



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

ANA CARLA DOS SANTOS WANDERLEY

**EFEITO INIBITÓRIO DO CARVACROL NA ATIVIDADE TRÍPTICA DO CAMARÃO
BRANCO DO PACÍFICO *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931)**

Recife

2023

ANA CARLA DOS SANTOS WANDERLEY

**EFEITO INIBITÓRIO DO CARVACROL NA ATIVIDADE TRÍPTICA DO CAMARÃO
BRANCO DO PACÍFICO *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931)**

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito para a obtenção do título
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Ranilson de Souza Bezerra

Coorientador(a): Maria Angélica da Silva

Recife

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Wanderley, Ana Carla dos Santos.

Efeito inibitório do carvacrol na atividade triptica do camarão branco do
pacífico *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931) / Ana Carla dos Santos Wanderley.
- Recife, 2023.

36 : il., tab.

Orientador(a): Ranilson de Souza Bezerra

Coorientador(a): Maria Angélica da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

1. Carcinicultura. 2. Tripsina. 3. Óleos essenciais. I. Bezerra, Ranilson de
Souza . (Orientação). II. Silva, Maria Angélica da. (Coorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

ANA CARLA DOS SANTOS WANDERLEY

**EFEITO INIBITÓRIO DO CARVACROL NA ATIVIDADE TRÍPTICA DO CAMARÃO
BRANCO DO PACÍFICO *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931)**

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito para a obtenção do título
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

MSc. Guilherme Melgaço Heluy
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Luciano Clemente da Silva
Universidade Federal de Pernambuco

À todos que estiveram ao meu lado nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Mariângela, pelo apoio incondicional durante toda a vida. Obrigada por ter acreditado em mim quando muitas vezes nem eu acreditava. Obrigada por ser exemplo de mãe. Tudo o que eu sou, devo à senhora, e serei eternamente grata.

À minha irmã Julia, por ser a melhor amiga que eu poderia ter. Obrigada por estar sempre ao meu lado, por me ensinar um lado mais leve de ver a vida e por sempre ser o meu refúgio. A gente é para sempre.

Ao meu companheiro Caio Andrey, por ser a melhor pessoa com quem eu poderia dividir a vida. Obrigada pelo apoio e pela paciência em todos os momentos. Obrigada por me inspirar a ser alguém melhor todos os dias. A vida é muito melhor com você.

À toda minha família, em especial aos meus avós Zezinha (*in memoriam*) e Mero (*in memoriam*), às minhas tias Marielvys, Lene, Every, Ariana e Luiza (*in memoriam*), por serem inspirações como pessoas e como profissionais, e à minha prima Eduarda, por todas as boas memórias que me acompanham sempre. Obrigada por todo amor e pelo apoio. Vocês fazem parte de cada conquista minha, e levarei vocês comigo para sempre, ainda que distante.

À todos os amigos que fiz durante a vida, mas em especial a Bianca, Morgana, Mário e Daniel. Obrigada por estarem ao meu lado e serem os melhores amigos que eu poderia ter. E agradeço também aos amigos que Recife me deu: Hanne, Matheus, Tati, Lucas, Clara, Caio Vinicius, Jhennipher e a todos da graduação que contribuíram com o que sou hoje. Obrigada por todos os momentos bons e ruins, e obrigada por serem pessoas tão especiais. Sem vocês a nova vida que eu criei em Recife não seria a mesma.

Agradeço também ao prof. Dr. Ranilson, que abriu as portas do LABENZ para mim, o que me deu uma nova visão de vida e de muitas oportunidades. Mas agradeço especialmente à Maria Angélica, por ser a melhor coorientadora que eu poderia ter. Obrigada pela confiança, pelos ensinamentos, pelas risadas nos dias de trabalho, e tudo mais. Vou ser grata a você sempre.

“Se eu vi mais longe, foi por estar de pé sobre os ombros de gigantes.”

Isaac Newton

RESUMO

A carcinicultura brasileira é considerada uma das principais atividades dentro da aquicultura devido ao alto valor econômico do camarão. Um dos maiores custos na carcinicultura é a ração, e algumas vezes ela pode não garantir a devida nutrição e o crescimento dos camarões. A partir disso, tem-se aumentado a procura por aditivos alimentares que auxiliam no cultivo desses animais. Esses aditivos fitogênicos podem vir com propriedades de aumentar o consumo da ração e melhorar respostas anti-inflamatórias e antioxidantes nos animais cultivados. Um desses aditivos utilizados é o óleo essencial, que pode ser rico em diversos compostos com estas características. O óleo essencial de orégano, que tem como principal componente o carvacrol, possui atividades biológicas antioxidante, antisséptica, anticancerígena, antidiabética, promotora de crescimento, entre outras. Entretanto, há pouco estudo se o carvacrol pode inibir alguma via metabólica, de forma a agir como um fator anti-nutricional, apresentando distúrbio metabólico ao animal. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do carvacrol na atividade proteolítica total e a atividade específica da tripsina, uma importante enzima digestiva responsável pela hidrólise de proteínas. A atividade proteolítica total e da tripsina foi determinada utilizando extrato de hepatopâncreas do camarão *Penaeus vannamei* preparado em tampão Tris-HCl 0,1 M pH 8,0. A concentração de proteína dos extratos brutos foi determinada usando BSA (albumina de soro bovino) como padrão. Para o ensaio de inibição com o carvacrol, o extrato bruto do hepatopâncreas foi incubado durante 60 min com uma solução de carvacrol 8 mM em Tris-HCl 0,1 M pH 8,0, logo após foi calculado a atividade de tripsina. A atividade de proteases total no extrato bruto do hepatopâncreas foi de $54,11 \pm 6,35$ mU.mg⁻¹, enquanto a atividade da tripsina foi de $12,83 \pm 0,29$ mU.mg⁻¹. Após a incubação com o carvacrol, a atividade proteolítica total foi determinada em $56,64 \pm 2,58$ mU.mg⁻¹, enquanto a atividade de tripsina foi equivalente a $0,43 \pm 0,021$ mU.mg⁻¹, havendo uma inibição de 96% na atividade de tripsina do camarão *P. vannamei*. Assim, o uso óleo de orégano que tem como componente majoritário o carvacrol, pode ser um fator anti-nutricional em rações para o camarão marinho *Penaeus vannamei*, devido ao seu efeito inibitório sobre a atividade triptica.

Palavras-chave: Carcinicultura; Aditivos alimentares; Óleo essencial de orégano

ABSTRACT

Brazilian shrimp farming is considered one of the main activities within aquaculture due to the high economic value of shrimp. One of the biggest costs in shrimp farming is feed, and sometimes it cannot guarantee proper nutrition and growth of shrimp. From this, the search for food additives that help in the cultivation of these animals has increased. These phytogetic additives may have properties to increase feed intake and improve anti-inflammatory and antioxidant responses in farmed animals. One of these additives used is the essential oil, which can be rich in several compounds with these characteristics. The essential oil of oregano, which has carvacrol as its main component, has antioxidant, antiseptic, anticancer, antidiabetic, growth-promoting biological activities, among others. However, there is little study on whether carvacrol can inhibit any metabolic pathway, in order to act as an anti-nutritional factor, presenting a metabolic disturbance to the animal. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of carvacrol on the total proteolytic activity and the specific activity of trypsin, an important digestive enzyme responsible for protein hydrolysis. Total and trypsin proteolytic activity was determined using extract of hepatopancreas from the shrimp *Penaeus vannamei* prepared in 0.1 M Tris-HCl buffer pH 8.0. The protein concentration of the crude extracts was determined using BSA (bovine serum albumin) as a standard. For the inhibition assay with carvacrol, the crude extract was incubated for 60 min with a solution of 8 mM carvacrol in 0.1 M Tris-HCl pH 8.0, after which the trypsin activity was calculated. The trypsin activity in the hepatopancreas crude extract was 12.83 ± 0.29 mU.mg⁻¹, while the total protease activity was 54.11 ± 6.35 mU.mg⁻¹. After incubation with carvacrol, the total proteolytic activity was determined at 56.64 ± 2.58 mU.mg⁻¹, while the trypsin activity was equivalent to 0.43 ± 0.021 mU.mg⁻¹, with an inhibition of 96% on the trypsin activity of shrimp *P. vannamei*. Thus, the use of oregano oil, which has carvacrol as its major component, may be an anti-nutritional factor in diets for marine shrimp *Penaeus vannamei*, due to its inhibitory effect on tryptic activity

Keywords: Shrimp farming; Food additives; Oregano essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Produção mundial de camarão (aquicultura e pesca) entre 2015 e 2019 (mil ton)

Figura 2 – Estrutura química do carvacrol

Figura 3 – Morfologia externa do camarão *Penaeus vannamei*

Figura 4 – Morfologia interna do camarão

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produções nordestinas de camarão entre 2016 e 2020 (em toneladas);

Tabela 2 – Valor de produção de camarão cultivado no Nordeste, por Estado(Mil R\$);

Tabela 3 – Atividade enzimática;

LISTA DE ABREVIACÕES

ABCC – Associação Brasileira de Criadores de Camarão

BSA – Albumina de Soro Bovino

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Aquicultura

FDA – Food and Drug Administration

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Carcinicultura	16
3.2 Aditivos Alimentares	18
3.2.1 Óleo Essencial de Orégano	19
3.3 Camarão <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1931)	20
3.4 Enzimas digestivas	22
4 METODOLOGIA	24
4.1 Produção do extrato do hepatopâncreas	24
4.2 Atividade da tripsina	25
4.3 Inibição enzimática	25
5 RESULTADOS	26
6 DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é caracterizada pela produção de organismos aquáticos em ambiente de confinamento controlado (SIQUEIRA, 2017), é uma das principais atividades da agropecuária brasileira e vem apresentando uma enorme expansão nos últimos anos, segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO (2020).

Desde 2013, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) faz o levantamento dos dados de produção nacional da aquicultura em seu Censo Agropecuário. Neste Censo, foi possível observar que a maricultura no Brasil está agrupada em dois principais setores produtivos: a malacocultura, caracterizada pela produção de ostras e mexilhões, e a carcinicultura, caracterizada pela produção de crustáceos (DA SILVA, 2022). A produção nacional da carcinicultura, embora ainda seja considerada uma atividade recente, tem se mostrado como uma das principais áreas da aquicultura, com um grande destaque em diversos países (TANCREDO et al., 2011; TAHIM et al., 2019).

Em 2020, por exemplo, a criação de camarão em cativeiro correspondeu a 63,2 mil toneladas, com o valor de produção de 1,3 milhão (IBGE, 2020). A principal espécie cultivada é a *Penaeus vannamei* (Camarão-branco-do-Pacífico), sendo a região Nordeste a responsável por 99,6% de toda a produção de camarão, com destaque para os Estados do Ceará e do Rio Grande do Norte, com 30,8% e 38,2% da produção nacional, respectivamente (VIDAL, 2022).

Apesar da grande produção e do crescimento acelerado nas últimas décadas, a busca pelo aumento da produtividade e rentabilidade é constante (HATJE, 2014). Por essa razão, têm-se desenvolvido maiores pesquisas para a inovação e suplementação das dietas, visando principalmente a qualidade e a capacidade de suprir as necessidades nutricionais da espécie (SUSSEL, 2018). Uma das dificuldades encontradas nesse processo é o desenvolvimento da ração, por ser uma das etapas de maior custo e muitas vezes sem o balanço de nutrientes adequado (ALENCAR, 2017).

A partir disso, o uso de aditivos nas dietas convencionais tem se tornado cada vez mais comum (LIM et al, 2010). Os aditivos nutricionais mais estudados são os probióticos, prebióticos, imunostimulantes, substâncias fitogênicas e ácidos

orgânicos (ENCARNAÇÃO, 2010). Dentre as substâncias fitogênicas, tem-se apresentado potencial os óleos essenciais como uma alternativa (COYLE et al., 2005; MARICCHIOLO e GENOVESE, 2011). Os óleos essenciais são caracterizados como compostos voláteis e complexos, derivados de uma mistura natural de substâncias orgânicas que são sintetizados por plantas aromáticas (SUTILI et al., 2018). Uma das muitas funções desses óleos é modificar a morfometria intestinal, permitindo assim um aumento na absorção de nutrientes e melhorando os índices de desempenho na pecuária (MOHAMED et al., 2014).

Um dos óleos essenciais amplamente utilizados é o de orégano (*Origanum vulgare* L), devido a sua alta funcionalidade como extrato medicinal na aquicultura (ALAGAWANY et al., 2020). Dentre as características do óleo essencial de orégano, tem-se a presença do componente majoritário carvacrol, um terpenóide com uma relevante atividade antioxidante. Além disso, também é possível observar neste óleo a atividade antisséptica, anticancerígena, antidiabética, promotora de crescimento, entre outras (SUNTRES et al, 2015).

Entretanto, ainda existe pouco estudo sobre a capacidade inibitória do carvacrol sobre algumas vias metabólicas, de forma a atuar como um fator antinutricional, apresentando algum distúrbio metabólico ao animal. Os fatores antinutricionais são compostos presentes em alimentos de origem vegetal que podem reduzir o valor nutritivo, interferindo na digestibilidade, absorção ou utilização de nutrientes (ANDRADE et al., 2015).

Esse fator é de extrema importância quando considerada a atividade da tripsina, uma enzima digestiva de proteínas sintetizada pelo hepatopâncreas do animal, que pode ser um indicador do seu metabolismo. Portanto, a compreensão sobre as atividades das principais enzimas digestivas do camarão podem fornecer informações importantes em relação à fisiologia nutricional e ao crescimento animal (HERNÁNDEZ-ACOSTA et al., 2016).

Dessa forma, analisar como o carvacrol, presente no óleo essencial de orégano, pode interferir na atividade dessas enzimas digestivas, em especial à tripsina, poderá indicar se, mesmo com os benefícios já citados, ele exerce uma atividade antinutricional.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito do carvacrol na atividade da enzima digestiva tripsina no camarão branco do pacífico (*Penaeus vannamei*)

2.2 Objetivos Específicos

- Obter o extrato do hepatopâncreas do camarão branco do pacífico (*Penaeus vannamei*)
- Avaliar a atividade proteolítica no extrato bruto do hepatopâncreas
- Avaliar a atividade triptica no extrato bruto do hepatopâncreas
- Avaliar o efeito inibitório sobre a enzima tripsina no extrato de hepatopâncreas pela solução de carvacrol

3 REVISÃO DE LITERATURA

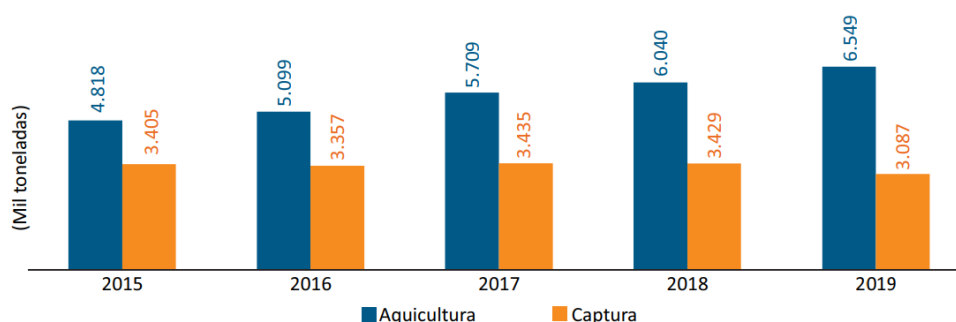
3.1 CARCINICULTURA

A carcinicultura representa um ramo específico da aquicultura, voltado para a criação de crustáceos em cativeiro, seja de espécie marinha ou de água doce (ENGEPESCA, 2018). De acordo com William Severi apud Gardini (2003), “O termo é empregado genericamente para referir-se ao cultivo de crustáceos, sejam camarões, lagostas, caranguejos ou crustáceos microscópicos. Entretanto, seu uso é mais comumente associado ao cultivo de camarões” (SILVA, 2022).

Devido a intensa pressão aos estoques pesqueiros para o consumo humano, a carcinicultura se desenvolveu como uma importante ferramenta para suprir a fonte de proteína proveniente dos crustáceos, se tornando ao longo dos anos uma potência econômica, com capacidade de minimizar o problema ambiental das regiões pesqueiras do mundo.

De acordo com a FAO (2022), que disponibilizou a produção mundial de camarão entre os anos de 2015 e 2019 (figura 1), a pesca de camarão no mundo diminuiu em 9,4%, enquanto o cultivo de camarão teve um aumento de 36%, sendo a espécie *Penaeus vannamei* a mais cultivada do mundo.

Figura 1: Produção mundial de camarão (aquicultura e pesca) entre 2015 e 2019 (mil ton)



Fonte: FAO (2022)

No Brasil, de acordo com Rocha (1998), as primeiras tentativas de cultivo de camarões ocorreram na região Nordeste, no início da década de 70, com a espécie exótica *Marsupenaeus japonicus*, também conhecida como Camarão tigre japonês ou Camarão kuruma. Porém, mesmo com incentivo do governo da época, esse

projeto não evoluiu, devido à baixa tolerância da espécie às condições ambientais locais, falta de técnicos especializados e infraestrutura adequada. Dessa forma, a carcinicultura brasileira iniciou-se com caráter tecno-empresarial na segunda metade da década de 1990, com seu auge no início dos anos 2000 (DA SILVA, 2022).

Com o clima favorável e a implementação de novas tecnologias para a produção de camarões, o país se estabeleceu como um dos principais produtores de camarão das Américas. Entre 2002 e 2003, por exemplo, houve um aumento da produção em 50%, atingindo 90.190 toneladas e uma produtividade média de 6 ton/ha/ano, considerada a maior taxa entre todos os países produtores (ROCHA et al., 2004).

Atualmente, a produção brasileira de camarão é estabelecida predominantemente no Nordeste, principalmente nos estados de Ceará e Rio Grande do Norte, uma vez que a região proporciona grande produtividade devido a fatores como a temperatura elevada e um curto período de chuvas. Entretanto, é importante ressaltar que desde 2016 é possível observar um importante crescimento da produção nos estados da Paraíba, Alagoas, Sergipe e Bahia. (tabelas 1 e 2)

Tabela 1: Produções nordestinas de camarão entre 2016 e 2020 (em toneladas)

Estado	2016	2017	2018	2019 (b)	2020 (a)	Part (%)	Var (%) (a/b)
Maranhão	142	286	346	364	389	0,6	7,0
Piauí	3.140	2.723	2.318	2.320	2.555	4,0	10,1
Ceará	25.431	11.857	13.045	17.752	20.993	33,2	18,3
Rio Grande do Norte	14.656	15.434	19.764	20.782	21.982	34,8	5,8
Paraíba	894	2.599	2.724	4.347	5.289	8,4	21,7
Pernambuco	2.246	2.199	2.203	2.658	2.707	4,3	1,8
Alagoas	157	627	435	824	1.241	2,0	50,7
Sergipe	2.322	2.786	2.906	3.396	4.565	7,2	34,4
Bahia	2.748	2.087	1.724	2.694	3.189	5,0	18,4
Nordeste	51.735	40.598	45.466	55.136	62.911	99,6	14,1
Brasil	52.127	41.078	45.750	55.376	63.170	100,0	14,1

Fonte: IBGE, 2022.

Tabela 2: Valor de produção de camarão cultivado no Nordeste, por Estado (Mil R\$)

Estados	2016	2017	2018	2019	2020	part (%)	Var (%) (a/b)
Maranhão	2.934	6.514	6.367	6.540	6.349	0,5	-2,9
Piauí	58.312	66.646	50.316	48.057	40.260	3,0	-16,2
Ceará	469.998	304.439	303.688	385.024	392.920	29,6	2,1
Rio Grande do Norte	420.924	506.099	730.923	627.884	564.950	42,6	-10,0
Paraíba	21.545	60.719	60.762	89.426	102.345	7,7	14,4
Pernambuco	57.716	58.443	57.233	60.503	45.085	3,4	-25,5
Alagoas	4.013	15.687	10.183	19.820	28.277	2,1	42,7
Sergipe	44.426	62.968	64.214	74.734	83.139	6,3	11,2
Bahia	51.410	35.064	32.837	52.919	55.214	4,2	4,3
Nordeste	1.131.280	1.116.580	1.316.524	1.364.908	1.318.540	99,4	-3,4
Brasil	1.138.598	1.128.287	1.323.781	1.371.371	1.326.170	100,0	-3,3

Fonte: IBGE, 2022.

O sucesso produtivo na carcinicultura demanda de diversas pesquisas e cuidados básicos de manejo, uma vez que o confinamento dos animais pode proporcionar estado de estresse, e consequentemente poderá haver a proliferação de agentes oportunistas como fungos e bactérias (DOTTA, PIAZZA, 2012). Dessa forma, a fim de diminuir a mortalidade desses organismos e aumentar a resistência aos patógenos, os cuidados de manejo como o oxigênio dissolvido, a salinidade, a temperatura, a densidade e principalmente a alimentação tem se tornado mais frequentes (CYRINO, FRACALOSSO, 2013). O cuidado com a alimentação refere-se a oferecer uma ração que atenda as exigências nutricionais da espécie cultivada, além de outros fatores como a atratividade, a palatabilidade, e ser economicamente viável para o produtor (CYRINO, FRACALOSSO, 2013).

3.2 ADITIVOS ALIMENTARES

Paralelo ao aumento da produção de camarão nos últimos anos, tem-se tido o aumento da procura por substâncias alternativas que auxiliem na nutrição e no desenvolvimento do animal. Essas substâncias podem prevenir enfermidades e promover o crescimento, atuando como aditivos alimentares e garantindo uma produção viável. Dentre os aditivos mais estudados na aquicultura, tem-se: probióticos, prebióticos, imunoestimulantes, e mais recentemente substâncias fitogênicas e ácidos orgânicos (ENCARNAÇÃO, 2010).

O uso de extratos vegetais para prevenção e tratamento de enfermidades em peixes e crustáceos tem sido relatado em diversos estudos. Na China, por exemplo,

que é o país com 60% da produção mundial de peixes de água doce no ano de 2015 (FAO, 2017), os fitoterápicos são frequentemente utilizados para controle das enfermidades em cultivo.

Dentre as substâncias fitogênicas, os óleos essenciais também têm adquirido relevância no cultivo, principalmente como agentes antioxidantes e para o controle de microorganismos (LIMA, 2013). Os óleos essenciais são definidos com misturas de compostos voláteis, lípidos, com forte odor e que podem ser sintetizados em todos os órgãos vegetais (BAKKALI et al., 2008).

3.2.1 ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

Os óleos essenciais são caracterizados como uma mistura de compostos voláteis derivados de plantas aromáticas (DIMA, 2015). Os principais componentes dos óleos essenciais são os terpenos, porém os aldeídos, álcoois e ésteres também estão presentes como componentes secundários (ZUZARTE, 2015).

Desde a sua descoberta, os óleos essenciais têm sido usados como aromatizantes e aditivos alimentares, remédios, afrodisíacos e cosméticos, ou mesmo durante rituais de culto (DIMA, 2015). Atualmente, a demanda de mercado de óleos essenciais aumentou com sua ampla gama de usos na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e perfumaria, aromaterapia e agricultura (BASER, 2009).

Dessa forma, cerca de 40.000 a 60.000 toneladas de óleos essenciais são produzidas anualmente, representando um valor de mercado estimado de 700 milhões de dólares (DIMA, 2015). Uma das espécies utilizadas para a produção desses óleos é o orégano, principalmente por sua propriedade atividade antimicrobiana, como antifúngica, bactericida e antiviral (LEYVA-LÓPEZ; 2017)

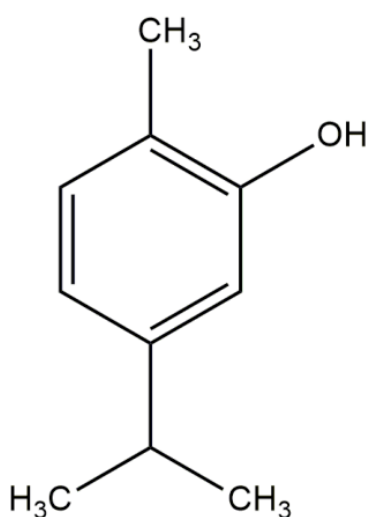
O orégano refere-se a uma grande variedade de plantas que compartilham um sabor e odor particular (LEYVA-LÓPEZ; 2017). Essa variedade de plantas está distribuída em pelo menos 6 famílias, com 17 gêneros e 61 espécies, sendo as famílias de maior importância econômica a *Verbenacea* e a *Lamiaceae*. Dentre as espécies de orégano, as que são mais utilizadas para a síntese de óleos essenciais são: *Hedeoma patens*, *Lippia graveolens*, *Lippia palmeri*, *Lippia alba*, *Origanum dictamnus*, *Origanum hirtum*, *Origanum onites*, *Origanum vulgare*.

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) possui como principais propriedades biológicas ação antibacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante e anti

cancerígenas (CHAVAN; TUPE, 2014; NOSTRO et al., 2004). Essas características encontradas no orégano também são encontradas em outras espécies da família *Lamiaceae*, e são provenientes da composição química com compostos fenólicos (ZHENG et al., 2009). Entretanto, os óleos essenciais dessas plantas contêm uma variedade de componentes químicos em diversas concentrações, e aparentam maior eficácia quando estão em conjunto do que com os compostos puros e isolados (LEMOS et al., 2017; ZHENG et al., 2009).

O orégano possui como principais componentes o timol e o carvacrol. O carvacrol é um fenol monoterpênico (Figura 2), conhecido também como 5-isopropil-2-metilfenol, responsável pelas principais atividades biológicas do orégano (CAN BASER, 2008), entre elas a capacidade de preservação e inibição do crescimento microbiano (LIMA & CARDOSO, 2013). A atividade antimicrobiana do carvacrol é maior do que a de outros compostos voláteis presentes nos óleos essenciais devido à presença do grupo hidroxila livre, hidrofobicidade e a porção fenólica (SHARIFI-RAD, 2018). De acordo com o FDA (*Food and Drug Administration*, 2017), o carvacrol é um composto seguro do ponto de vista toxicológico para o uso como aditivo alimentar.

Figura 2: Estrutura química do Carvacrol



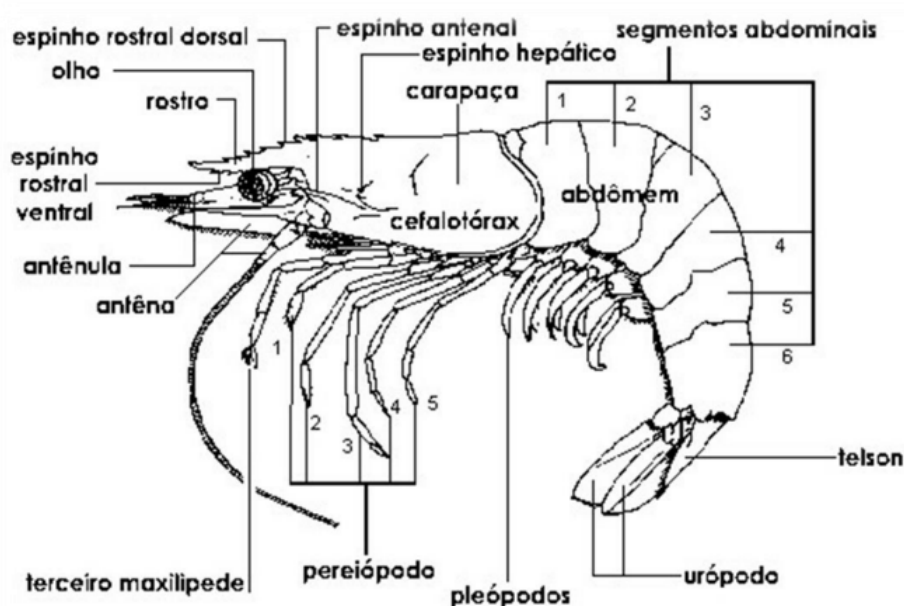
Fonte: ZHANG, 2018.

3.3 *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)

O *Penaeus vannamei* (Boone, 1931), também conhecido como camarão branco do pacífico, é o peneídeo mais produzido no Brasil (FURTADO et al., 2010).

São crustáceos meroplantônicos, do grupo *Arthropoda*, da ordem *Decapoda*, e da subordem *Dendrobranchiata*. São originários do Oceano Pacífico, da região do Peru ao México, com predominância na área costeira do Equador (MAGALHÃES, 2004; SILVA, 2009). Diferencia-se de outras espécies de camarão devido a presença de espinhas hepáticas e antenas protuberantes no cefalotórax, e por possuir de 8 a 9 dentes na porção superior e 1 a 2 dentes na porção inferior (GAMBOA, 2015).

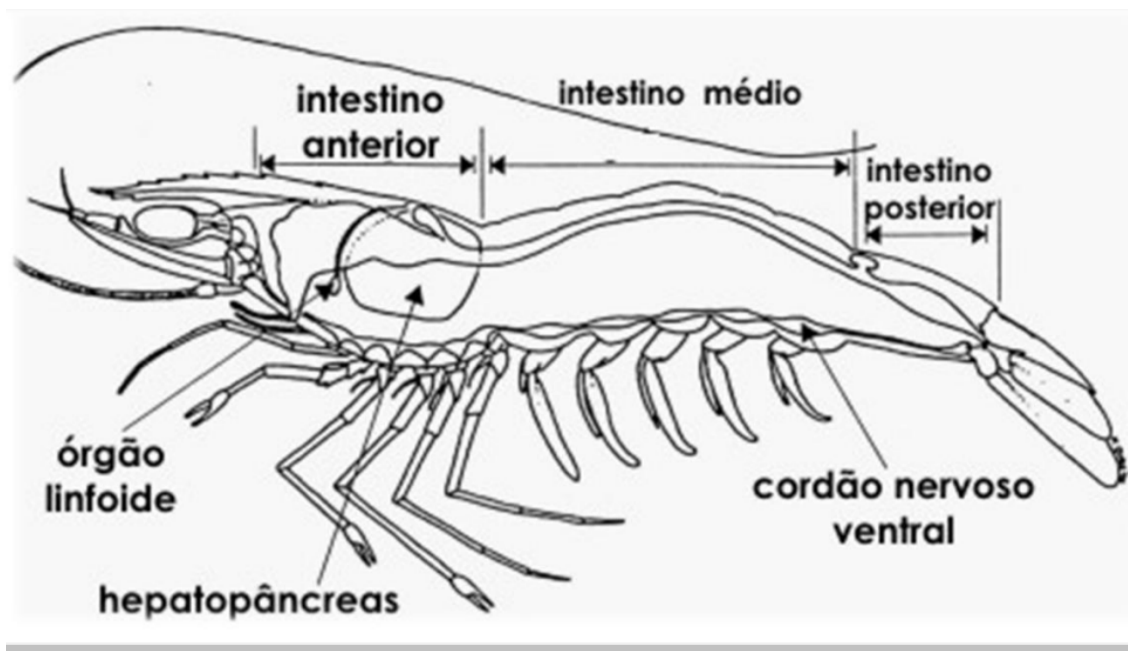
Figura 3: Morfologia externa do camarão *Penaeus vannamei*



Fonte: ABCC, 2017.

Quanto aos aspectos nutricionais, o trato digestivo de camarões em geral representa cerca de 2 a 3% do peso corporal (MARTE, 1980; WASSENBERG e HILL, 1987). Normalmente, os camarões se adaptam bem a mudanças na dieta, principalmente devido ao seu conjunto de enzimas digestivas (LE MOULLAC et al., 1996) sintetizadas e secretadas pelo órgão hepatopâncreas (CECCALDI, 1997). No caso do camarão *P. vannamei*, é encontrado uma maior tolerância nutricional quando comparado a outras espécies (GAMBOA, 2015). Essa tolerância em parte se deve a sua capacidade de utilizar altas proporções de proteína para o seu crescimento (ROSAS et al., 2001).

Figura 4: Morfologia interna do Camarão



Fonte: ABBC, 2017.

O camarão branco do pacífico é uma das espécies exóticas mais cultivadas no Brasil, devido a sua fácil adaptação ao clima tropical, em especial a região do nordeste brasileiro. Dentre as características que garantiram o desenvolvimento da atividade no país, tem-se a estabilidade do clima, com temperaturas elevadas que variam entre 22° C a 30° C, a ampla disposição de terras às margens do litoral associada com a disponibilidade de mão de obra barata, entre outros fatores (SILVA, 2009).

Outro aspecto importante para a disseminação no país é a taxa de crescimento rápido em todas as fases de desenvolvimento, com capacidade de chegar até 23 cm de comprimento.

3.4 ENZIMAS DIGESTIVAS

As enzimas são proteínas, com exceção das moléculas de ácido ribonucleico (RNAs), que atuam em sequências organizadas catalisando diversas etapas que degradam as moléculas dos nutrientes. A quebra ou digestão da proteína para obter nutrientes é uma função fisiológica das enzimas digestivas (COELHO, 2022), produzida no hepatopâncreas de crustáceos.

Uma das enzimas digestivas mais estudadas é a tripsina, uma protease digestiva, assim como a quimotripsina, e as aminopeptidases (BUARQUE, 2008). A tripsina, juntamente com a quimotripsina, é a enzima proteolítica mais abundante na glândula digestiva de crustáceos (DALL, 1991). Essas enzimas são responsáveis por mais de 60% da digestão de proteínas desses animais, e a sua qualidade pode influenciar na digestão e assimilação dos nutrientes presentes na dieta (SÁNCHEZ-PAZ et al., 2003).

Devido a essa importância das enzimas digestivas na utilização das proteínas, que são um dos principais nutrientes necessários para o crescimento do *P. vannamei* (TACON, 1990; BEZERRA, 2014), o entendimento de como elas atuam é primordial para a melhor formulação de rações, com os componentes adequados para garantir uma produção viável.

4 METODOLOGIA

4.1 PRODUÇÃO DO EXTRATO DO HEPATOPÂNCREAS

Espécimes de camarões adultos de *Penaeus vannamei* foram coletados no bairro Ilha de Deus, na cidade de Recife, em Pernambuco, armazenados em gelo seco e transportados ao Laboratório de Enzimologia - LABENZ, na Universidade Federal de Pernambuco.

A glândula hepatopâncreas foi excisada e mantida refrigerada para a obtenção do extrato bruto. O hepatopâncreas foi pesado e homogeneizado em tampão Tris-HCl 0,1 M pH 8,0, utilizando um disruptor de tecido (IKA RW-20, Staufen, Germany) a 10.000xg por 15 minutos a 4°C para remover detritos celulares e nucleotídeos. O sobrenadante foi definido como o extrato bruto, que foi congelado a -20°C para os ensaios enzimáticos (SANTOS et al., 2013). A concentração da proteína dos extratos foi determinada de acordo com Bradford (1976) usando BSA (Albumina de Soro Bovino) como padrão.

4.2 ATIVIDADE PROTEOLÍTICA TOTAL

A atividade das proteases totais foi determinada de acordo com Bezerra et al. (2005). Foi incubado em microtubos 50 µL de azocaseína 1% (dissolvida em tampão Tris - HCl 0,1 M pH 8,0) com 30 µL da amostra de extrato bruto por 60 minutos, à 25°C. Em seguida, 240 µL de 10% (p/v) de TCA (ácido tricloroacético) foi adicionado, a fim de interromper a reação. Após 15 minutos, a amostra foi centrifugada a 8000 xg por 5 minutos. Os brancos foram preparados com 0,1 M Tris-HCl pH 8,0 no lugar da amostra.

Em uma placa de microtitulação de 96 poços, foi adicionado 70 µL do sobrenadante e 140 µL de NaOH 1M. A absorbância foi lida a 450 nm, utilizando um espectrofotômetro de microplaca (Bio-Rad xMark, Hercules CA, EUA). Uma unidade de atividade enzimática(U) foi definida como a quantidade de enzima que hidrolisa a azocaseína produzindo uma variação de 0,001 na absorbância por minuto por miligrama de proteína.

4.3 ATIVIDADE DA TRIPSINA

As atividades da tripsina foram determinadas seguindo uma adaptação de Buarque et al. (2009). Foi utilizado BApNA 8,0 mM (N α -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida) (concentração final de 1,2 mM) diluído em DMSO (dimetilsulfóxido) como substrato.

O extrato bruto de hepatopâncreas (30 μ L) foi incubado com esse substrato (140 μ L) por 15 minutos. A absorbância foi medida em 405 nm, sendo os brancos preparados com Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 no lugar do extrato bruto. As atividades foram determinadas em triplicata.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de p-nitroanilina por minuto (ϵ = 9100 M $^{-1}$ cm $^{-1}$ calculado para microplaca).

4.3 INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

Amostras do extrato bruto (20 μ L) das espécies analisadas foram adicionadas em uma placa de microtitulação de 96 poços com a solução de carvacrol 8mM em Tris-HCl 0,1 pH 8,0 e incubadas por 30 minutos. Os espaços em branco foram preparados com Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 no lugar do extrato bruto.

Após o período de incubação, foi calculada a atividade proteolítica total e específica da tripsina, de acordo com a liberação de p-nitroanilina acompanhada pelo aumento da absorbância a 405 nm utilizando o leitor de placas de microtitulação.

5 RESULTADOS

Os ensaios enzimáticos realizados no Laboratório de Enzimologia-LABENZ, com o extrato bruto de hepatopâncreas de *P. vannamei* apresentaram o valor médio de concentração proteica de aproximadamente $0,49 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Em relação aos ensaios de medição de atividade, a atividade proteolítica total apresentou uma média de aproximadamente $54,11 \pm 6,35 \text{ mU.mg}^{-1}$. Enquanto a atividade específica de tripsina apresentou uma média de aproximadamente $12,83 \pm 0,29 \text{ mU.mg}^{-1}$.

Já quanto aos ensaios de inibição enzimática, após adicionar amostras da solução de carvacrol 8mM em Tris-HCl $0,1 \text{ pH } 8,0$ no extrato bruto do hepatopâncreas, a atividade proteolítica total apresentou uma média de $56,64 \pm 2,58 \text{ mU.mg}^{-1}$. Contudo, a atividade específica de tripsina diminuiu significativamente, com uma média de $0,43 \pm 0,021 \text{ mU.mg}^{-1}$.

Tabela 3 - Atividade enzimática

	ATIVIDADE ENZIMÁTICA (mU.mg ⁻¹) SEM CARVACROL	ATIVIDADE ENZIMÁTICA (mU.mg ⁻¹) COM CARVACROL
PROTEASES TOTAL	$54,11 \pm 6,35$	$56,64 \pm 2,58$
TRIPSINA	$12,82 \pm 0,29$	$0,43 \pm 0,021$

Fonte: O autor

A partir desse resultado, foi possível determinar que o carvacrol, apesar de estatisticamente não ter demonstrado efeito inibitório em proteases totais, possui capacidade de inibição de 96% da atividade de tripsina no camarão *P. vannamei*.

6 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, o uso de compostos fenólicos têm atraído crescente interesse na aquicultura (COELHO, 2022). O carvacrol, composto fenólico encontrado abundantemente no óleo essencial de orégano (LIMA & CARDOSO, 2013), tem atraído bastante atenção por suas propriedades biológicas, com ação bacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante e anticancerígena (CHAVAN; TUPE, 2014; GUIMARÃES et al., 2010; NOSTRO et al., 2004; SÁNCHEZ; AZNAR; SÁNCHEZ, 2015; YIN et al., 2012).

Na piscicultura, o uso do óleo de orégano como aditivo alimentar para *Ictalurus punctatus*, também conhecido como bagre-americano, atuou promotor de crescimento, aumento da atividade antioxidante, e promoveu maior resistência à infecção por *Aeromonas hydrophila* (ZHENG et al., 2009). Já nos peixes *Dicentrarchus labrax* e *Oreochromis niloticus*, popularmente conhecidos como robalo e tilápia do nilo, respectivamente, diferentes concentrações de carvacrol causaram a redução da mortalidade dos animais infectados por bactérias, porém não apresentou efeitos no desempenho zootécnico e na resposta imune desses peixes (RATTANACHAIKUNSOPON; PHUMKHACHORN, 2010; VOLPATTI et al., 2013).

Já em crustáceos, o carvacrol foi testado no camarão branco do pacífico, *P. vannamei*, através da adição do óleo essencial de orégano na dieta desses animais. Após a infecção das bactérias *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* e *V. parahaemolyticus*, houve a quantificação dessa bactéria no músculo e no hepatopâncreas dos espécimes estudados, e houve uma inibição significativa do crescimento das vibrionáceas (GRACIA-VALENZUELA et al., 2014).

Entretanto, na avaliação da atividade específica da enzima tripsina realizada no presente trabalho, foi demonstrado que o carvacrol pode apresentar efeito inibitório desta enzima. Como consequência disso, pode ocorrer a deficiência no crescimento e do valor nutricional do animal, uma vez que a tripsina é essencial para a digestão de proteínas no camarão *Penaeus vannamei* (DALL, 1992).

Além disso, em um outro experimento com larvas de artêmias tratadas por imersão com carvacrol, foi demonstrado uma melhora significativa da sobrevivência em relação ao controle, porém essa sobrevivência diminuiu com o aumento da concentração do composto fenólico, demonstrando que o carvacrol pode exercer efeito tóxico nos animais de acordo com a dose utilizada (BARUAH et al., 2017).

Em testes *in vitro*, o carvacrol mostrou uma ação inibitória da enzima tripsina, porém nas mesmas concentrações não apresentou inibição da atividade proteolítica total do camarão *P. vannamei*. Assim, o carvacrol ainda pode ser considerado um fator anti-nutricional em altas concentrações na dieta de camarões, uma vez que sua ação inibitória é sobre uma enzima importante do sistema digestivo.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que a substância carvacrol, componente majoritário do óleo essencial de orégano, utilizado como aditivo alimentar no cultivo de camarões branco do pacífico *Penaeus vannamei*, possui alta capacidade de inibição da enzima digestiva tripsina, responsável pela digestão de proteínas, e por esse motivo também é considerado um fator anti nutritivo.

Dessa forma, apesar dos benefícios descritos na literatura sobre o uso do óleo essencial de orégano como aditivo alimentar, é necessário levar em consideração o efeito que esse óleo terá sob a digestão e absorção de proteínas no animal, de forma que a deficiência da atividade trípica afetará diretamente na nutrição do camarão.

Além disso, esses resultados podem servir como base para estudos futuros que visam os mecanismos de ação do carvacrol no trato gastrointestinal de camarões *Penaeus vannamei*.

REFERÊNCIAS

- ALAGAWANY, Mahmoud et al. The role of oregano herb and its derivatives as immunomodulators in fish. *Reviews in Aquaculture*, v. 12, n. 4, p. 2481-2492, 2020.
- ALENCAR, Kelvin. Alternativas mais baratas de rações para camarão. [S. l.], 12 dez. 2017. Disponível em: <https://agencia.ufc.br/alternativas-mais-baratas-de-racoes-para-camarao/>. Acesso em: 29 mar. 2023.
- ANDRADE, TV de et al. Efeito de fatores antinutricionais encontrados nos alimentos alternativos e seu impacto na alimentação de não ruminantes-revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 12, p. 4393-4399, 2015.
- BAKKALI, Fadil et al. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BASER, K. Husnu Can; BUCHBAUER, Gerhard. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC press, 2009.
- BEZERRA, Adolfo Jatobá Medeiros et al. Nível e fonte de proteína na alimentação do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado na presença de bioflocos. 2014.
- BEZERRA, Ranilson S. et al. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Process Biochemistry*, v. 40, n. 5, p. 1829-1834, 2005.
- BUARQUE, Diego de Souza. *Proteases digestivas do hepatopâncreas dos camarões marinhos Farfantepenaeus subtilis e Farfantepenaeus paulensis*. 2008. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- CAMARÃO, Associação Brasileira de Criadores de. **ANÁLISES A FRESCO**. 2017. Disponível em: <https://abccam.com.br/wp-content/uploads/2017/10/APOSTILA-CURSO-AN%C3%81LISE-A-FRESCO-NA-CARCINICULTURA.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2023
- CAN BASER, K. H. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current pharmaceutical design*, v. 14, n. 29, p. 3106-3119, 2008.
- CAGOL, Luana et al. Utilização de óleos essenciais de *Lippia alba* (erva-cidreira) e *Aloysia triphylla* (erva-Luiza) para *Macrobrachium rosenbergii*. 2020.
- CECCALDI, Hubert J. Anatomy and physiology of the digestive system of Crustacean, in" *Crustacean Nutrition*" World Mariculture Soc. LD'Abramo and D. Conklin. *Adv. in World Aquaculture*, v. 6, p. 261-291, 1997.
- CHAVAN, Pradnya S.; TUPE, Santosh G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Control*, v. 46, p. 115-120, 2014.

CHAVAN, P. S.; TUPE, S. G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Control*, v. 46, p. 115–120, 2014.

COELHO, Jaqueline da Rosa et al. Efeitos de um composto fenólico, alga verde e probiótico como aditivo alimentar para o camarão-branco-do-pacífico. 2022.

COSTA, CAMILA BARROS. ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM JUVENIS DE *Litopenaeus vannamei* ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO HIDROLISADO PROTEICO DE PEIXE EM SUBSTITUIÇÃO À FARINHA DE PEIXE. 2018

COYLE, S.D., DASGUPTA, S., TIDWELL, J.H., BEAVERS, T., BRIGHT, L.A., YASHARIAN, D.K. 2005. Comparative efficacy of anesthetics for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36:282–290. 2005.

CRAB, Roselien et al. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. *Journal of applied microbiology*, v. 109, n. 5, p. 1643-1649, 2010.

CYRINO, Jose Eurico Possebon; FRACALLOSSI, Débora Machado. A pesquisa em nutrição de peixes e o desenvolvimento da aquicultura no Brasil: uma perspectiva histórica. *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*, 2013.

DALL, W. Feeding, digestion and assimilation in Penaeidae. 1991.

DA SILVA, Hugo Juliano Hermógenes; PIERRI, Naína. A retomada da carcinicultura no Brasil (2012–2020): flexibilização das normativas e impactos socioambientais. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, v. 60, 2022.

DIMA, Cristian; DIMA, Stefan. Óleos essenciais em alimentos: extração, estabilização e toxicidade. *Current Opinion in Food Science*, v. 5, p. 29-35, 2015.
DOTTA, G.; PIAZZA, R.S. Manejo e sanidade no cultivo. Curitiba: Instituto Federal do Paraná, 2012. p. 11-135.

ENCARNAÇÃO, P. Varied Feed Additives Improve Gut, Animal Health. *Global Aquaculture Advocate*, v. 3 (5/6), p. 41-41, 2010.

ENGEPESCA. Carcinicultura: fatores indispensáveis para o sucesso do negócio. Disponível:

<<https://www.engepesca.com.br/post/carcinicultura-fatores-indispensaveispara-o-sucesso-donegocio#:~:text=A%20carcinicultura%20%C3%A9%20um%20ramo,amar%C3%A3o%20cresce%20cada%20dia%20mais>>.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries Global Information System (FIGIS). Roma: FAO, 2017. Disponível em:
<<http://www.fao.org/fishery/figis/en>>.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma. 200. P. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Painel de consulta estatística. Produção global de aquicultura (quantidade). Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/statistics-query/en/aquaculture>

FIGUEREDO, Aline Brum. Suplementação com óleos essenciais de manjerição (*Ocimum gratissimum* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) na dieta de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.). 2017.

FURTADO, Plínio Schmidt et al. Suplementação de taurina em dietas com duas concentrações proteicas para pós-larvas de camarão-branco-do-pacífico. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39, p. 2330-2335, 2010.

GAMBOA, Julián Delgado. Estudio de la actividad de las enzimas digestivas del *Litopenaeus Vannamei* en función del tamaño corporal y preferencia alimenticia. 2015. Dissertação de Mestrado. Espol.

GOOCH, Jan W. (Org.). Dicionário enciclopédico de polímeros . Springer Science & Business Media, 2010.

GUIMARÃES, A. G. et al. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology, v. 107, n. 6, p. 949–957, 2010.

HANGANU, DANIELA et al. Research on enzyme inhibition potential and phenolic compounds from *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*. Farmacia, v. 68, p. 1075-1080, 2020.

HATJE, Vanessa et al. Desafios da carcinicultura: aspectos legais, impactos ambientais e alternativas mitigadoras. Revista de Gestão Costeira Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management, v. 14, n. 3, p. 365-383, 2014.

HERNÁNDEZ, Juan Carlos Sainz; MURUETA, Julio Humberto Cordova. Activity of trypsin from *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, v. 290, n. 3-4, p. 190-195, 2009.

HERNÁNDEZ-ACOSTA, Mario et al. The effects of *Yucca schidigera* and Quillaja saponaria on growth performance and enzymes activities of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured in low-salinity water. Latin American Journal of Aquatic Research, v. 44, n. 1, p. 121-128, 2016.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa pecuária municipal. IBGE (2022). Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940>

LE MOULLAC, Gilles et al. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and α -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda).

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 208, n. 1-2, p. 107-125, 1997.

LEMOS, Mayara Fumiere et al. Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris*. Industrial Crops and Products, v. 95, p. 543-548, 2017.

LIMA, R. K. et al. Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. 2013.

LIM, C.; LÜCKSTÄDTS, C.; KLESIUS, P.H. Review: Use Of Organic Acids, Salts In Fish Diets. Global Aquaculture Advocate, v.5 (9/10), p. 45 - 46, 2010

LUKAS, Brigitte; SCHMIDERER, Corina; NOVAK, Johannes. Diversidade de óleos essenciais de *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae) europeus. Phytochemistry , v. 119, p. 32-40, 2015.

MAGALHÃES, Marcelo Estima Seabra de et al. Cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) em sistema multifásico. 2004.

MARICCHIOLO, G., GENOVESE, L. Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. Open Marine Biology Journal, 5:24-33. 2011

MARTE, Clarissa L. The Food and Feeding Habit of *Penaeus Monodon* Fabricius Collected From Makato River, Aklan, Philippines (Decapoda Natantia) 1. Crustaceana, v. 38, n. 3, p. 225-236, 1980.

MOHAMED, M. A. et al. Growth performance and histological changes in ileum and immune related organs of broilers fed organic acids or antibiotic growth promoter. International Journal of Poultry Science, v. 13, n. 10, p. 602, 2014.

NOSTRO, Antonia et al. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. FEMS microbiology letters, v. 230, n. 2, p. 191-195, 2004.

ÖZKALP, Birol et al. The antibacterial activity of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.). J Food Agric Environ, v. 8, n. 2, p. 6-8, 2010.

RIOS, Cristina et al. Perfil de enzimas digestivas em juvenis do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição de farinha de peixe por farinha das larvas do inseto *Tenebrio molitor*. 2017.

ROCHA, I. de P.; ROCHA, R. M.; FREITAS, C. M. C. Panorama da aquicultura brasileira: situação da região Nordeste. Contribuições ao desenvolvimento da aquicultura, em especial, da carcinicultura marinha do Brasil. MCR. Aquicultura, 1998.

ROCHA, I.P., RODRIGUES, J., AMORIM, L., 2004. A carcinicultura brasileira.

Revista da ABCC, VI (1), 30-36. 2003

ROLIM, Nathiene Patrícia Ferreira de Amaral et al. Produção familiar do camarão *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931): viabilidade e qualidade. 2015.

ROSAS, C. et al. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). *Aquaculture Research*, v. 32, n. 7, p. 531-547, 2001.

SÁNCHEZ-PAZ, Arturo et al. Differential expression of trypsin mRNA in the white shrimp (*Penaeus vannamei*) midgut gland under starvation conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 292, n. 1, p. 1-17, 2003.

SÁNCHEZ, C.; AZNAR, R.; SÁNCHEZ, G. The effect of carvacrol on enteric viruses. *International Journal of Food Microbiology*, v. 192, p. 72–76, 2015

SANTOS, Juliana Ferreira et al. Digestive enzyme activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) submitted to different dietary levels of shrimp protein hydrolysate. *Aquaculture International*, v. 21, p. 563-577, 2013.

SHARIFI-RAD, Mehdi et al. Carvacrol e saúde humana: uma revisão abrangente. *Pesquisa em Fitoterapia*, v. 32, n. 9, pág. 1675-1687, 2018.

SILVA, Bruno Corrêa da et al. Sais orgânicos como aditivos alimentares para camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. 2014.

SILVA-JÚNIOR, João Jorge; NICÁCIO, Gilberto; RODRIGUES, Gilberto Gonçalves. A carcinicultura nos manguezais do Nordeste brasileiro: problemáticas socioambientais nas comunidades tradicionais. *Revista Movimentos Sociais e Dinâmicas Espaciais*, v. 9, n. 2, p. 70, 2020.

SILVA, Lauriene Ferreira da. Percepção dos pescadores de Icapuí–CE quanto à influência da carcinicultura sobre a pesca e o ambiente. 2022.

SILVA, Mara Reis; SILVA, Maria Aparecida Azevedo Pereira da. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. *Revista de Nutrição*, v. 13, p. 3-9, 2000.

SILVA, Marcelle Marques da et al. Análise estatística das variáveis de manejo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), na fase berçário. 2009.

SILVA, Maria Angélica et al. Digestive enzymes profile of the midgut gland of juvenile painted river prawn (*Macrobrachium carpinus*). *Aquaculture Reports*, v. 18, p. 100507, 2020.

SIQUEIRA, Tagore Villarim de. Aquicultura: a nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. 2017.

SUNTRES, Zacharias E.; COCCIMIGLIO, John; ALIPOUR, Misagh. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 55, n. 3, p. 304-318, 2015.

SUSSEL, Fábio Rosa. PRODUÇÃO DA PRÓPRIA RAÇÃO: SOLUÇÃO OU PROBLEMA?. [S. l.], 1 dez. 2018. Disponível em: <https://www.aquaculturebrasil.com/coluna/313/producao-da-propria-racao:-solucao-ou-problema>. Acesso em: 4 abr. 2023.

SUTILI, Fernando J. et al. Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 3, p. 716-726, 2018.

TACON, A. G. J. Rendered animal by-products: a necessity in aquafeeds for the new millennium. *Global Aquaculture Advocate*, v. 3, n. 4, p. 18-19, 2000.

TAHIM, Elda Fontinele; DAMACENO, Marlene Nunes; ARAÚJO, Inácio Fernandes de. Trajetória tecnológica e sustentabilidade ambiental na cadeia de produção da carcinicultura no Brasil. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 57, p. 93-108, 2019.

TANCREDO, K. R. et al. Impactos ambientais da carcinicultura brasileira. In: 3rd International Workshop Advances in Cleaner Production: Cleaner Production Initiatives and Challenges for a Sustainable World. Universidade Paulista, São Paulo. 2011. p. 18-20.

VIDAL, Maria de Fátima. Carcinicultura. 2022.

WASSENBERG, T. J.; HILL, B. J. Natural diet of the tiger prawns *Penaeus esculentus* and *P. semisulcatus* [in northern Australian waters]. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* (Australia), 1987.

YIN, Q. H. et al. Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of carvacrol on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2. *Cytotechnology*, v. 64, n. 1, p. 43-51, 2012.

ZHANG, Dan et al. Research progress on the antibacterial mechanisms of carvacrol: a mini review. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, v. 1, n. 6, p. 71-81, 2018.

ZHENG, Z. L. et al. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, v. 292, n. 3-4, p. 214-218, 2009.

ZUZARTE, Mónica; SALGUEIRO, Lúcia. Química dos óleos essenciais. Óleos essenciais bioativos e câncer , p. 19-61, 2015.