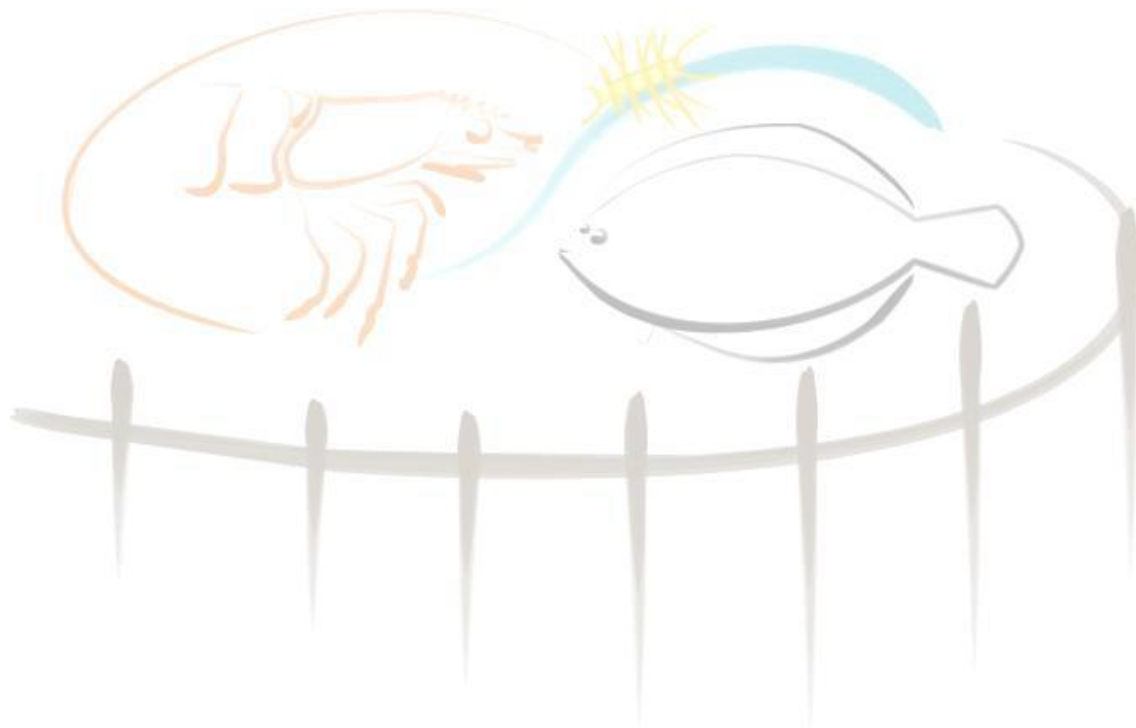


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



DIANA CAROLINA MOLINA LEÓN

**Influência da adição de quercetina na água de cultivo do camarão branco do
Pacífico - *Litopenaeus vannamei* - em sistema BFT.**

Rio Grande – RS

2016

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

**Influência da adição de quercetina na agua de cultivo do camarão branco do
Pacífico - *Litopenaeus vannamei* - em sistema BFT.**

DIANA CAROLINA MOLINA LEÓN

Orientador: Prof. Dr. José María Monserrat.

Co-Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky.

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

2016

INDICE

AGRADECIMENTOS	1
DEDICATORIA	2
RESUMO GERAL	3
ABSTRACT.....	5
INTRODUÇÃO GERAL.....	6
OBJETIVO GERAL	11
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	11
CAPITULO I.....	12
Influência da adição de quercetina na agua de cultivo do tipo BFT e seus efeitos nos parâmetros de qualidade da agua e nos parâmetros antioxidantes dos bioflocos.	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAIS E MÉTODOS	18
MATERIAL BIOLÓGICO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	18
QUERCETINA	19
EXTRATO DE BIOFLOCO.....	19
DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS	19
DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	19
ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	20
DISCUSSÃO	27
CONCLUSÕES	29
BIBLIOGRAFIA	30
CAPITULO II	34
Influência da adição de quercetina na agua de cultivo do tipo BFT de camarão branco do pacífico <i>Litopenaeus vannamei</i>, e seus efeitos em parâmetros antioxidantes e de dano oxidativo.....	34
RESUMO.....	35
ABSTRACT.....	36

INTRODUÇÃO	37
MATERIAIS E MÉTODOS	38
MATERIAL BIOLÓGICO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	39
QUERCETINA	39
ANÁLISE DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA	39
AMOSTRAS DE BIOFLOCOS	40
EXTRATO DE BIOFLOCO.....	40
DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS	40
DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	40
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DOS CAMARÕES	41
DISSECAÇÃO DOS CAMARÕES	41
EXTRATO DE TECIDO PARA DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES	41
HOMOGENEIZAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA TBARS	42
DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS)	42
ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	43
RESULTADOS	44
PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA.....	44
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DOS CAMARÕES	44
TEOR DE FLAVONOIDES E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM BIOFLOCO	45
TEOR DE FLAVONOIDES EM CAMARÃO.....	46
NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS)	48
DISCUSSÃO.....	49
CONCLUSÕES GERAIS.....	52
PERSPECTIVA	52
BIBLIOGRAFIA	53

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Maria Monserrat, por ter me “adotado” como sua orientanda, pela disposição, pelo conhecimento compartilhado e por ser um grande exemplo.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Wilson Wasielesky pela sua disposição e colaboração.

Ao professor Marcelo Tesser pelas sugestões.

Ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande, por disponibilizar os laboratórios para a realização das análises envolvidas nesta pesquisa.

À Profa. Dra. Claudia Martinez e o Prof. Dr. Luciano Garcia por ter aceitado fazer parte da banca examinadora.

Às agências de fomento (CNPq, CAPES) pelo suporte financeiro através da concessão de bolsa de estudos.

Ao pessoal da EMA: Gabriele, Mariana, Victor, Mario Carneiro, Mario Castro, Denis, Jessica Teske, Janaina Souza, Placido, Ivanildo, Clivea, Thamyres, Alessandro, Dariano, Ricardo, Sandro, Andressa. Pela ajuda no decorrer destes dois anos ou simplesmente pelo sorriso sempre disposto.

À Natalia, pela ajuda, companhia, apoio, risadas e tantos outros momentos compartilhados.

Ao meu esposo por cada segundo que tem estado ao meu lado, acompanhando-me, aconselhando-me, aguentando-me, apoiando-me, mimando-me. “Por fazer do seu sonho, o meu sonho de cada dia...e me dar a oportunidade de mais uma vez amar, o presente que Deus me deu”.

Ao meu irmão, pelo apoio, pelos puxões de orelha, e especialmente por ficar perto de minha mãe.

A minha mãe, por sempre ter uma palavra de apoio e animo, mesmo sabendo que a distancia aperta o coração.

A minha família que me faz sentir tanta saudade: Leo, Katherine, Tia Luz, Jero y Salome, porque cada vídeo e cada áudio me fazem sentir que tudo vale a pena.

A Deus por guiar cada um dos meus passos.

DEDICATORIA

A mi Papá, porque tengo la plena seguridad que cuida cada uno de mis pasos y sé que desde el cielo me acompaña, porque no habrá alguien más lleno de orgullo que él.

Viejito, aunque tu ausencia duele como nada en el mundo, el recuerdo de nuestro tiempo juntos es mi más grande tesoro. Este y cada triunfo en mi vida, es por ti y para ti.

A mi esposo, por estar a mi lado en los momentos más difíciles de mi vida, por ser el mejor hombre, por aceptarme con todos mis defectos y por ser mi más grande bendición.

Te amo

1 **OBSERVAÇÃO IMPORTANTE**

2

3 Os resultados desta dissertação serão parcialmente apresentados no texto que segue
4 abaixo em função de estarem sendo submetidos ao processo de patenteamento. Em
5 função das normas que regem este processo, os resultados aqui detectados serão
6 futuramente apresentados sob forma de artigo científico.

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28 **RESUMO GERAL**

29

30 Na última edição do “Estado mundial da pesca e aquicultura” da FAO (2014)
31 destacou-se o importante papel dessas atividades na eliminação da fome, no fomento da
32 saúde e na eliminação da pobreza. Além disso, focou-se na necessidade de considerar a
33 segurança ambiental da atividade aquícola. Essas informações foram consideradas para
34 o desenvolvimento desta pesquisa estudando a interação entre os sistemas de cultivo do
35 tipo BFT (foco importante de investigação como alternativa para garantir produções
36 aquícolas sustentáveis), o camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), uma
37 espécie amplamente utilizada em aquicultura, e a quercetina, um composto flavonoide
38 que possui propriedades antioxidantes.

39 xxx

40 xxx

41 xxx

42 xxx

43 xxx

44 xxx

45 xxx

46 xxx

47 xxx

48 xxx

49 xxx

50 xxx

51 xxx

52 xxx

53 xxx

54 xxx

55 xxx

56 xxx

57 **Palavras Chave:** Bioflocos, antioxidante, xxxxxxxxxxxxxxx

58 **ABSTRACT**

59

60 In the last edition of the "World state of fisheries and aquaculture" FAO 2014 it was
61 highlighted the important role of such activities in the elimination of hunger, the
62 promotion of health and the eradication of poverty. Also, it was focused on the need to
63 consider the environmental safety of aquaculture activity. These information were
64 considered for the development of this research by studying the interaction between
65 BFT culture systems (most important focus of research as an alternative strategy to
66 ensure sustainable aquaculture products), the Pacific white shrimp (*Litopenaeus*
67 *vannamei*), a species widely employed in aquaculture, and quercetin, a flavonoid
68 compound that has antioxidant properties.

69 xxx
70 xxx
71 xxx
72 xxx
73 xxx
74 xxx
75 xxx
76 xxx
77 xxx
78 xxx
79 xxx
80 xxx
81 xxx
82 xxx
83 xxx
84 xxx
85 xxx
86 xxx
87 xxx

88 **Key Words:** Bioflocs, antioxidant, xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx.

89 INTRODUÇÃO GERAL

90

91 Na atualidade a aquicultura é possivelmente o setor de produção de alimentos de
92 crescimento mais acelerado, representando quase o 50% dos produtos pesqueiros
93 mundiais destinados à alimentação. Assim, é reconhecido que a saúde do mundo e a
94 seguridade alimentar no futuro depende em parte da responsabilidade e sustentabilidade
95 da pesca e da aquicultura (FAO, 2014). Nesse sentido, surgiu a necessidade de buscar
96 alternativas que garantam produções aquícolas mais sustentáveis, como os sistemas de
97 bioflocos ou sistemas BFT (“Biofloc Technology System”), os quais são considerados
98 como uma alternativa eficaz na redução da emissão de efluentes diminuem a quantidade
99 de água utilizada, utilizam a comunidade microbiana para a manutenção da qualidade da
100 água do cultivo, além de ser alimento adicional para os animais cultivados (Browdy *et*
101 *al.* 2001; Hopkins *et al.* 1995; Wasielesky *et al.* 2006a).

102 Segundo Wasielesky *et al.* (2006b), os bioflocos são agregados de bactérias
103 heterotróficas, ciliados, flagelados, rotíferos, entre outros microrganismos. Estes
104 organismos se multiplicam mediante adição de fontes de carbono no sistema de cultivo
105 (melaço, dextrose, entre outros), eficiente aeração e presença de compostos
106 nitrogenados dissolvidos na água (amônia, nitrito e nitrato), que se acumulam em
107 função da ausência de renovação da água. Desta forma, os compostos nitrogenados,
108 tóxicos em altas concentrações no meio, são aproveitados pelos microrganismos e
109 transformados em biomassa microbiana, que além de melhorar a qualidade da água
110 ainda servirá de alimento aos camarões.

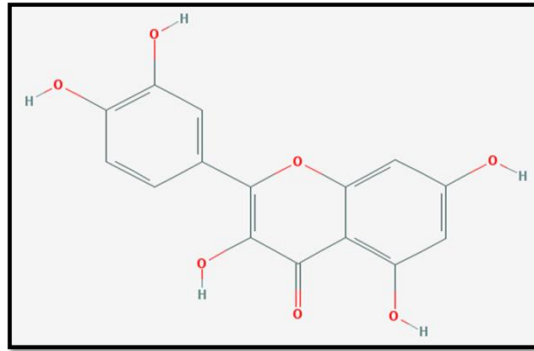
111 Assim também, um importante aspecto em relação aos agregados microbianos é
112 o melhor aproveitamento dos nutrientes originados pelos próprios bioflocos e pela ração
113 não consumida pelos camarões, gerando uma melhoria na conversão alimentar. Estudos
114 realizados com o sistema BFT demonstraram que 29% do alimento consumido pelo
115 camarão *Litopenaeus vannamei* pode ser proveniente do floco microbiano presente na
116 água do cultivo (Burford *et al.* 2003).

117 Da mesma forma, algumas pesquisas relatam a diversidade de compostos bioativos
118 presentes nos bioflocos, incluindo carotenoides, clorofilas, fitoesteróis, bromofenóis e
119 açúcares aminados (Ju *et al.* 2008), entre outros. Estes contribuem para melhorar o

120 desempenho bioquímico, fisiológico e zootécnico dos animais cultivados como é o caso
121 do camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei*, que é a principal espécie de
122 camarão cultivado e comercializado em diferentes partes do mundo, especialmente pela
123 sua qualidade e seus valores nutricionais (Okpala, 2014; Okpala *et al.* 2014; Wang *et al.*
124 2010).

125 Portanto, o estudo destes componentes bioativos nos bioflocos ou da manipulação
126 dos mesmos, torna-se necessário para maximizar sua função (Xu & Pan, 2012), não
127 somente para melhorar o cultivo e para mitigar problemas como o estresse oxidativo nos
128 organismos cultivados, senão também apontando para melhoria do produto final a ser
129 consumido.

130 A busca por alimentos que possuam um ou mais nutrientes adicionados com efeitos
131 benéficos para a saúde, contendo componentes com atividade fisiológica e biológica,
132 além dos nutrientes, está cada vez mais em ascensão por parte de produtores e
133 consumidores. Nas últimas duas décadas vem sendo usado o termo “funcional” para
134 alimentos que forneçam benefícios bioquímicos e fisiológicos adicionais, além de
135 satisfazerem necessidades nutricionais (Anjo, 2004). Entre os principais componentes
136 de alimentos considerados como funcionais, podem-se destacar os probióticos, as fibras
137 alimentares, os ácidos graxos e os antioxidantes, que incluem uma grande gama de
138 substâncias como as vitaminas A (carotenoides), C (ácido ascórbico), E (tocoferol) e os
139 compostos fenólicos, como os flavonóides e ácidos fenólicos, que exercem papel
140 importante na proteção contra os radicais livres (ILSI, 2002). A quercetina (**Figura 1**) é
141 um dos compostos flavonoides que está gerando maior interesse, pelas suas
142 características. Segundo Lee *et al.* (2015), a quercetina mostrou propriedades
143 antioxidantes e de antiproliferação, inibindo o crescimento de células cancerosas.
144 Também estudos de Qian *et al.* (2015), com camarão branco e quercetina demonstraram
145 a ação conservante do flavonoide, oferecendo um efeito tardio na degradação do
146 músculo do camarão quando refrigerado (4 °C).



147

148

Figura 1. Estrutura Química da Quercetina. (PubChem, 2015)

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167 **BIBLIOGRAFIA**

168

169 ANJO, D. F. C. 2004. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. J. Vasc.
170 Br. 3 (2), p.145-15.

171 BROWDY, CL, D BRATVOLD, AD STOKES & RP MCINTOSH. 2001. Perspectives
172 on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy, CL & DE Jory.
173 The New Wave, Proceedings of the special session on sustainable shrimp culture,
174 Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA: 20 - 34.

175 FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Roma. 253 págs.

176 HOPKINS, JS, PA SANDIFER & CL BROWDY. 1995. Effects of two feed protein
177 levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive
178 shrimp ponds operated without water exchange. Journal World Aquaculture
179 Society, 26: 93-97.

180 ILSI. 2002. Concepts of functional foods, ILSI Europe concise monograph series.
181 International Life Sciences Institute. Brussels Belgium. 45 págs.

182 JU, Z Y, FORSTER, I, CONQUEST, L, & DOMINY W. 2008. Enhanced growth
183 effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or
184 floc fractions to a formulated diet. Aquaculture Nutrition 14: 533–543

185 LEE, S H, LEE E J, MIN K H, HUR G Y, LEE S Y. 2015. Quercetin Enhances
186 Chemosensitivity to Gemcitabine in Lung Cancer Cells by Inhibiting Heat Shock
187 Protein Expression. Clinical Lung Cancer. 16(6): 235-43.

188 MARTINS A C, FLORES J A, PORTO C, WASIELESKY W, MONSERRAT J M.
189 2015. Antioxidant and oxidative damage responses in different organs of Pacific
190 white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) reared in a biofloc technology
191 system. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 48 (4):279–288.

192

193 PUBCHEM, 2015. National Center for Biotechnology Information. Compound
194 Database; CID=5280343, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343>
195 (accessed Aug. 10, 2015).

196 OKPALA, C. O. R. 2014. Investigation of quality attributes of ice-stored Pacific white
197 shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by sequential minimal ozone treatment.
198 LWT e Food Science and Technology, 57(2): 538-547.

199 OKPALA, C, O, R, CHOO, W, S, & DYKES, G, A, 2014. Quality and shelf life
200 assessment of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) freshly harvested and
201 stored on ice. LWT e Food Science and Technology, 55(1): 110-116.

202 QIAN, Y F, XIE J, YANG S-P, HUANG S, WU W-H, LI L, 2015. Inhibitory effect of a
203 quercetin-based soaking formulation and modified atmospheric packaging (MAP)
204 on muscle degradation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). LWT -
205 Food Science and Technology. 63: 1339-1346

206 WANG, H., YANG, R., LIU, Y., ZHANG, W., ZHAO, W., ZHANG, Y. 2010. Effects
207 of low dose gamma irradiation on microbial inactivation and physicochemical
208 properties of fried shrimp (*Penaeus vannamei*). International Journal of Food
209 Science and Technology, 45(6): 1088-1096.

210 WASIELESKY, W, H ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. 2006. Effect of natural
211 production in a zero exchange suspended microbial floc based superintensive
212 culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 258: 396-403.

213 WASIELESKY, W, EMERENCIANO, M, BALLESTER, E, SOARES, R., CAVALLI,
214 R. & ABREU, P. C. 2006 b. Flocos Microbianos: um novo caminho a ser
215 percorrido. Revista Panorama da Aquicultura, 16 (96): 14-23.

216

217

218

219

220 **OBJETIVO GERAL**

221

222 Determinar a influência da adição de quercetina na água de cultivos de camarão branco
223 do Pacífico - *Litopenaeus vannamei* - em sistema BFT (“Biofloc Technology System”).

224

225 **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

226

227 a. Estabelecer os efeitos da adição de quercetina na qualidade da água, em
228 especial os relacionados com compostos nitrogenados.

229 b. Avaliar o teor de flavonoides totais nos bioflocos quando suplementados
230 com quercetina.

231 c. xxx
232 xxx

233 d. xxx
234 xxx

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275

CAPITULO I

Influência da adição de quercetina na água de cultivo do tipo BFT e seus efeitos nos parâmetros de qualidade da água e nos parâmetros antioxidantes dos bioflocos.

Diana Carolina Molina León^{a,b}, Wilson Wasiliesky Junior^{a,b,c}, José Maria Monserrat^{a,b,d*}

^a*Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brazil;*

^b*Programa de Pós-graduação em Aquicultura, FURG;*

^c*Instituto de Oceanografia (IO), FURG, Brazil;*

^d*Instituto de Ciências Biológicas (ICB), FURG, Brazil*

276 **RESUMO**

277

278 Na busca de alternativas e metodologias para garantir produções aquícolas
279 sustentáveis, aumenta-se o interesse na investigação de sistemas de bioflocos (BFT), os
280 quais possibilitam uma menor utilização de água quando comparados a cultivos
281 convencionais, diminuem a emissão de efluentes e geram maior biossegurança. Além de
282 reciclar a ração não consumida, os bioflocos consideram-se suplemento à dieta dos
283 organismos cultivados, e possuem no seu conteúdo, diversos compostos bioativos,
284 incluindo carotenoides, clorofilas, fitoesteróis e açúcares
285 aminados.xxx
286 xxx
287 xxx
288 xxx
289 xxx
290 xxx
291 xxx
292 xxx
293 xxx
294 xxx
295 xxx
296 xxx
297 xxx
298 xxx
299 xxx
300 xxx
301 xxx

302

303 **Palavras chave:** bioflocos, antioxidantes, xxxxxxxxxxxxxx

304

305

306 **ABSTRACT**

307

308 In the search for alternatives and methodologies to ensure sustainable
309 aquaculture products, it increases the interest in research bioflocos systems (BFT),
310 which lower water use when compared with conventional culture systems, reduced the
311 emission of effluents and generate greater biosecurity. In addition to recycling the
312 unconsumed feed, the bioflocs are considered as supplements to the diet of reared
313 organisms, possessing many bioactive compounds, including carotenoids, chlorophyll,
314 phytosterols and amino sugars.

315 xxx

316 xxx

317 xxx

318 xxx

319 xxx

320 xxx

321 xxx

322 xxx

323 xxx

324 xxx

325 xxx

326 xxx

327 xxx

328 xxx

329 xxx

330

331 **Keywords:** Bioflocs, antioxidants, xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

332

333

334

335 INTRODUÇÃO

336

337 A produção aquícola tem sido incrementada na última década a nível mundial,
338 alcançando uma produção de crustáceos cultivados de 6,4 milhões de toneladas no ano
339 2012, representando o 9,7% da produção aquícola total. No entanto, a produção em
340 alguns dos países de maior importância aquícola como a Tailândia caiu para 1,2 milhões
341 de toneladas de 2011 a 2012, devido aos danos causados por inundações e doenças de
342 camarões (FAO, 2014). Em vista disso, produtores, pesquisadores e empresas do setor
343 vêm buscando alternativas e metodologias para garantir produções mais sustentáveis.
344 Dentre estas estratégias estão os sistemas que incluem policultivo com tilápias e
345 sistemas com bioflocos (BFT, em inglês “Biofloc Technology System”), além de
346 alterações na manipulação dos cultivos para garantir melhores resultados zootécnicos
347 (Wasielesky *et al.* 2013)

348 Segundo Wasielesky *et al.* (2006b), os bioflocos são agregados de bactérias
349 heterotróficas, ciliados, flagelados, rotíferos, entre outros microrganismos. Estes
350 organismos se multiplicam mediante adição de fontes de carbono no sistema de cultivo
351 (melaço, dextrose, entre outros), eficiente aeração e presença de compostos
352 nitrogenados dissolvidos na água (amônia, nitrito e nitrato), que se acumulam em
353 função da ausência de renovação da água. Dessa forma, os compostos nitrogenados,
354 tóxicos em altas concentrações no meio, são aproveitados pelos microrganismos e
355 transformados em biomassa microbiana, que além de melhorar a qualidade da água
356 ainda servirá de alimento aos camarões.

357 Assim, sistemas de cultivo do tipo BFT são foco importante de pesquisas,
358 principalmente, devido aos benefícios que oferecem na produção, não só para os
359 organismos, senão também para o meio ambiente. O uso do sistema BFT possibilita
360 menor utilização de água quando comparado a cultivos convencionais (Wasielesky *et al.*
361 2006a), diminui a emissão de efluentes, gera maior biossegurança reduzindo os
362 impactos ambientais (Hopkins *et al.* 1995, Browdy *et al.* 2001), além de reciclar a ração
363 não consumida e ser um suplemento à dieta dos camarões (Schryver *et al.* 2008).

364 Outro importante aspecto em relação aos agregados microbianos é o melhor
365 aproveitamento dos nutrientes originados pelos próprios bioflocos e pela ração não

366 consumida pelos camarões, gerando uma melhoria na conversão alimentar. Estudos
367 realizados com o sistema BFT demonstraram que 29% do alimento consumido pelo
368 camarão *Litopenaeus vannamei* pode ser proveniente do floco microbiano presente na
369 água do cultivo (Burford *et al.* 2003), sendo que ele não só representa uma fonte
370 importante de proteínas, senão que supre as necessidades de lipídios, minerais e
371 vitaminas dos camarões (Moss *et al.* 2006). Além disso, algumas pesquisas relatam que
372 os bioflocos têm diversos compostos bioativos, incluindo carotenoides, clorofilas,
373 fitoesteróis, bromofenóis e açúcares aminados (Ju *et al.*
374 2008)xxx
375 xxx
376 xxx
377 xxx
378 xxx
379 xxx
380 xxx
381 xxx
382 xxx
383 xxx
384 xxx
385 xxx
386 xxx
387 xxx
388 xxx
389 xxx
390 xxx
391 xxx
392 xxx
393 xxx
394 xxx
395 xxx
396 xxx
397 xxx

422 **MATERIAIS E MÉTODOS**

423

424 MATERIAL BIOLÓGICO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

425 O experimento foi realizado nas dependências do laboratório de Carcinocultura,
426 localizado na Estação Marinha de Aquacultura (EMA) da Universidade Federal do Rio
427 Grande-FURG.

428 xxx

429 xxx.

430

431 xxx

432 xxx

433 xxx

434 xxx

435 xxx

436 xxx

437 xxx

438 xxx

439 As caixas estiveram equipadas com o sistema de aeração por ar difuso, injetando ar no
440 sistema através de um soprador tipo “blower” (7 hp), e distribuído pelas caixas por
441 pedras porosas ligadas em mangueiras de
442 silicone.

443 xxx

444 xxx

445 xxx

446 xxx

447 xxx

448 xxx

449 xxx

450 xxx

451 xxx

452 xxx

453 xxx

454 QUERCETINA

455 A quercetina com 95% de pureza foi obtida da Sigma-Aldrich

456

457 QUALIDADE DA AGUA

458 Diariamente, foram medidos os parâmetros físico-químicos como oxigênio
459 dissolvido (mg/l), temperatura da água (°C), salinidade e pH através do medidor
460 multiparâmetros (YSI modelo profissional plus). Além disso, foram medidos
461 diariamente os compostos nitrogenados; as concentrações de amônia seguiram a
462 metodologia segundo UNESCO (1983), o nitrito e nitrato segundo as metodologias
463 descritas por Bendschneider e Robinson (1952), e Aminot e Chaussepied (1983)
464 respetivamente. A alcalinidade foi analisada de acordo com a metodologia descrita por
465 APHA (1998) e os sólidos sedimentáveis (SS) por meio de cone Imhoff pelo método
466 proposto por Avnimelech (2009).

467

468 EXTRATO DE BIOFLOCO

469 xxx
470 xxx
471 xxx
472 xxx
473 xxx
474 xxx
475 xxx
476 xxx

477

478 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS

479 O teor de flavonoides totais foi determinado nas amostras de biofloco coletadas
480 diariamente por espectrofotometria, usando o método colorimétrico com cloreto de
481 alumínio (AlCl₃) proposto por Marques (2012).

482

483 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

484 A capacidade antioxidante foi determinada seguindo a metodologia de Amado *et*
485 *al.* (2009) para determinação da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil em

486 organismos aquáticos. Portanto os reagentes utilizados foram: tampão de reação
487 ajustado a pH 7,20 (HEPES 30 mM; KCl 200 mM; MgCl 1mM, dissolvidos em água
488 ultrapura), ABAP (2,2'-azobis (2 metilpropionamidina) dihidrocloro, 4 mM) e solução
489 estoque de 2,7 diclorofluoresceína (H₂DCF-DA).

490

491 As leituras foram realizadas em fluorímetro com leitora de microplacas (Víctor
492 2, Perkin 347 Elmer), a cada 4 minutos durante 1 hora, a 37° C para promover a geração
493 de peroxi-radicaís através da termólise do ABAP. Para os ensaios foram dispostos em
494 cada poça da microplaca branca: 127,5 µl de tampão de reação, 10 µl de extrato de
495 biofoco, 7,5 µl de água ultrapura ou do gerador de radicaís peroxil (ABAP), e
496 finalmente 10 µl de solução de H₂DCFDA, foram realizados dosagens em triplicata e
497 tendo um branco para cada amostra. Posteriormente, os dados de capacidade
498 antioxidante foram expressos como a diferença de área relativa das unidades de
499 fluorescência nas amostras com e sem ABAP, assim sendo, menores valores da área
500 relativa indicam uma maior capacidade antioxidante.

501

502 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

503 Os resultados de cada uma das variáveis registrada e obtidas nos diferentes tratamentos
504 foram comparados através do teste de ANOVA de duas vias (concentração de
505 quercetina e tempo de exposição), comparando-se as médias de cada tratamento. Em
506 todos os casos foi utilizado um nível de significação de 5%. As comparações entre as
507 médias dos diferentes tratamentos realizaram-se através do teste de Newman-Keuls
508 segundo Vieira & Hoffmann (1989). Em todos os casos os pressupostos de normalidade
509 e homogeneidade de variâncias foram avaliados e foram aplicadas transformações
510 matemáticas se pelo menos um dos requisitos não era verificado.

511

512

513

514

515

516 **RESULTADOS**

517 Os resultados dos parâmetros de qualidade da água obtidos ao longo do experimento
 518 são apresentados na Tabela 1, mostrando as medias e o desvio padrão para cada
 519 tratamento. Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) desses parâmetros
 520 entre os tratamentos.

521 **Tabela 1.** Valores de oxigênio dissolvido, pH e alcalinidade no final do período
 522 experimental. Os dados estão expressos na forma de Média \pm desvio padrão. Letras
 523 iguais indicam ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes
 524 tratamentos ($p > 0,05$).

Tratamentos/ Parâmetros	Controle	0,25 mg/L quercetina	0,5 mg/L quercetina	1 mg/L quercetina	2 mg/L quercetina
Oxigênio dissolvido (mg/L)	7,98 \pm 2,31 ^a	8,02 \pm 1,56 ^a	8,10 \pm 1,20 ^a	7,89 \pm 1,29 ^a	8,09 \pm 0,56 ^a
pH	8,01 \pm 0,92 ^a	7,85 \pm 2,33 ^a	8,02 \pm 0,58 ^a	8,05 \pm 0,58 ^a	8,07 \pm 1,43 ^a
Alcalinidade (mg/L)	157,51 \pm 4,52 ^a	160,27 \pm 4,81 ^a	165,08 \pm 2,40 ^a	166,11 \pm 1,37 ^a	162,5 \pm 2,56 ^a

525

526 Em quanto às variações na concentração de amônia (**Figura 2**) é evidenciada uma
 527 diminuição em todos os tratamentos, mostrando-se uma diferença significativa do
 528 tratamento controle com respeito dos tratamentos com adição de quercetina no final do
 529 experimento, sendo menor a concentração de amônia no tratamento controle, porem
 530 permanecendo dentre os limites estabelecidos como ótimos para o desenvolvimento do
 531 cultivo. (**Figura 3**)

532

533

534

535

536

537

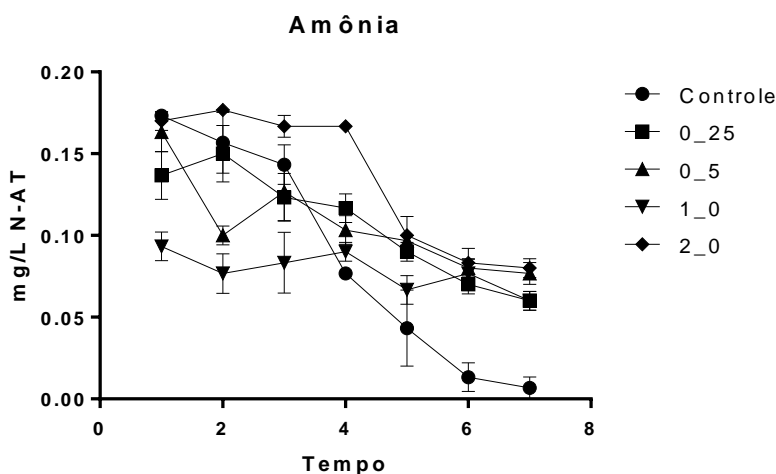
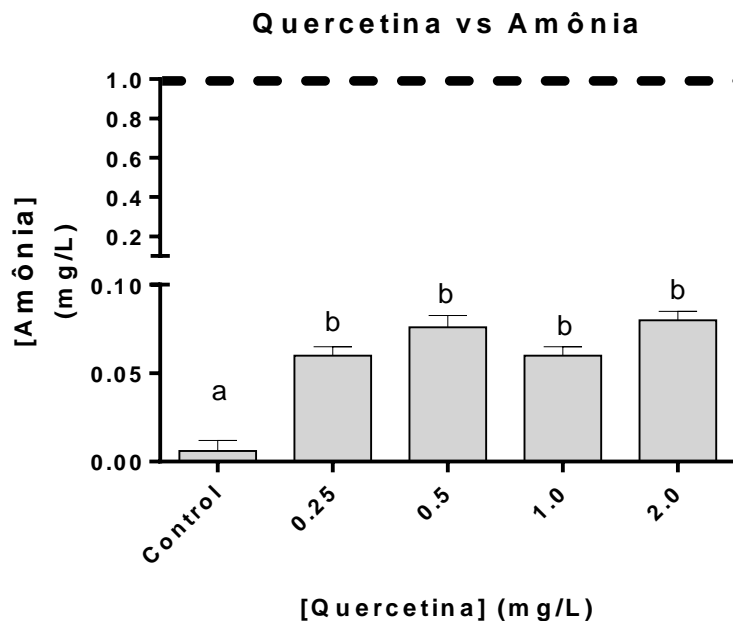


Figura 2 Variações na concentração de amônia total ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média \pm 1 desvio padrão.

538
539
540
541
542
543
544
545

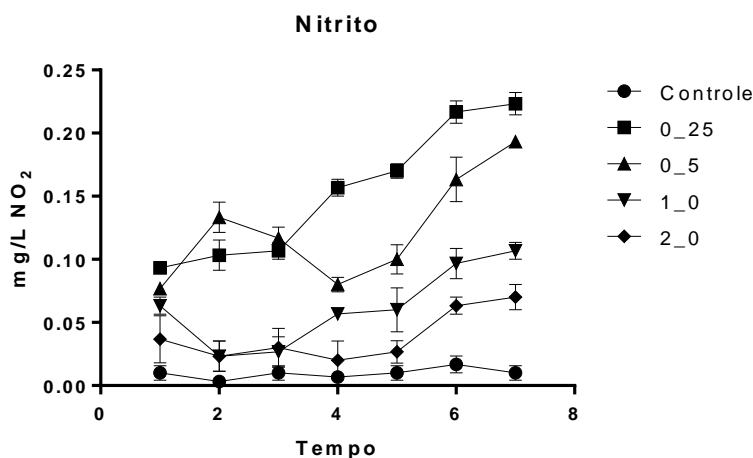


546 **Figura 3.** Variações na concentração de amônia total no final do período experimental nos
547 diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média± 1 desvio padrão. Letras iguais
548 indicam ausência de diferenças estatisticamente significativas ($p>0.05$), linha pontuada indica
549 limite estabelecido como ótimo para o desenvolvimento do cultivo.

550 Com relação às concentrações de nitrito, estas tiveram diferenças significativas
551 ($p<0,05$) entre o grupo controle e os tratamentos de 1mg/L e de 2mg/L com respeito aos
552 tratamentos de 0,25mg/L e 0,5mg/L, os quais apresentaram um aumento na
553 concentração de nitrito, alcançando um valor máximo de 0,22mg/L como se pode
554 observar na **Figura 4**, porem permanecendo dentre os limites estabelecidos como
555 ótimos para o desenvolvimento do cultivo. (**Figura 5**)

556

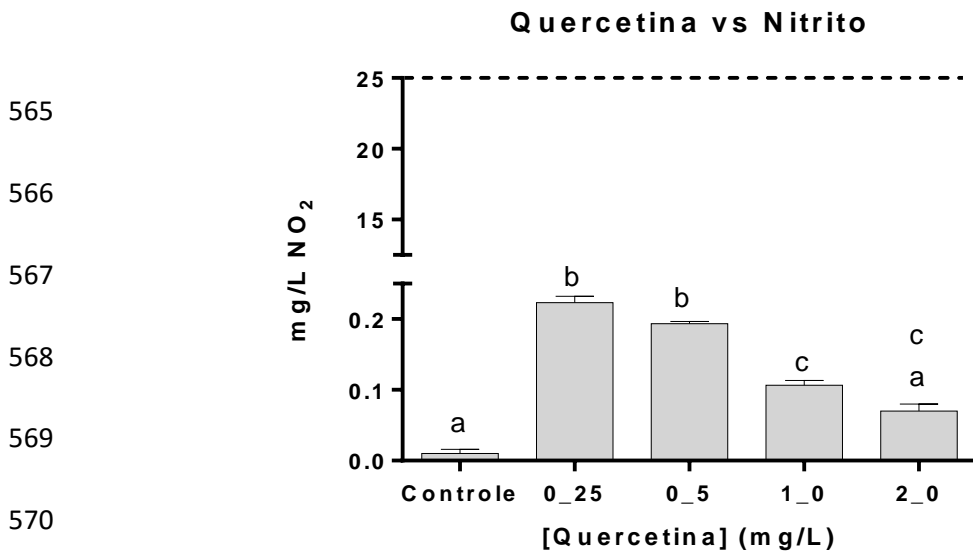
557



563

564

Figura 4. Variações na concentração de nitrito ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média± 1 desvio padrão



571

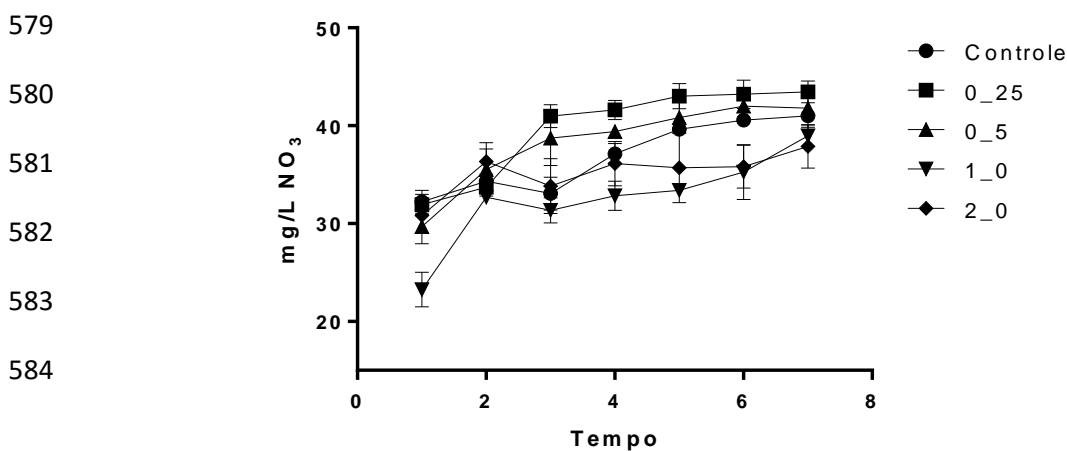
Figura 5 Variações na concentração de amônia total no final do período experimental nos diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média± 1 desvio padrão. Letras iguais indicam ausência de diferenças estatisticamente significativas ($p>0.05$), linha pontuada indica limite estabelecido como ótimo para o desenvolvimento do cultivo.

572

573 Na **Figura 6**, referente à concentração de nitrato, observa-se um comportamento
 574 uniforme em todos os tratamentos ao longo do experimento, sem apresentar diferenças
 575 significativas. Também permanecendo dentre os limites estabelecidos como ótimos para
 576 o desenvolvimento do cultivo. (**Figura 7**)

577

578



584

Figura 6. Variações na concentração de nitrato ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média± 1 desvio padrão.

585

586

587

588

589

590

591

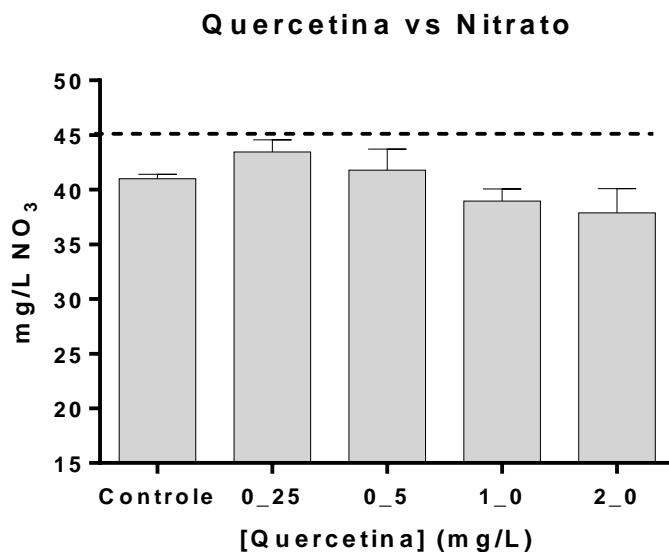


Figura 7 Variações na concentração de nitrato no final do período experimental nos diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média± 1 desvio padrão. Não se apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p>0.05$), linha pontuada indica limite estabelecido como ótimo para o desenvolvimento do cultivo.

592

593

594

595

A respeito da quantidade de sólidos sedimentáveis, observa-se na **Figura 8** uma tendência uniforme de aumento ao longo do período experimental, atingindo valores máximos de 150 ml/L sem evidenciar diferenças significativas entre os tratamentos.

596

597

598

599

600

601

602

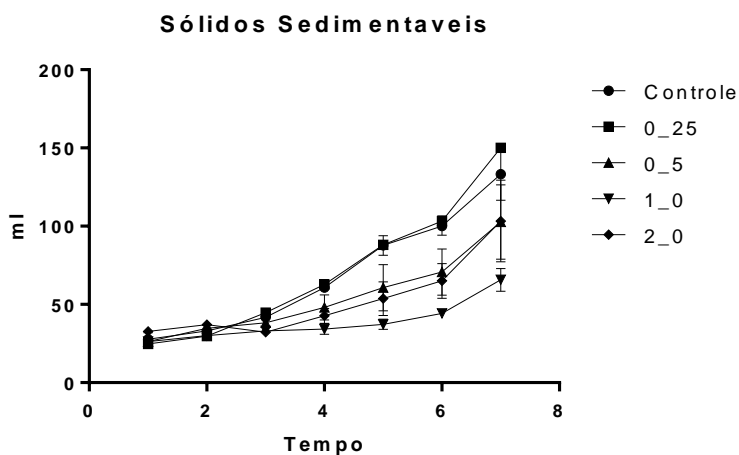


Figura 8. Variações na quantidade de sólidos sedimentáveis ao longo do período experimental nos diferentes tratamentos. Os dados são expressos como média± 1 desvio padrão

603 XX
604 XX
605 XX
606 XX
607 XX
608 XX

609
610
611
612
613
614
615
616

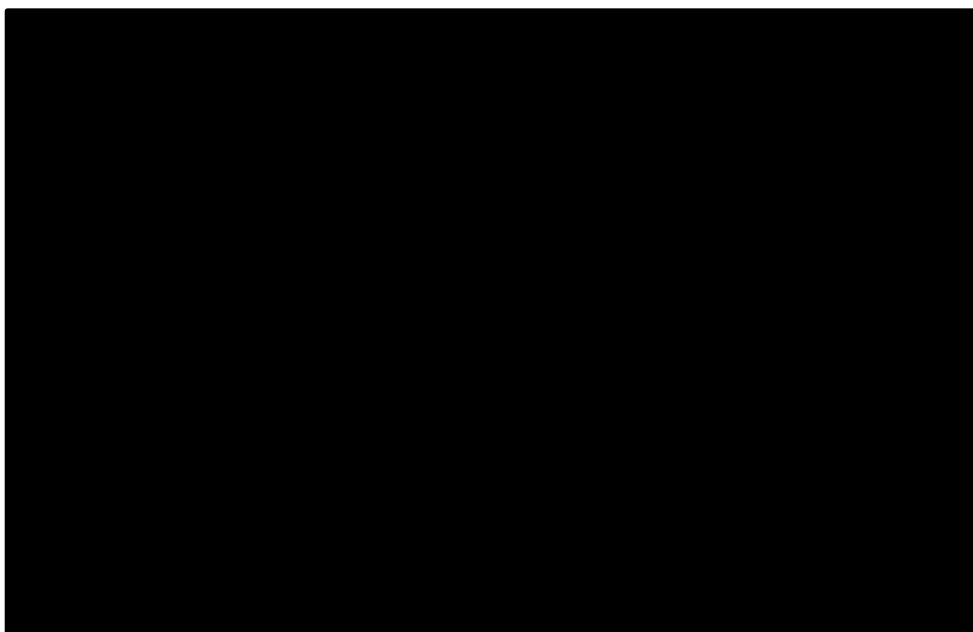


Figura9.

XX
XX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

617 **Na Figura 10,**

618 XX
619 XX
620 XX
621 XX

622 **Na Figura 11**

623 ,XX
624 XX
625 XX
626 XX

627

650 **DISCUSSÃO**

651

652 O oxigênio dissolvido (OD) é um dos fatores mais importantes para o adequado
653 desenvolvimento de sistemas BFT tendo em conta sua relação com o crescimento e a
654 sobrevivência de organismos. Segundo Zhang *et al.* (2006), o valor da concentração de
655 OD apropriado para cultivos de camarões deve estar acima de 5 mg/L, portanto, os
656 valores alcançados neste experimento com medias entre 7,73 e 8,40mg/L em todos os
657 tratamentos, não se encontraram afetados pela adição de quercetina.

658 Os valores de pH e alcalinidade ficaram nas faixas de tolerância para
659 *Litopenaeus vannamei*, descritas por Van Wyk & Scarpa (1999) e Ebeling *et al.* (2006).
660 Onde recomendam valores de pH dentro da faixa de 7,0 e 8,3 para o melhores
661 resultados de crescimento e sobrevivência dos camarões e de alcalinidade entre 100 e
662 170 mg/L de CaCO₃.

663 Para todos os tratamentos os níveis de compostos nitrogenados, amônia, nitrito e
664 nitrato estiveram dentro dos níveis de segurança; 1 mg/L para amônia, 25 mg/L para
665 nitrito e 45 mg/L para nitrato (Van Wyk & Scarpa 1999, Lin & Chen 2001, Lin & Chen
666 2003). Evidenciou-se uma queda ao longo do período experimental na concentração de
667 amônia e um aumento na concentração de nitrito, consequência do processo normal de
668 nitrificação e do aumento da biomassa microbiana, esse último é confirmado com o
669 acréscimo dos sólidos sedimentáveis como efeito da fertilização orgânica com melão
670 segundo a metodologia proposta por Avnimelech (1999) e Ebeling *et al.* (2006), onde se
671 manteve aproximadamente uma relação C/N entre 15 e 20:1 utilizando como fonte de
672 carbono o farelo de trigo para desenvolvimento dos microrganismos.

673 Sendo assim, é possível afirmar que os valores dos parâmetros de qualidade da
674 água medidos no presente estudo conseguiram-se manter nos níveis ótimos para o
675 desenvolvimento de cultivos BFT de *L. vannamei*, sem ser afetados pela adição de
676 quercetina.

677 xxx
678 xxx
679 xxx
680 xxx

711

712 **CONCLUSÕES**

713

714 XX
715 XXX
716 XXX
717 XXX
718 XXX
719 XXX
720 XXX
721 XXX
722 XXX
723 XXX
724 XXX

725

726

727

728

729

730

731

732

733

734

735 **BIBLIOGRAFIA**

736

737 AMADO, L.L., M.L. GARCIA, P.B. RAMOS, R.F. FREITAS, B. ZAFALON, J.L.R.
738 FERREIRA, J.S. YUNES, J.M. MONSERRAT. 2009. A method to measure total
739 antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to
740 evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*. 407: 2115-2123.

741 AMINOT A, CHAUSSEPIED, M. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu
742 marin. Brest, CNEXO, 395p.

743 APHA (American Public Health Association), 1998. Standard methods for the
744 examination of water and wastewater. 20st edition. Washington, DC. 1193p

745 AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
746 systems. *Aquaculture*, 176:227-335.

747 AVNIMELECH, Y., 2009. Biofloc technology - A practical guide book, first ed. The
748 World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.

749 BENDERSCHNEIDER, K & RJ ROBINSON. 1952. A new spectrophotometric method
750 748 for determination of nitrate in sea water. *Journal of Marine Research* 1: 69-87.

751 BROWDY, CL, D BRATVOLD, AD STOKES & RP MCINTOSH. 2001. Perspectives
752 on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy, CL & DE Jory.
753 The New Wave, Proceedings of the special session on sustainable shrimp culture,
754 Aquaculture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA : 20 - 34.

755 BURFORD, M. A., P. J., THOMPSON, R. P., MCINTOSH, R. H., BAUMAN,
756 PEARSON, D.C., 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-
757 exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393–411.

758 CUI, J, GUOWEI, L, YANG, R, SHI, Y., 2009: Lipoic acid attenuates high fat diet-
759 induced chronic oxidative stress and immunosuppression in mice jejunum: a
760 microarray analysis. *Cellular Immunology*. 260: 44–50.

761 EBELING, JM, TIMMONS, MB, BISOGNI, JJ. 2006. Engineering analysis of the
762 stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of

- 763 ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture* 257:346–358.
- 764 FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Roma. 253 págs.
- 765 HOPKINS, JS, PA SANDIFER & CL BROWDY. 1995. Effects of two feed protein
766 levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive
767 shrimp ponds operated without water exchange. *Journal World Aquaculture*
768 *Society*, 26: 93-97.
- 769 JIANG, J, ZHENG, T, ZHOU, X, LIU, Y, FENG, L. 2009. Influence of glutamine and
770 vitamin E on growth and antioxidant capacity of fish enterocytes. *Aquaculture*
771 *Nutrition* 15: 409–414.
- 772 JU, Z Y, FORSTER, I, CONQUEST, L, & DOMINY W. 2008. Enhanced growth
773 effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or
774 floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition* 14: 533–543.
- 775 KIKUCHI, K, FURUTA, T, IWATA, N, ONUKI, K, NOGUCHI, T, 2009. Effect of
776 dietary lipid levels on the growth, feed utilization, body composition and blood
777 characteristics of tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Aquaculture* 298:111-117.
- 778 LIN, Y & J CHEN. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* (Boone)
779 juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and*
780 *Ecology*, 259: 109-119.
- 781 LIN Y, & J CHEN. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone)
782 juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224: 193-201.
- 783 LIU, S.L., 2012. Effects of *Sophora* flavonoid levels on the growth and antioxidant
784 capacity in hepatopancreas of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Degree Diss., Jimei
785 University, Xiamen, China.
- 786 MARQUES, G S, MONTEIRO, R P M, LEÃO, W F. 2012. Avaliação de
787 procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em
788 folhas de *Bauhinia forficata*. *Química Nova*, 35(3): 517-522.
- 789 MARTINS A C, FLORES J A, WASILIESKY JR W, ZANETTE J, PRIMEL E G,

- 790 CALDAS S, MONSERRAT J M. 2014. Modulation of antioxidant and
791 detoxification responses induced by lipoic acid in the Pacific white shrimp
792 *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) subjected to hypoxia and re-oxygenation.
793 *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, Vol. 47, Iss. 5, 335–348
- 794 MARTINS A C, FLORES J A, PORTO C, WASIELESKY W, MONSERRAT J M.
795 2015. Antioxidant and oxidative damage responses in different organs of Pacific
796 white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) reared in a biofloc technology
797 system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, Vol. 48, No. 4, 279–
798 288.
- 799 MOSS, S M, FORSTER, I P, & TACON A G J. 2006. Sparing effect of pond water on
800 vitamins in shrimp diets. *Aquaculture*. 258:388–395.
- 801 PRINCE, P S M, SATHYA, B. 2010. Pretreatment with quercetin ameliorates lipids,
802 lipoproteins and marker enzymes of lipid metabolism in isoproterenol treated
803 cardiotoxic male wistar rats. *European Journal of Pharmacology*. 635:142-148
- 804 SCHRYVER, PD, R CRAB, T DEFOIRDT, N. BOON, W VERSTRAETE. 2008. The
805 basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277:
806 125–137
- 807 SHIN, H S, YOO, J H, MIN, T S, LEE, J, CHOI, C Y. 2010. The effects of quercetin on
808 physiological characteristics and oxidative stress resistance in olive flounder,
809 *Paralichthys olivaceus*. *Asian Austral. J. Anim.* 23:588-597.
- 810 SILVA J, HERRMANN S M, PERES W, POSSA M N, GONZALEZ G J,
811 ERDTMANN B. 2002. Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin
812 by comet assay and micronucleus test. *Food Chem Toxicol*; 40: 941-947
- 813 UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring.
814 Manual 944 and Guides 12. Intergovernmental Oceanographic Commission,
815 Paris, France.
- 816 VAN WYK, P & J SCARPA. 1999. Water Quality and Management. In: VAN WYK, P
817 et al. (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida

- 818 Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee. 6: 128-138.
- 819 VIEIRA, S, R HOFFMANN.1989. Estatística Experimental.Editora Atlas, São Paulo,
820 SP.179p.
- 821 WASIELESKY, W, H ATWOOD, A STOKES, CL BROWDY. 2006a. Effect of
822 natural production in a zero exchange suspended microbial floc based
823 superintensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*.
824 *Aquaculture*, 258:396-403.
- 825 WASIELESKY, W, EMERENCIANO, M.,BALLESTER, E., SOARES, R.,
826 CAVALLI, R. e ABREU, P. C. 2006 b. Flocos Microbianos: um novo caminho a
827 ser percorrido. *Revista Panorama da Aquicultura*, 16 (96):14-23.
- 828 WASIELESKY, W, KRUMMENAUER, D, LARA, G, FÓES, G & POERSCH, L.
829 2013. Cultivo de camarões em sistemas de biofloc: realidades e perspectivas.
830 *Revista ABCC*. 15(2):30 – 35.
- 831 XU, W J, PAN, L Q. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive
832 enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-
833 water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture* 356-357: 147–
834 152.
- 835 YANG, H M, HAMB, Y M, YOON, W J, ROH S, W, JEON, Y J, ODA, T, KANG, S
836 M, KANG, M C, KIM E, A, KIM, D & KIM, K N. 2012. Quercetin protects against
837 ultraviolet B-induced cell death in vitro and in an in vivo zebrafish model. *Journal*
838 *of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 114: 126:131.
- 839 ZHANG, P, ZHANG, X, LI, J & HUANG, G. 2006. The effects of body weight,
840 temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels
841 of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 256: 579-587.
- 842 ZHAI, S W, LIU, S L. 2014. Effects of dietary quercetin on the growth performance,
843 digestive enzymes and antioxidant potential in the hepatopancreas of Tilapia
844 (*Oreochromis niloticus*). *The Israeli Journal of Aquaculture* 66: 1038 – 1046.

845

846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871

CAPITULO II

Influência da adição de quercetina na água de cultivo do tipo BFT de camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei*, e seus efeitos em parâmetros antioxidantes e de dano oxidativo.

Diana Carolina Molina León^{a,b}, Wilson Wasiliesky Junior^{a,b,c}, José Maria Monserrat^{a,b,d*}

^a*Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brazil;*

^b*Programa de Pós-graduação em Aquicultura, FURG;*

^c*Instituto de Oceanografia (IO), FURG, Brazil;*

^d*Instituto de Ciências Biológicas (ICB), FURG, Brazil*

872 **RESUMO**

873

874 A aquicultura tem impulsionado a demanda e o consumo de espécies como o
875 camarão, que se estabelece como um dos produtos aquícolas mais importantes, por
876 representar o 15% do valor total dos produtos pesqueiros comercializados. A nível
877 internacional, em 2012 teve uma crescente demanda de consumo.

878 xxx
879 xxx
880 xxx
881 xxx
882 xxx
883 xxx
884 xxx
885 xxx
886 xxx
887 xxx
888 xxx
889 xxx
890 xxx
891 xxx
892 xxx
893 xxx
894 xxx
895 xxx
896 xxx
897 xxx
898 xxx
899 xxx
900 xxx

901 **Palavras chave:** Antioxidantes, Alimento funcional, Peroxidação lipídica.

902 **ABSTRACT**

903 Aquaculture has favored the demand and consumption of species such as shrimp, one of
904 the most important aquaculture products because it represents 15% of the total value of
905 fish products traded internationally in 2012 and it has a growing consumer demand.

906 XX
907 XX
908 XX
909 XX
910 XX
911 XX
912 XX
913 XX
914 XX
915 XX
916 XX
917 XX
918 XX
919 XX
920 XX
921 XX
922 XX
923 XX
924 XX
925 XX
926 XX

927

928 **Keywords:** Antioxidants, functional food, lipid peroxidation.

929

930

931

1039 (marca Mettler Toledo®, modelo FE20). Além disso, foram medidos diariamente
 1040 compostos nitrogenados: amônia e nitrito. A determinação de amônia seguiu a
 1041 metodologia segundo UNESCO (1983), e o nitrito segundo a metodologia descrita por
 1042 Bendschneider e Robinson (1952). O nitrato e os sólidos sedimentáveis foram medidos
 1043 a cada 10 dias usando as metodologias de Aminot e Chaussepied (1983) e Avnimelech
 1044 (2009), respectivamente.

1045

1046 **AMOSTRAS DE BIOFLOCOS**

1047 xxx
 1048 xxx
 1049 xxx
 1050 xxx
 1051 xxx
 1052 xxx

1053

1054 **EXTRATO DE BIOFLOCO.**

1055 xxx
 1056 xxx
 1057 xxx
 1058 xxx
 1059 xxx
 1060 xxx
 1061 xxx
 1062 xxx.

1063

1064 **DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS**

1065 O teor de flavonoides totais foi determinado nas amostras de bioflocos coletadas
 1066 a cada 10 dias por espectrofotometria, usando o método colorimétrico com cloreto de
 1067 alumínio (AlCl₃) proposto por Marques (2012).

1068

1069 **DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE**

1070 A capacidade antioxidante foi determinada seguindo a metodologia de Amado *et*

1071 *al.* (2009) para determinação da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil em
1072 organismos aquáticos. Os reagentes utilizados foram: tampão de reação ajustado a pH
1073 7,20 (HEPES 30 mM; KCl 200 mM; MgCl 1mM, dissolvidos em água ultrapura),
1074 ABAP (2,2'-azobis (2 metilpropionamidina) dihidrocloro, 4 mM) e solução estoque
1075 de 2,7 diclorofluoresceína (H₂DCF-DA). As leituras foram realizadas em fluorímetro
1076 com leitora de microplacas (Víctor 2, Perkin 347 Elmer) a cada 4 minutos durante 1
1077 hora a 37° C para promover a geração de peroxi-radicais através da termólise do ABAP.
1078 Para os ensaios foram dispostos em cada poça da microplaca branca: 127,5 µl de
1079 tampão de reação, 10 µl de extrato de biofoco, 7,5 µl de água ultrapura ou do gerador
1080 de radicais peroxil (ABAP), e finalmente 10 µl de solução de H₂DCFDA, foram
1081 realizados dosagens em triplicata e tendo um branco para cada amostra. Depois, os
1082 dados de capacidade antioxidante foram expressos como a diferença de área relativa das
1083 unidades de fluorescência nas amostras com e sem ABAP, assim, menores valores da
1084 área relativa indicam uma maior capacidade antioxidante.

1085

1086 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DOS CAMARÕES

1087 Uma biometria inicial (n=70) foi realizada para estimar o peso médio dos
1088 camarões a serem estocados em cada unidade experimental. No final do experimento,
1089 foi realizada outra biometria para avaliar o ganho de peso (g) e foi realizada a contagem
1090 dos animais de cada unidade experimental para calcular a sobrevivência.

1091

1092 DISSECAÇÃO DOS CAMARÕES

1093 Os camarões foram coletados aleatoriamente de cada tanque e dissecados no
1094 instante, retirando amostras de músculo e hepatopâncreas. As amostras foram colocadas
1095 em tubos eppendorff e armazenadas em ultra freezer a -80 °C para sua posterior análise.

1096

1097 EXTRATO DE TECIDO PARA DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES

1098 XXX
1099 XXX
1100 XXX
1101 XXX
1102 XXX

1135 microplacas de 96 poças para leitura da fluorescência usando Víctor 2, Perkin Elmer
1136 (excitação: 515 nm; emissão: 553 nm). Os resultados ficaram expressos em nanomoles
1137 de equivalentes de MDA por mg de tecido.

1138

1139 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

1140 Os resultados de cada uma das variáveis registradas e obtidas nos tratamentos
1141 foram comparados através do teste de ANOVA de duas vias (concentração de
1142 quercetina e tempo de exposição), para amostras de água e biofoco, e ANOVA de uma
1143 via para amostras de tecido (músculo e hepatopâncreas), comparando-se as médias de
1144 cada tratamento. Em todos os casos foi utilizado um nível de significação de 5%. As
1145 comparações entre as médias dos diferentes tratamentos realizaram-se através do teste
1146 de Newman-Keuls segundo Vieira & Hoffmann (1989). Em todos os casos os
1147 pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram avaliados e foram
1148 aplicadas transformações matemáticas se pelo menos um dos requisitos não era
1149 verificado.

1150

1151

1152

1153

1154

1155

1156

1157

1158

1159

1160

1161 **RESULTADOS**

1162 **PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA.**

1163 Na Tabela 1, são apresentados os resultados obtidos dos parâmetros de qualidade da
 1164 água, observa-se que todos se mantiveram nas faixas estabelecidas como ótimas para o
 1165 bom desenvolvimento do cultivo e sem apresentar diferença significativa entre os
 1166 tratamentos.

1167 **Tabela 1** – Parâmetros de qualidade da água (médias ± desvio padrão) no tratamento
 1168 Controle, e no tratamento com de adição quercetina (1mg/L) durante o cultivo de
 1169 *Litopenaeus vannamei* em sistema BFT. Em todos os casos não foram observadas
 1170 diferenças estatísticas (p>0,05) para cada variável entre o tratamento Controle e com
 1171 adição de quercetina.

PARÂMETRO	TRATAMENTO	
	CONTROLE	QUERCETINA [1mg/L]
Oxigênio (mg/L) (n=120)	5,74 ± 0,029	5,76 ± 0,028
pH (n=120)	8,04 ± 0,041	8,01 ± 0,041
Amônia (mg/L) (n=120)	0,056 ± 0,003	0,067 ± 0,005
Nitrito (mg/L) (n=120)	0,17 ± 0,006	0,18 ± 0,005
Nitrato (mg/L) (n=16)	31,75 ± 1,04	31,00 ± 1,42
Sólidos Sedimentáveis (ml/L) (n=16)	8,93 ± 0,63	11,56 ± 1,53

1172

1173 **DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DOS CAMARÕES**

1174 xxx

1175 xxx

1176 xxx

1177 xxx

1178 xxx

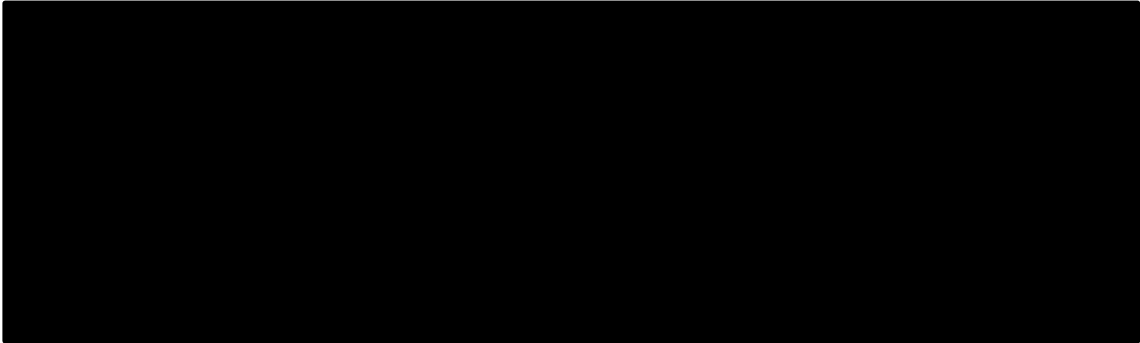
1179 xxx

1180 xxx

1181

Tabela 2. Desempenho zootécnico dos camarões (média ± desvio padrão) no tratamento controle e no tratamento com adição quercetina durante o cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema BFT. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (p>0.05).

1182
1183
1184
1185
1186
1187
1188

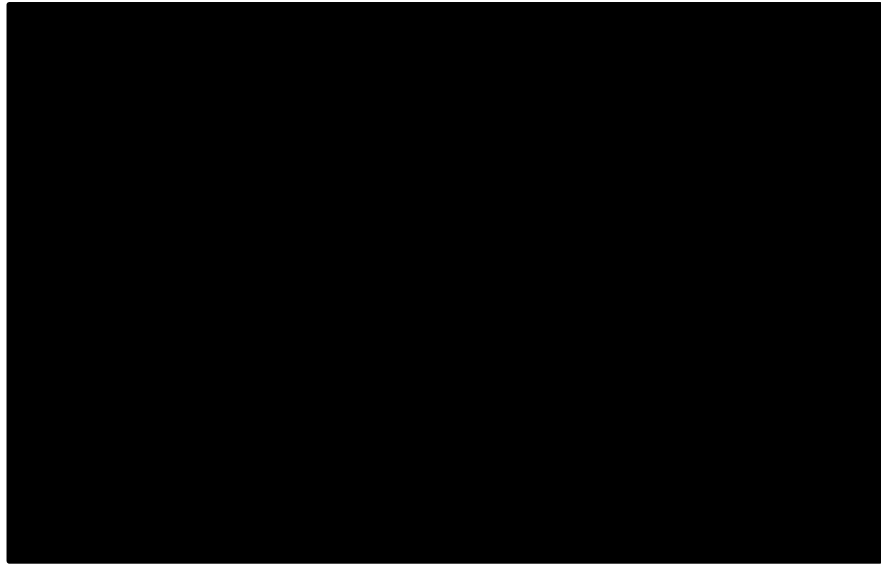


1189 Letras diferentes na mesma linha representam diferença significativa (p<0,05).

1190 TEOR DE FLAVONOIDES E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM
1191 BIOFLOCO

1192 XXX
1193 XXX
1194 XXX
1195 XXX

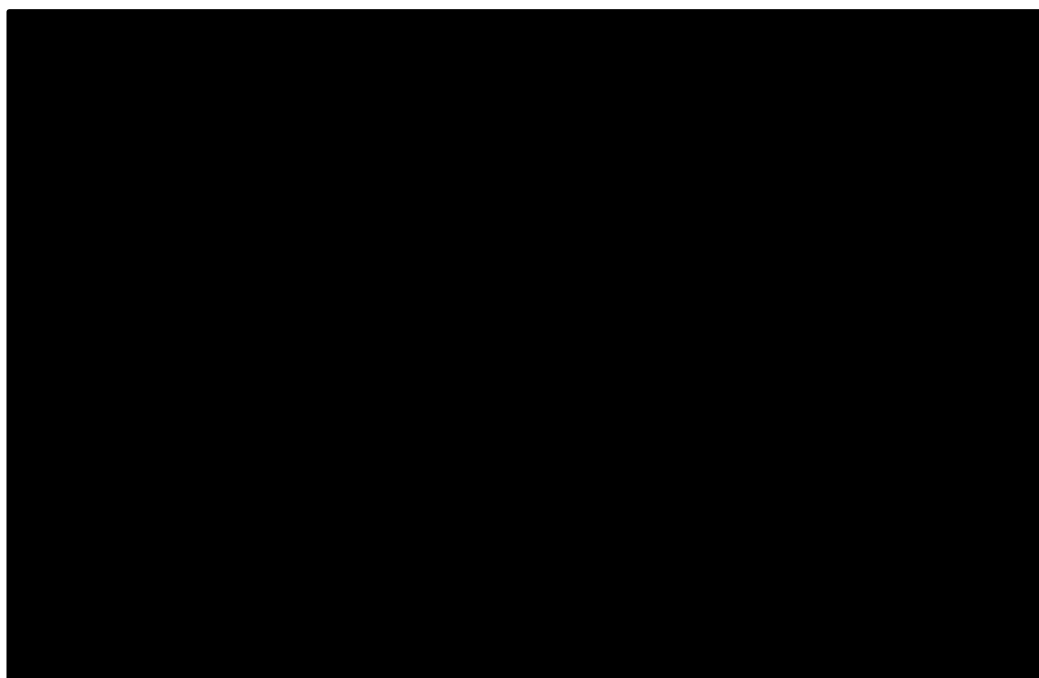
1196
1197
1198
1199
1200
1201
1202
1203



1204 **Figura** 1
1205 XXX
1206 XXX
1207 XXX

1208 XX
1209 XX
1210 XX
1211 XX
1212 XX
1213 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (Figura 2)

1214
1215
1216
1217
1218
1219
1220
1221
1222



1223 **Figura**
1224 **2**XX
1225 XX
1226 XX
1227 XX

1228

1229 TEOR DE FLAVONOIDES EM CAMARÃO

1230 XX
1231 XX
1232 XX
1233 XX
1234 XX
1235 XX
1236 XX
1237 XXXXXXXXXXXXXX

1238

(a) Hepatopâncreas

1239

1240

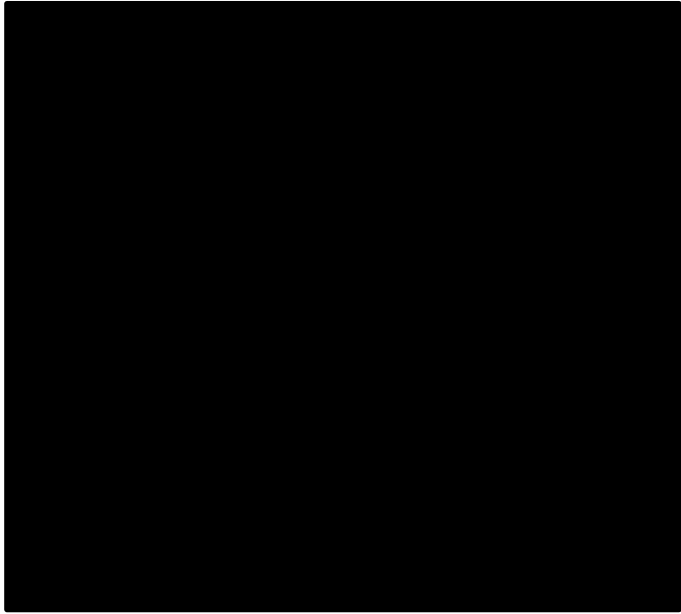
1241

1242

1243

1244

1245



1246

(b) Músculo

1247

1248

1249

1250

1251

1252

1253

1254



1255

Figura

3.

XX
XX
XX

1256

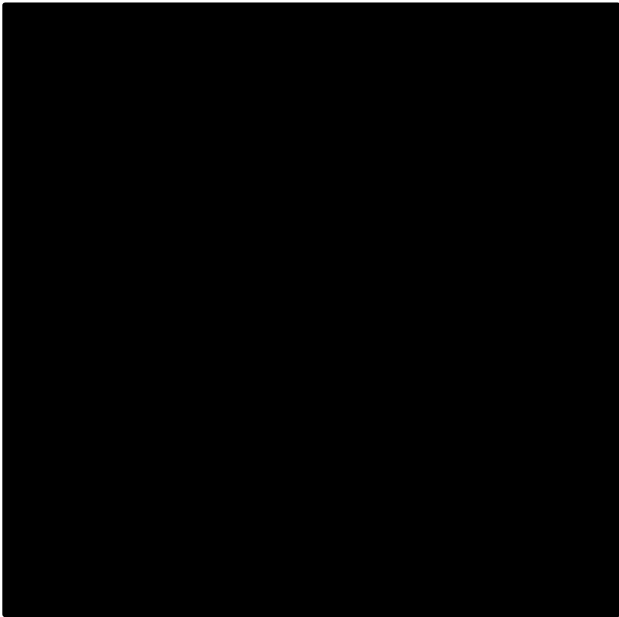
1257

1258

1259 NÍVEIS DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS)

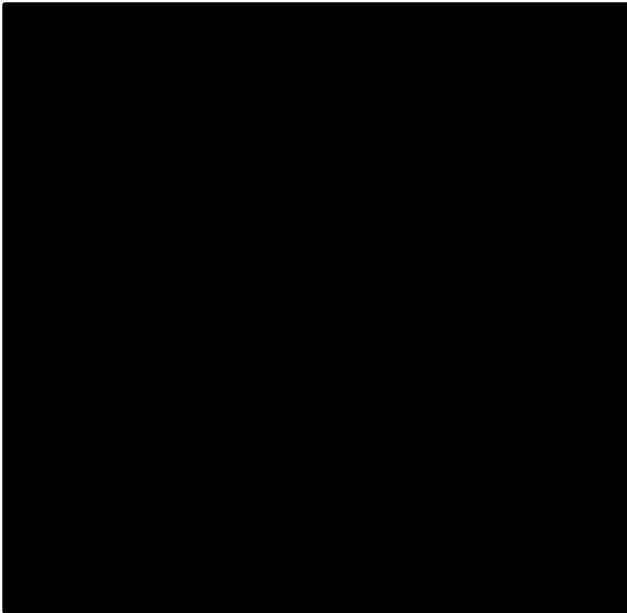
1260
1261
1262
1263

1264 (a) Hepatopâncreas



1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271
1272
1273

1274 (b) Músculo



1275
1276
1277
1278
1279
1280
1281
1282
1283

1284 **Figura**

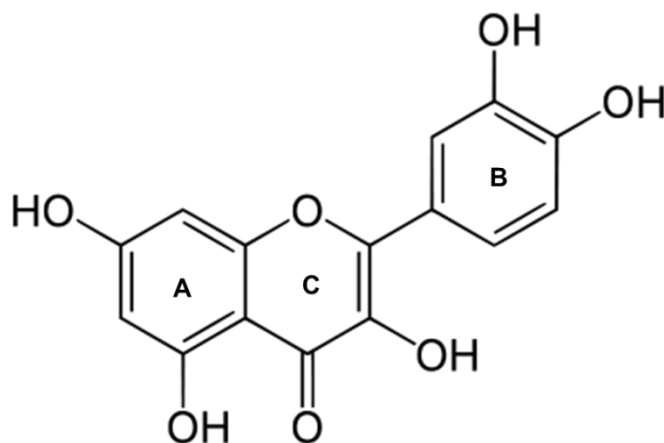
4.

1285
1286
1287

1288 **DISCUSSÃO**

1289
1290
1291
1292
1293
1294
1295
1296
1297
1298
1299
1300
1301
1302
1303
1304
1305
1306
1307
1308
1309
1310
1311
1312
1313
1314
1315
1316
1317
1318
1319

1320
1321
1322
1323
1324
1325
1326
1327
1328
1329



1330

Figura 5. Estrutura química da quercetina. Imagem retirada de D'Andrea (2015).

1331
1332
1333
1334
1335
1336
1337
1338
1339
1340
1341
1342
1343

1344

1345 **CONCLUSÕES**

1346 XX

1347 XX

1348 XX

1349 XX

1350 XX

1351 XX

1352 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

1353

1354

1355

1356

1357

1358

1359

1360

1361

1362

1363

1364

1365

1366

1367

1368

1369

1370

1371 **CONCLUSÕES GERAIS**

1372 • As concentrações de quercetina testadas não alteram negativamente as
1373 características da qualidade de água de sistemas BFT.

1374 • XXX
1375 XXX
1376 XXX

1377 • XXX
1378 XXX
1379 XXX
1380 XXXXXXXXXXXXXXX

1381

1382 **PERSPECTIVA**

1383 XXX
1384 XXX
1385 XXX
1386 XXX

1387

1388

1389

1390

1391

1392

1393

1394

1395

1396 **BIBLIOGRAFIA**

- 1397 AMADO, L.L., M.L. GARCIA, P.B. RAMOS, R.F. FREITAS, B. ZAFALON, J.L.R.
1398 FERREIRA, J.S. YUNES, J.M. MONSERRAT. 2009. A method to measure total
1399 antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to
1400 evaluate microcystins toxicity. *Science of the Total Environment*. 407: 2115-
1401 2123.
- 1402 AMINOT A, CHAUSSEPIED, M. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu
1403 marin. Brest, CNEXO, 395.
- 1404 ARNOLD, S J, COMAN, F E, JACKSON, C J, GROVES, S A, 2009. High-intensity,
1405 zero waterexchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an
1406 evaluation of artificial substrates and stocking density. *Aquaculture* 293: 42–48.
- 1407 AVNIMELECH, Y., 2009. Biofloc technology - A practical guide book, first ed. The
1408 World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- 1409 BEECHER G R, WARDEN B A, MERKEN H, 1999. Analysis of tea polyphenols,
1410 *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 220: 267–270.
- 1411 BENDERSCHNEIDER, K & RJ ROBINSON. 1952. A new spectrophotometric method
1412 for determination of nitrate in sea water. *Journal of Marine Research* 1: 69-87
- 1413 BORS W, MICHEL C, SARAN M, 1994. Flavonoid antioxidants: rate constants for
1414 reactions with oxygen radicals, *Methods Enzymol.* 234: 420–429.
- 1415 D'ANDREA G, 2015. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications?
1416 *Fitoterapia* 106: 256–271
- 1417 EUFIC. 2006. European food information council. *Functional Foods*. Loesencial.
- 1418 FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Roma. 253 págs.
- 1419 GALATI G, MORIDANI M Y, CHAN T S, O'BRIEN P J, 2001. Peroxidative
1420 metabolism of apigenin and naringenin versus luteolin and quercetin: glutathione
1421 oxidation and conjugation, *Free Radic. Biol. Med.* 30: 370–382.

- 1422 HAENEN G R & BAST A, 1999. Nitric oxide radical scavenging of flavonoids,
1423 Methods Enzymol. 301: 490–503.
- 1424 HAENEN G R, PAQUAY J.B, KORTHOUWER R.E, BAST A, 1997. Peroxynitrite
1425 scavenging by flavonoids, Biochem. Biophys. Res. Commun. 236: 591–593.
- 1426 HANASAKI Y, OGAWA S, FUKUI S, 1994. The correlation between active oxygens
1427 scavenging and antioxidative effects of flavonoids, Free Radic. Biol. Med. 16:
1428 845–850.
- 1429 HARWOOD M, DANIELEWSKA-NIKIEL B, BORZELLECA J F, FLAMM G W,
1430 WILLIAMS G M, LINES T C. 2007. A critical review of the data related to the
1431 safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of
1432 genotoxic/carcinogenic properties, Food Chem. Toxicol. 45: 2179–2205.
- 1433 HEIJNEN C G, HAENEN G R, OOSTVEEN R M, STALPERS E M, BAST A, 2002.
1434 Protection of flavonoids against lipid peroxidation: the structure activity
1435 relationship revisited, Free Radic. Res. 36: 575–581.
- 1436 HEIJNEN C G, HAENEN G R, VAN ACKER F A., W J, VAN DER VIJGH F A,
1437 BAST A, 2001. Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl
1438 groups, Toxicol. In Vitro 15: 3–6.
- 1439 HERTOOG M G, HOLLMAN P C, KATAN M B, KROMHOUT D, 1993. Intake of
1440 potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The
1441 Netherlands, Nutr. Cancer 20: 21–29.
- 1442 HOLLMAN P C H & KATAN M B, 1997. Absorption, metabolism and health effects
1443 of dietary flavonoids in man, Biomed. Pharmacother. 51: 305–310.
- 1444 ILSI. 2002. Concepts of functional foods, ILSI Europe concise monograph series.
1445 International Life Sciences Institute. Brussels Belgium. 45 págs.
- 1446 KALRA, E. K. (2003). Nutraceutical-definition and introduction. Aaps Pharmsci, 5(3):
1447 27-28.
- 1448

- 1449 LI J, WANG F, LI S, PENG Z, 2014. Effects of pepper (*Zanthoxylum bungeanum*
1450 *Maxim.*) leaf extract on the antioxidant enzyme activities of salted silver carp
1451 (*Hypophthalmichthys molitrix*) Journal Funtional Foods. doi:
1452 10.1016/j.jff.2014.07.018.
- 1453 MARQUES, G S, MONTEIRO, R P M, LEÃO, W F. 2012. Avaliação de
1454 procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em
1455 folhas de Bauhinia forficata. *Química Nova*, 35(3): 517-522.
- 1456 MEGAHEED, M E, 2010. The effect of microbial biofloc on water quality, survival and
1457 growth of the green tiger shrimp (*Penaeus Semisulcatus*) fed with different crude
1458 protein levels. Journal of the Arabian Aquaculture Society 5: 119–142.
- 1459 OAKES, KD, GJ VAN DER KRAAK. 2003. Utility of the TBARS assay in detecting
1460 895 oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations
1461 exposed to 896 pulp mill effluent. *Aquat Toxicol.*, 63: 447-463
- 1462 PAZ M, GÚLLON P, BARROSO M F, CARVALHO A P, DOMINGUES V F,
1463 GOMES A M, BECKER H, LONGHINOTTI E, DELERUE-MATOS E. 2014.
1464 Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive
1465 compounds. *Food Chemistry*. Volume 172: 462–468.
- 1466 PÊSA T S, ETIANE M H, SACCOLA G M, LONDEROA E P, GRESSLERA L T,
1467 GOLOMBIESKIB J L, GLANZNERC W G, LLESUYD S F, GONÇALVESC P
1468 B, NETOE J R, BALDISSEROTTOA B, PAVANATOA M A, 2016 Quercetin in
1469 the diet of silver catfish: Effects on antioxidant status, blood parameters and
1470 pituitary hormone expression *Aquaculture*, ISSN 0044-8486
- 1471 ROSS J A & KASUM C M, 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic
1472 effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr.* 22: 19- 34.
- 1473 SAKANASHI Y, OYAMA K, MATSUI H, OYAMA T B, OYAMA T M,
1474 NISHIMURA Y, SAKAI H, OYAMA Y, 2008. Possible use of quercetin, an
1475 antioxidant, for protection of cells suffering from overload of intracellular Ca²⁺: a
1476 model experiment, *Life Sci.* 83: 164–169.

- 1477 SCHULER, D J, BOARDMAN, G D, KUHN, D D, FLICK, G J, 2010. Acute Toxicity
1478 of Ammonia and Nitrite to Pacific White Shrimp , *Litopenaeus vannamei* , at Low
1479 Salinities. Journal Of The World Aquaculture Society, 41(3), 438-446.
- 1480 SHIN, H S, YOO, J H, MIN, T S, LEE, J, CHOI, C Y. 2010. The effects of quercetin on
1481 physiological characteristics and oxidative stress resistance in olive flounder,
1482 *Paralichthys olivaceus*. Asian Austral. J. Anim. 23:588-597.
- 1483 UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring.
1484 Manual and Guides 12. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris,
1485 France.
- 1486 VIEIRA, S, R HOFFMANN.1989. Estatística Experimental. Editora Atlas, São Paulo,
1487 SP.179p
- 1488 VINATEA, L, GÁLVEZ, A O, BROWDY, C L, STOKES, A, VENERO, J,
1489 HAVEMAN, J, LEWIS, B L, LAWSON, A, SCHULER, A, LEFFLER, J W,
1490 2010. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus*
1491 *vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange:
1492 Interaction of water quality variables. Aquaculture Eng. 42,17-24.
- 1493 WASIELESKY, W, ATWOOD, H, STOKES, A, BROWDY, C L, 2006. Effect of
1494 natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-
1495 intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture
1496 258, 396–403.
- 1497 XU, W J, PAN, L Q. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive
1498 enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-
1499 water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture 356-357: 147–
1500 152.
- 1501 YASIN, M, A ASGHAR, FM ANJUM, MS BUTT, MI KHAN, MS ARSHAD, M
1502 SHAHID, AH EL-GHORAB & T SHIBAMOTO. 2012. Oxidative stability
1503 enhancement of broiler bird meats with a-lipoic acid and a-tocopherol acetate
1504 supplemented feed. Food Chem., 131: 768-773.

1505 ZHAI, S W, LIU, S L. 2014. Effects of dietary quercetin on the growth performance,
1506 digestive enzymes and antioxidant potential in the hepatopancreas of Tilapia
1507 (*Oreochromis niloticus*). The Israeli Journal of Aquaculture 66: 1038 – 1046.
1508