolality in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* exposed to acute low temperature stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 154, 36-41, 2011.
- PASSAMONTI, S., TERDOSLAVICH, M., FRANCA, R., VANZO, A., TRAMER, F., BRAIDOT, E., & VIANELLO, A. Bioavailability of flavonoids: a review of their membrane transport and the function of bilitranslocase in animal and plant organisms. **Current Drug Metabolism**, 10(4), 369-394, 2009.

- PONCE-PALAFOX, J., MARTINEZ-PALACIOS, C. A. & ROSS, L. G.. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture**, 157: 107-115, 1997.
- PORTINHO, J. A., ZIMMERMANN, L. M., & BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do Açaí. **International Journal of Nutrology**, 5(1), 15-20, 2012.
- RAMESH, S., BALASUBRAMANIAN, T. Dietary value of different vegetable oil in black tiger shrimp *Penaeus monodon* in the presence and absence of soy lecithin supplementation: effect on growth, nutrient digestibility and body composition. **Aquaculture**, 250(1-2), 317-327, 2005.
- SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A.; BURGER, J.M.;ALMEIDA, R.V.;AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D.L. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**, 36, 184-191, 2007.
- SCHAUSS, A.G., WU, X., PRIOR, R.L., OU, B., PATEL, D., HUANG, D., Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). **J. Agric. Food Chem.** 54, 8598–8603, 2006.
- SCHAUSS, A. G. Advances in the study of the health benefits and mechanisms of action of the pulp and seed of the Amazonian palm fruit, *Euterpe oleracea* Mart., known as “Açaí”. **In Fruits, Vegetables, and Herbs** pp. 179-220, 2016.
- SHAHIDI, F., & AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of functional foods**, 18, 820-897, 2015
- SOLLER, F., ROY, L. A., DAVIS, D. A. Replacement of fish oil in plant-based diets for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by stearine fish oil and palm oil. **Journal of the World Aquaculture Society**, 2018.
- SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Journal Food Sci.** 65, 357-364, 2000.
- SILVA CF, BALLESTER E, MONSERRAT J, GERACITANO L, WASIELESKY W, ABREU PC Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contentes. **Aquac Nutr** 14:507–514, 2008.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Bilógicos**, 3ed., Viçosa, MG: UFV, 235 p., 2009.
- STRICKLAND, J. L. H.; PARSONS, T. R., A practical handbook of seawater analysis. **Fisheries Research Board of Canada, Bulletin** 167, 2 ed., Ottawa, 1972.

- TACON, ALBERT GJ; METIAN, MARC. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, n. 1-4, p. 146-158, 2008.
- THOMPSON FL, ABREU PC, WASIELESKY W Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. **Aquaculture** 203:263–278, 2002.
- TURCHINI, G. M., TORSTENSEN, B. E., NG, W. K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, 1(1), 10-57, 2009.
- TURCHINI, G. M., NG, W. K., & TOCHER, D. R.. Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. **CRC Press**, 2010.
- UNESCO, Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, **Intergovernmental Oceanographic Commission**. Paris, France, 1983.
- VAN WYK, P.;SCARPA, J. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. **Department of Agriculture and Consumer Services**, Tallahassee, Florida, 128–138.1999.
- WASIELESKY, WJ, HI ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258: 396-403, 2006.
- XU, W. J., PAN, L. Q., ZHAO, D. H., & HUANG, J.Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. **Aquaculture**, 350, 147-153, 2012.
- ZHANG JL, CHEN H, DONG Y ET AL Artificial substrates in zero-water-exchange culture system regulate the rearing performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*(Boone, 1931) under the winter indoor condition. **Aquac Res** 47:91–100 2016.
- ZOKAEIFAR, H., BABAEI, N., SAAD, C. R., KAMARUDIN, M. S., SIJAM, K., BALCAZAR, J. L. Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, 36, 68-74, 2014.