



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



OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS ORIUNDOS DE RESÍDUOS DA
AQUICULTURA EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

ROBSON MATHEUS MARREIRO GOMES

RIO GRANDE – RS

Fevereiro de 2021

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

OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE POLIFENÓIS ORIUNDOS DE RESÍDUOS DA
AQUICULTURA EM SISTEMA DE BIOFLOCOS

ROBSON MATHEUS MARREIRO GOMES

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

Orientador: Dr. José Maria Monserrat

Co-Orientador: Dr. Fabio Roselet

RIO GRANDE – RS

Fevereiro de 2021

Ficha Catalográfica

G633o Gomes, Robson Matheus Marreiro.
Otimização da extração de polifenóis oriundos de resíduos da
Aquicultura em sistema de bioflocos / Robson Matheus Marreiro Gomes.
– 2021.
62 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2021.

Orientador: Dr. José Maria Monserrat.

Coorientador: Dr. Fabio Roselet.

1. Aquicultura 2. Valorização de Resíduos 3. Compostos Bioativos
4. Atividade Antioxidante 5. Planejamento experimental 6. MSR
I. Monserrat, José Maria II. Roselet, Fabio III. Título.

CDU 639.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

ATA 05/2021

DE DEFESA DA 200ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia vinte e seis de fevereiro de dois mil e vinte e um, às nove horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, do **ROBSON MATHEUS MARREIRO GOMES**, orientado pelo Prof. Dr. Jose Maria Monserrat composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Jose Maria Monserrat (orientador – ICB/FURG), Prof. Dr. Fábio Felipe Gabriel Roselet (Co orientador – IO/FURG), Prof.ª Dr.ª Gamze Turan (IO/FURG), Prof.ª Dr.ª Vilásia Martins (EQA/FURG) e o Prof. Dr. Walter Quadros Seiffert (UFSC). Título da dissertação: "**Otimização na extração de polifenóis oriundos de resíduos da aquicultura em sistema de bioflocos**". Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Jose Maria Monserrat, que na qualidade de orientador, passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador em Exercício. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. O candidato **ROBSON MATHEUS MARREIRO GOMES** foi considerado **APROVADO**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

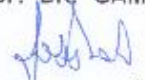


PROF. DR. JOSE MARIA MONSERRAT (ORIENTADOR – ICB/FURG)




PROF. DR. FÁBIO FELIPE GABRIEL ROSELET (CO ORIENTADOR – IO/FURG)

PROF.ª DR.ª GAMZE TURAN (IO/FURG)



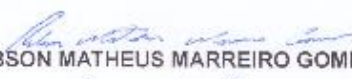
(por video-conferência)

PROF.ª DR.ª VILÁSIA MARTINS (EQA/FURG)



(por video-conferência)

PROF. DR. WALTER QUADROS SEIFFERT (UFSC)



ROBSON MATHEUS MARREIRO GOMES



PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)

Sumário

AGRADECIMENTOS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO GERAL	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO GERAL.....	2
Tecnologia de Bioflocos	2
Polifenóis e atividade antioxidante	4
Otimização de extração de polifenóis	6
Análise de superfície resposta.....	7
Análise econômica	8
OBJETIVO	9
Objetivo geral.....	9
Objetivos específicos	10
REFERÊNCIAS.....	10
Capítulo 1.....	19
Resumo	20
Introdução	20
Materiais e Métodos.....	22
Obtenção do biofoco	22
Reagentes e padrões	23
Procedimento de extração de compostos antioxidantes	23
Polifenóis totais.....	23
Capacidade antioxidante contra radical DPPH	23
Análise estatística.....	24
Varredura preliminar para níveis e fatores	24
Planejamento fatorial.....	25
Análise econômica.....	27
Custo de fabricação	27
Relação benefício custo.....	28

Resultados e discussão	29
Processo de varredura	29
Efeitos e superfície resposta para análise de conteúdo total de polifenóis	33
Efeitos e superfície resposta para análise de atividade antioxidante contra o radical DPPH.....	36
Análise econômica	38
Conclusão.....	45
Agradecimentos	46
Referência	46
Conclusões gerais	60
Perspectivas futuras	61

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, irmã e toda família, que me incentivaram nos momentos difíceis, sempre ao meu lado, e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, com quem convivi durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como um profissional.

A CAPES e CNPq pelo suporte financeiro à realização desse projeto.

Aos funcionários da Estação Marinha de Aquicultura pelo trabalho prestado em prol do seu funcionamento.

Aos docentes do programa que contribuíram com meu processo de formação.

Ao meu co-orientador pelas correções e ensinamentos, por ter desempenhado tal função com dedicação.

Ao meu orientador por todos os conselhos, pela ajuda, pela paciência, e ensinamentos, que foram base no meu processo de formação pessoal e profissional.

Em especial aos meus avôs Francisco Marreiro e Elisbão Gomes a quem não pude dizer adeus, por todo suporte que me deram durante minha vida.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Faixa de valores codificados para a varredura no processo de otimização da extração de polifenóis de amostras de bioflocos.	24
Tabela 2: Delineamento Plackett & Burman com valores codificados no processo de otimização da extração de polifenóis de amostras de bioflocos.....	24
Tabela 3: Faixa de valores codificados no processo de otimização da extração de polifenóis de amostras de bioflocos	25
Tabela 4: DCCR com valores codificados no processo de otimização da extração de polifenóis de amostras de bioflocos	26
Tabela 5: Parâmetros econômicos utilizados no custo de fabricação (COM)	28
Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para fatores do processo de varredura.....	29
Tabela 7: Condições e respostas medidas usadas no projeto experimental para metodologia de superfície de resposta (MSR).....	30
Tabela 8: Regressão com efeitos e interações dos modelos de regressão múltipla previstos para polifenóis total e atividade contra radical DPPH	31
Tabela 9: Análise de variância (ANOVA) dos modelos de regressão múltipla para polifenóis e atividade contra radical DPPH.....	32
Tabela 10: Condições e respostas medidas usadas no projeto experimental para metodologia de superfície resposta (MSR) para o custo de fabricação (COM) e relação benefício custo (BC)	39
Tabela 11: Estimativa dos modelos de regressão múltipla previstos para o custo de fabricação (COM) e relação benefício custo (BC)	40
Tabela 12: Percentual dos componentes em relação ao custo de fabricação (COM)	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Valores preditos e observados para polifenóis totais	32
Figura 2: Valores preditos e observados para atividade contra radical DPPH	33
Figura 3: Gráficos de superfície de resposta para polifenóis totais como uma função de interações significativas entre os fatores: (A) Concentração de etanol e temperatura; (B) Concentração de etanol e tempo Os valores dos outros fatores foram mantidos nos pontos centrais	36
Figura 4: Gráfico de superfície de atividade antioxidante contra radical DPPH como uma função de interações significativas entre os fatores: Concentração de etanol e relação solvente – soluto Os valores dos outros fatores foram mantidos nos pontos centrais	38
Figura 5: Valores preditos e observados para o custo de fabricação (COM)	41
Figura 6: Valores preditos e observados para a relação benefício custo (BC)	41
Figura 7: Gráficos de superfície de resposta para o custo de fabricação (COM) como uma função de interações significativas entre os fatores: concentração de etanol e tempo de extração Os valores dos outros fatores foram mantidos nos pontos centrais.....	42

1 **RESUMO GERAL**

2

3 O uso da tecnologia de bioflocos vem se destacando, por oferecer à aquicultura uma
4 ferramenta sustentável de produção, caracterizada pela troca mínima ou zero de água.
5 No entanto apesar de ser um sistema mais sustentável ambientalmente do que sistemas
6 tradicionais, ainda realiza descarga de efluentes ao final de ciclos de cultivos, além de
7 processos de clarificação para remoção de excesso de material particulado em
8 suspensão durante o cultivo. Desta forma, o desenvolvimento de métodos de tratamento
9 de resíduos eficientes e sustentáveis são partes importantes para o uso mais amplo
10 desses sistemas. Extratos de bioflocos demonstraram presença de compostos fenólicos e
11 capacidade antioxidante, e poderiam ser exploradas aplicações tecnológicas como, por
12 exemplo, a utilização como suplementos nutricionais. A extração de polifenóis por meio
13 da técnica assistida por ultrassom é uma alternativa simples, eficiente e de baixo custo.
14 A metodologia de superfície de resposta (MSR) é um mecanismo estatístico utilizado
15 em processos de otimização, eficaz para avaliar a influência de diferentes fatores na
16 resposta esperada de um determinado processo. O objetivo do estudo foi examinar os
17 parâmetros como temperatura (25 - 65 °C), tempo de extração (30 – 150 min),
18 concentração do etanol no solvente (0 – 100%) e a proporção de solvente – sólido (sol –
19 sol) (5-25 mL/g) em extrações de bioflocos, para obter os melhores níveis de polifenóis
20 e atividade antioxidante, e realizar a análise econômica do processo. Os resultados
21 mostraram que todos os fatores estudados foram significativos para extração de
22 polifenóis. Para a atividade antioxidante contra o radical DPPH, a concentração do
23 etanol e a relação solvente – sólido foram significativos. O tempo e concentração do
24 etanol foram determinantes nos custos de produção. Apenas a concentração do etanol
25 foi significativo para a relação benefício custo. A MRS foi uma ferramenta eficiente
26 para aperfeiçoar o processo de extração de polifenóis e na atividade antioxidante do
27 bioflocos para sua utilização como composto bioativo, no entanto as análises
28 econômicas mostraram custo elevado na etapa de produção.

29

30

31 **ABSTRACT**

32

33 The use of biofloc technology has been highlighted, as it offers aquaculture a
34 sustainable production tool, characterized by minimal or zero water exchange.
35 However, despite being a more environmentally friendly system, it still discharges
36 effluents at the end of crop cycles, in addition to clarification processes to remove
37 excess organic matter during cultivation. In this way, the development of efficient and
38 sustainable waste treatment methods are important parts for the wider use of these
39 systems. Biofloc extracts demonstrated the presence of phenolic compounds and
40 antioxidant capacity, and technological applications such as, for example, use as
41 nutritional supplements could be explored. Extraction of polyphenols using ultrasound-
42 assisted technique is a simple alternative, efficient and low-cost alternative. The
43 response surface methodology (RSM) is a statistical mechanism used in optimization
44 processes, effective to assess the influence of different factors on the expected response
45 of a given process. The objective of the study was to examine the parameters such as
46 temperature (25 - 65 ° C), extraction time (30 - 150 min), concentration of ethanol in the
47 solvent (0 - 100%) and the proportion of solvent - solid (5-25 mL/g) extractions of
48 bioflocs, to obtain the best levels of polyphenols and antioxidant activity in the
49 combination of these parameters in the extraction process using RSM, and to carry out
50 the economic analysis of the process. The results showed that all the factors studied
51 were significant for the extraction of polyphenols. For the antioxidant activity against
52 the DPPH radical, the concentration of ethanol and the solvent - solid ratio were
53 significant. The time and concentration of ethanol were decisive in the production costs.
54 Only the concentration of ethanol was significant for the cost-benefit ratio. RSM was an
55 efficient tool to improve the extraction process of polyphenols and antioxidant activity
56 of bioflocs for use as a bioactive compound, however, economic analyzes showed a
57 high cost in the production stage.

58 **INTRODUÇÃO GERAL**

59 **Tecnologia de Bioflocos**

60 A Aquicultura é uma atividade em expansão desde a década de 90, apresentando
61 crescimento com taxa média de 5,3 % por ano de 2001 à 2018, obtendo a maior

62 produção já registrada de 114,5 milhões de toneladas de peso vivo no ano de 2018
63 (FAO, 2020). Dentro dos diferentes meios de produção para camarão e peixes, a
64 produção superintensiva em tecnologia de bioflocos vem se destacando, por oferecer à
65 aquicultura uma ferramenta de produção com menor impacto ao ambiente (Wasielesky
66 *et al.*, 2006; Crab *et al.*, 2012; Krummenauer *et al.*, 2014; Henares *et al.*, 2020).

67 A tecnologia de biofocos (BFT) é um sistema de troca mínima ou zero de água,
68 baseada na manutenção da qualidade de água (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2006). O
69 sistema estimula o desenvolvimento de biomassa bacteriana heterotrófica, balanceando
70 a relação carbono e nitrogênio, através da adição de uma fonte de carbono orgânica
71 externa, para que diferentes grupos de micro-organismos se desenvolvam e possibilitem
72 a remoção de amônia do sistema, evitando sua acumulação e toxicidade, além de
73 tornar-se fonte adicional de alimento para os animais cultivados (Avnimelech, 1999;
74 Wasielesky *et al.*, 2006; Hargreaves, 2006; Crab *et al.*, 2012; Krummenauer *et al.*,
75 2014; Kumar *et al.*, 2018).

76 O biofoco consiste em um agregado de diatomáceas, dinoflagelados, ciliados,
77 cianobactérias, clorófitas, nematoides, resíduo de alimentos, restos fecais,
78 exoesqueletos, bactérias, e micro invertebrados, e contém compostos bioativos como
79 carotenóides, bromofenóis, fitoesteroides, vitamina A, D, E e K (Hargreaves, 2006; Ju
80 *et al.*, 2008; Ray *et al.*, 2010; Jatobá, 2014; Pinho *et al.*, 2017). Esses componentes da
81 biomassa do floco influenciam positivamente na digestibilidade, absorção, assimilação e
82 saúde de animais cultivados neste sistema (Ju *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2016). Estudos
83 vêm demonstrando outros impactos positivos do ponto de vista produtivo, como melhor
84 desempenho zootécnico quando cultivado em sistema de flocos do que em método
85 tradicional (Ju *et al.*, 2008). A utilização do biofoco como alimento, possibilita o uso
86 de rações com menos proteína, influenciando na diminuição do custo (Avnimelech,
87 1999; Hargreaves, 2006; Wasielesky *et al.*, 2006; Jatobá, 2014; Kumar *et al.*, 2016) e no
88 impacto em estoques pesqueiros naturais, já que a farinha de pescado é utilizada na
89 formulação de rações (Wasielesky *et al.*, 2006). Também reduz a taxa de conversão
90 alimentar, aumenta a taxa de eficiência proteica e de crescimento específico (Kumar *et*
91 *al.*, 2016). Por ser um sistema fechado proporciona um maior nível de biossegurança,
92 diminuindo incidência de doenças do meio externo, e diminuindo o impacto ambiental
93 causado pelas renovações de água constantes de sistemas tradicionais (Wasielesky *et*

94 *al.*, 2006; Maicá *et al.*, 2012). Todas estas características integram aspectos ambientais,
95 sociais e econômicos, tornando um meio de produção mais sustentável (Crab *et al.*,
96 2012).

97 No entanto apesar de ser um sistema mais sustentável ambientalmente do que
98 sistemas tradicionais, ainda realiza descarga do efluente de bioflocos ao final de ciclos de
99 produção, e processos de clarificação para remoção de seu excesso durante o cultivo,
100 necessários para manutenção da qualidade de água (Gaona *et al.*, 2011). O aumento do
101 material particulado em suspensão acarreta na diminuição da concentração de oxigênio,
102 aumento da demanda bioquímica de oxigênio, e o estresse gerado nessas condições
103 pode afetar o desempenho zootécnico dos organismos cultivados (Gaona *et al.*, 2011;
104 Ray *et al.*, 2010)

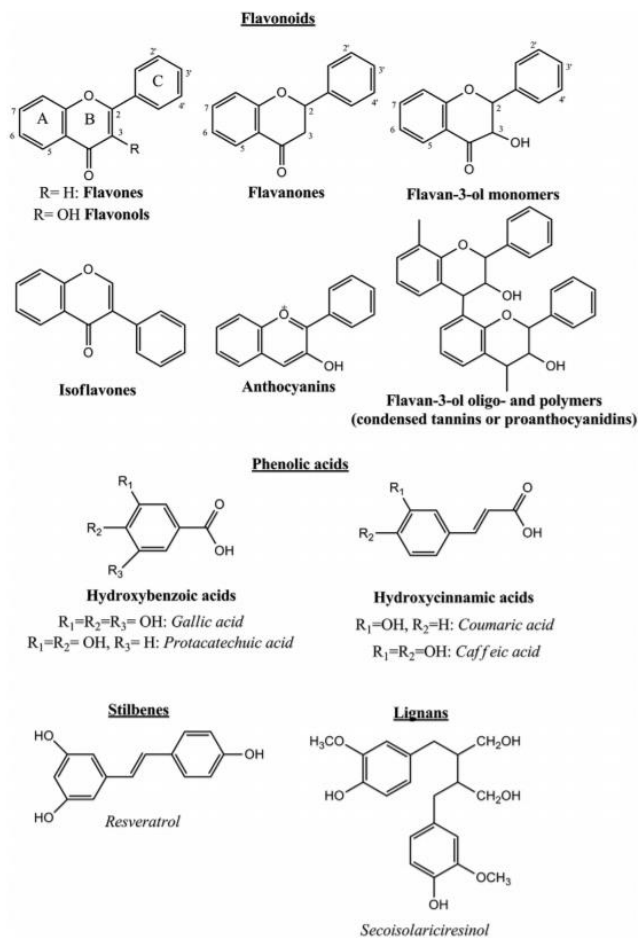
105 O desenvolvimento de métodos de tratamento de resíduos eficientes e
106 sustentáveis são partes importantes para o uso mais amplo desse sistema na aquicultura
107 (Van Rijn, 2013). Algumas estratégias têm sido estudadas, como utilização do bioflocos
108 em formulação de rações como substituição à farinha de soja e farinha de pescado
109 (Anand *et al.*, 2014; Kuhn *et al.*, 2016), o uso de efluentes como uma alternativa para a
110 produção aquapônica (Pinho *et al.*, 2017; Pickens *et al.*, 2020) e reutilização da água do
111 BFT em outros ciclos de cultivo (Krummenauer *et al.*, 2014).

112 Uma alternativa ao tratamento do bioflocos pode ser sua utilização na obtenção
113 de polifenóis, já demonstrado que há a presença destes compostos bioativos e
114 capacidade antioxidante frente ao radical peroxil em extratos metanólicos (León *et al.*,
115 2018). Silva Martins *et al.* (2015) indicam que o BFT pode estimular a maior
116 competência antioxidante no camarão *Litopenaeus vannamei*. Esses trabalhos reforçam
117 a necessidade de mais estudos voltados ao aproveitamento desse resíduo, explorando a
118 presença de compostos bioativos e suas aplicações.

119 **Polifenóis e atividade antioxidante**

120 Os polifenóis são compostos químicos comumente encontrados em plantas
121 (Maleki *et al.*, 2020). Os compostos polifenólicos são geralmente divididos em várias
122 classes, de acordo com os anéis fenólicos que contêm e as diferenças estruturais na
123 ligação entre esses anéis. Assim, estas moléculas são classificadas principalmente em
124 flavonóides, ácidos fenólicos, taninos (hidrolisáveis e condensados), estilbenos e

125 lignanos (Figura 1) (Stavrou *et al.*, 2018). Os benefícios da utilização destes compostos
 126 estão associados a seu potencial bactericida, propriedades anticancerígenas, anti-
 127 inflamatória, antiobesidade, e no tratamento da diabetes e aterosclerose, além de suas
 128 propriedades antioxidantes (Sandeep & Nisha, 2012; Pasrija & Anandharamakrishnan,
 129 2015).



130

131

Figura 1: Classificação dos polifenóis. Fonte: Kontogianni (2014).

132

133 O estresse oxidativo desempenha um papel na interrupção do equilíbrio entre a
 134 produção de radicais livres e o sistema de defesa antioxidante, esses radicais livres estão
 135 presentes na classe de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) e
 136 possuem alta reatividade, um exemplo clássico é a produção de ROS no processo de
 137 fosforilação oxidativa nas mitocôndrias (Ward *et al.*, 2014; Kong *et al.*, 2016). Quando
 138 em excesso, os ROS e RNS abrem caminho para uma variedade de doenças patológicas,

139 como doenças cardiovasculares, resistência à insulina e síndrome metabólica (Bansal *et*
140 *al.*, 2012; Maleki *et al.*, 2020). Biomoléculas como proteínas, lipídios e DNA são
141 oxidadas quando a concentração de ROS/RNS é elevada, e antioxidantes exógenos
142 como os compostos fenólicos podem mitigar estes efeitos, seja de forma direta atuando
143 como potentes antioxidantes doando um átomo de hidrogênio do grupo hidroxila para as
144 espécies químicas radiculares ou por proteção indireta por meio da regulação das
145 atividades de enzimas antioxidantes (Alía *et al.*, 2006; Miquel, 2009; Kong *et al.*, 2016;
146 Shen *et al.*, 2016; Maleki *et al.*, 2020). Vários estudos têm demonstrado a competência
147 de compostos fenólicos em combater radicais como DPPH (2,2-difenil-1-
148 picrilhidrazilo), ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico], hidroxila
149 e ânion superóxido dentre outros (Ge *et al.*, 2020; Ofosu *et al.*, 2020; Gómez-García, *et*
150 *al.*, 2020; Islam *et al.*, 2020).

151 **Otimização da extração de polifenóis**

152 Diferentes técnicas podem ser aplicadas no processo de extração de compostos
153 fenólicos, e o principal objetivo ao selecionar o método, é que este possa promover a
154 extração completa desses metabólitos secundários antioxidantes sem ocorrer sua
155 modificação química, e cada técnica tem suas vantagens e desvantagens (Ćujić *et al.*,
156 2016). As técnicas incluem a extração assistida por ultrassom, extração por fluido
157 supercrítico, extração acelerada por solvente e extração assistida por micro-ondas
158 (Şahin, & Şamlı, 2013; Wang *et al.*, 2013; Hammi *et al.*, 2015). Dentre essas técnicas, a
159 extração assistida por ultrassom é uma alternativa simples, eficiente e de baixo custo
160 (Hammi *et al.*, 2015). A extração por meio desta técnica é mais satisfatória na obtenção
161 destes compostos devido ao efeito de cavitação acústica produzida no solvente pela
162 passagem de ondas ultrassônicas (Hammi *et al.*, 2015). Essas ondas podem levar à
163 diminuição do tamanho da partícula, e a ruptura da parede das células e aumentar a área
164 de superfície de contato entre as fases sólida e líquida, favorecendo a transferência de
165 massa aprimorada através da membrana celular devido ao colapso das bolhas
166 produzidas pela cavitação (Rostagno, Palma, & Barroso, 2003; Hossain *et al.*, 2012;
167 Teh & Birch, 2014; Hammi *et al.*, 2015; Dang *et al.*, 2017).

168 A qualidade e quantidade de compostos fenólicos biologicamente ativos são
169 pontos críticos para a indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, e a extração é a

170 primeira etapa para completa obtenção dos compostos ativos, para posteriores processos
171 de isolamento e purificação (Ćujić *et al.*, 2016). A eficiência de extração é influenciada
172 por vários fatores, como tipo e concentração de solvente, relação solvente/sólido,
173 tempo, temperatura, entre outras. O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística
174 eficiente e simples, que permite avaliar os efeitos gerados em uma resposta pelos
175 fatores, e suas interações, a fim de alcançar a melhor otimização (Hammi *et al.*, 2015;
176 Chen *et al.*, 2015; Ćujić *et al.*, 2016).

177 **Análise de superfície resposta**

178 A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma ferramenta estatística
179 utilizado em processos de otimização, mostrando ser bastante eficaz para avaliar a
180 influência de diferentes fatores na resposta esperada de um determinado processo
181 (Myers *et al.*, 2009). Essa metodologia é comumente utilizada na otimização de
182 extração de polifenóis e atividade antioxidante (Tabela 1). Diferentes MSR são
183 utilizados em diferentes campos da ciência, como química, biologia e alimentos, dentre
184 esses modelos estão o planejamento Box-Behnken, experimentos fatoriais completos de
185 três níveis, e composto central rotacional (DCCR) (Chen *et al.*, 2015). Dentre estes, o
186 DCCR é um modelo de planejamento muito utilizado e eficiente para o MSR (Chen *et*
187 *al.*, 2015; Hammi *et al.*, 2015; Lamarra *et al.*, 2016; Yalçın *et al.*, 2018; Mu'azu *et al.*,
188 2018). Esse procedimento consiste em um planejamento fatorial composto de pontos
189 axiais para estimar a curvatura e pontos centrais para avaliar a reprodutibilidade
190 experimental (Lamarra *et al.*, 2016).

191 A MSR é usual na análise de modelos empíricos que descrevem o efeito de
192 diversas variáveis independentes, como concentração de solvente, tempo de extração,
193 entre outros, e suas interações, em uma ou mais variáveis respostas (Wong *et al.*, 2017)
194 (Tabela 1).

195

196 **Tabela 1: Uso da metodologia de superfície resposta (MSR) em diferentes métodos**
197 **de extrações de fenólicos**

Matéria prima	Método de extração	Parâmetros do processo	Parâmetros estudados	Referência
Macroalga (<i>Hormosira banksii</i>)	Assistido por ultrassom	Temperatura; Tempo; Potência de ultrassonicação	Compostos fenólicos ; Atividade	Dang <i>et al.</i> , 2017

			antioxidante	
Pimenta (<i>Capsicum frutencens</i>)	Assistido por ultrassom	Tempo; Temperatura; Relação solvente – soluto	Compostos fenolicos ; atividade antioxidante	Ifticar <i>et al.</i> , 2020
Losna (<i>Artemisia absimthium</i>)	Assistido por ultrassom	Concentração de HCl; Concentração de metanol; Temperatura; Tempo	Compostos fenólicos	Sahin, <i>et al.</i> , 2013
Casca de madeira de abeto	Assistido por ultrassom	Temperatura; tempo; Concentração etanol	Compostos fenólicos	Ghitescu <i>et al.</i> , 2015
Ingá-cipó (<i>Inga edulis</i>)	Extração convencional	Concentração do etanol; Temperatura; Tempo.	Compostos fenólicos	Silva, <i>et al.</i> , 2007
Groselha Preta (<i>Ribens nigrum</i>)	Extração convencional	Concentração etanol; Temperatura; Relação solvente – soluto	Compostos fenólicos	Cacace & Mazza, 2003
Bagaço de uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Extração convencional; Fluido supercrítico	Temperatura. Tempo; Relação solvente – soluto; pressão;	Compostos fenolicos ; Atividade antioxidante	Pinelo <i>et al.</i> , 2007
Folha de oliveira (<i>Olea europaea</i>)	Assistido por ultrassom	Concentração do etano; Tempo; Relação solvente – soluto	Compostos fenolicos ; Atividade antioxidante	Şahin & Şamli, 2013
Óleo de semente de algodão	Assistido por micro-ondas	Teor de umidade; Tempo; Relação solvente – soluto	Compostos fenólicos	Taghvaei <i>et al.</i> , 2014
Beterraba – Sacarina	Assistido por ultrassom	Temperatura; Tempo; Concentração do ácido; Concentração do etanol	Compostos fenolicos ; Atividade antioxidante	Chen <i>et al.</i> , 2015
Microalgae (<i>Tetraselmis sp.</i>)	Extração convencional	Temperatura; Tempo; Concentração do ácido	Compostos fenólicos	Choi <i>et al.</i> , 2016

198

199 **Análise econômica**

200 É importante avaliar a influência das condições de extração, incluindo a
201 composição do solvente, proporção de solvente, tempo e temperatura, nos rendimentos

202 fenólicos, estimando o custo de fabricação dos extratos brutos, para obter informações
 203 importantes na aplicação de uma planta química de produção (Vieira *et al.*, 2013). O
 204 custo de fabricação (COM) é um método de simulação de custos utilizado na análise
 205 financeira de processos de produção química. O método de análise da COM é estimado
 206 incluindo fatores que variam com a taxa de produção (matérias-primas, tratamento de
 207 resíduos, serviços públicos, mão de obra operacional, supervisão direta e trabalho
 208 administrativo, manutenção e reparos, suprimentos operacionais, encargos de
 209 laboratório, patentes e royalties), fatores não afetados pelo nível de produção
 210 (depreciação, impostos locais e seguro, custos indiretos da fábrica), e custos associados
 211 ao nível de gestão e atividades administrativas não relacionadas diretamente ao processo
 212 de fabricação (custos de administração, distribuição e custos de venda, pesquisa e
 213 desenvolvimento) (Turton *et al.*, 2018). A Tabela 2 cita alguns estudos que utilizaram a
 214 COM para estimar valores na extração de compostos bioativos.

215 **Tabela 2: Utilização do custo de fabricação (COM) em diferentes métodos de**
 216 **extrações de compostos bioativos**

Matéria prima	Método de extração	Referência
Folhas de Caju (<i>Anacardium occidentale</i>)	Fluido supercrítico	Leitão <i>et al.</i> , 2013
Polpa de juçara (<i>Euterpe edulis</i>)	Assistido por ultrassom	Vieira <i>et al.</i> , 2013
Casca de jabuticaba (<i>Plinia cauliflora</i>)	Líquido pressurizado	Santos <i>et al.</i> , 2012
Inhame roxo (<i>Dioscorea alata</i>)	Assistido por ultrassom	Ochoa <i>et al.</i> , 2020
Chapéu – do – Panamá <i>Carludovica palmata</i>	Assistido por ultrassom	Galviz-Quezada <i>et al.</i> , 2019

217

218 **OBJETIVO**

219 **Objetivo geral**

220 Otimizar a extração de polifenóis e atividade antioxidante de bioflocos oriundos
 221 de sistemas de produção BFT.

222 **Objetivos específicos**

- 223 • Avaliar os efeitos de diferentes parâmetros no processo de extração de polifenóis
224 e atividade antioxidante utilizando como matéria-prima o biofloco;
- 225 • Estabelecer condições ótimas dos parâmetros considerados para extração de
226 polifenóis e atividade antioxidante;
- 227 • Determinar os custos para produção dos extratos nas diferentes condições de
228 extração.

229 **REFERÊNCIAS**

230

231 Anand, P. S., Kohli, M. P. S., Kumar, S., Sundaray, J. K., Roy, S. D., Venkateshwarlu,
232 G., ... & Pailan, G. H. (2014). Effect of dietary supplementation of biofloc on growth
233 performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 418,
234 108-115.

235 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.051>

236 Avnimelech, Y., (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
237 systems. *Aquaculture* 176, 227–235.

238 [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)

239 Bansal, S., Syan, N., Mathur, P., & Choudhary, S. (2012). Pharmacological profile of
240 green tea and its polyphenols: a review. *Medicinal Chemistry Research*, 21(11), 3347-
241 3360.

242 <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9800-4>

243 Cacace, J. E., & Mazza, G. (2003). Optimization of extraction of anthocyanins from
244 black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science*, 68(1), 240-248.

245 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14146.x>

246 Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of
247 phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food*

248 *Chemistry*, 172, 543-550.
249 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>

250 Choi, K. H., Shin, S. G., Jo, J. M., Lee, J. H., Kim, S. Y., & Kim, J. W. (2016).
251 Optimization of operating variables for polyphenol extraction from lipid-extracted
252 microalgae using acid-catalyzed hot-water extraction. *Biotechnology and Bioprocess*
253 *Engineering*, 21(4), 544-550.
254 <https://doi.org/10.1007/s12257-016-0272-8>

255 Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in
256 aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356–357, 351–356.
257 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

258 Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016).
259 Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as
260 traditional technique. *Food Chemistry*, 194, 135-142.
261 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>

262 da Silva Martins, Á. C., Artigas Flores, J., Porto, C., Wasielesky Junior, W., &
263 Monserrat, J. M. (2015). Antioxidant and oxidative damage responses in different
264 organs of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) reared in a biofloc
265 technology system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 48(4), 279-288.
266 <https://doi.org/10.1080/10236244.2015.1041240>

267 Dang, T. T., Van Vuong, Q., Schreider, M. J., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A., &
268 Scarlett, C. J. (2017). Optimisation of ultrasound-assisted extraction conditions for
269 phenolic content and antioxidant activities of the alga *Hormosira banksii* using response
270 surface methodology. *Journal of Applied Phycology*, 29(6), 3161-3173.

271 FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in*
272 *action*. Rome

273 Galviz-Quezada, A., Ochoa-Aristizábal, A. M., Zabala, M. E. A., Ochoa, S., & Osorio-
274 Tobón, J. F. (2019). Valorization of iraca (*Carludovica palmata*, Ruiz & Pav.)
275 infructescence by ultrasound-assisted extraction: An economic evaluation. *Food and*

276 *Bioproducts Processing*, 118, 91-102.
277 <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.08.016>

278 Gaona, C. A. P., Poersch, L. H., Krummenauer, D., Foes, G. K., & Wasielesky, W. J.
279 (2011). The effect of solids removal on water quality, growth and survival of
280 *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *International Journal of*
281 *Recirculating Aquaculture*, 12, 54-73.
282 <http://doi.org/10.21061/ijra.v12i1.1354>

283 Ge, X., Jing, L., Zhao, K., Su, C., Zhang, B., Zhang, Q., Han, L., Yu, X., Li, W. (2020).
284 The phenolic compounds profile, quantitative analysis and antioxidant activity of four
285 naked barley grains with different color. *Food Chemistry*, 127655.
286 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127655>

287 Ghitescu, R. E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A. M., Gilca, I. A., & Popa, V. I.
288 (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce
289 wood bark. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 535-541.
290 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.07.013>

291 Gómez-García, R., Campos, D. A., Oliveira, A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., &
292 Pintado, M. (2020). A chemical valorisation of melon peels towards functional food
293 ingredients: bioactives profile and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 127579.
294 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127579>

295 Hammi, K. M., Jdey, A., Abdelly, C., Majdoub, H., & Ksouri, R. (2015). Optimization
296 of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus*
297 *lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chemistry*, 184, 80-89.
298 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.047>

299 Hargreaves, J. A. (2006). Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture.
300 *Aquacultural Engineering*, 34(3), 344-363.
301 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.009>

302 Henares, M. N., Medeiros, M. V., & Camargo, A. F. (2020). Overview of strategies that
303 contribute to the environmental sustainability of pond aquaculture: rearing systems,
304 residue treatment, and environmental assessment tools. *Reviews in Aquaculture*, 12(1),

305 453-470.
306 <https://doi.org/10.1111/raq.12327>

307 Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B., O'donnell, C. P., Martin-Diana,
308 A. B., & Barry-Ryan, C. (2012). Optimization of ultrasound assisted extraction of
309 antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface
310 methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 582-590.
311 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.11.001>

312 Iftikhar, M., Zhang, H., Iftikhar, A., Raza, A., Begum, N., Tahamina, A., ... & Wang, J.
313 (2020). Study on optimization of ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds
314 from rye bran. *LWT – Food Science and Technology* colocar nome da revista por
315 extenso, 134, 110243.
316 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110243>

317 Islam, M. Z., Cho, D. K., & Lee, Y. T. (2020). Bioactive compounds and antioxidant
318 capacity of tea infusion prepared from whole and ground medicinal herb parts. *CyTA-*
319 *Journal of Food*, 18(1), 116-121.
320 <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1702104>

321 Jatobá, A., Corrêa da Silva, B., Souza da Silva, J., Vieira, F.S., Mouriño, J.L.P., Seiffert,
322 W.Q., Toledo, T.M. (2014). Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semi-intensive
323 and biofloc systems. *Aquaculture* 432, 365-371.
324 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.005>

325 Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., & Dominy, W. (2008). Enhanced growth effects on
326 shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to
327 a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 14(6), 533-543.
328 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00559.x>

329 Kong, K. W., Mat-Junit, S., Aminudin, N., Hassan, F. A., Ismail, A., & Aziz, A. A.
330 (2016). Protective effects of the extracts of *Barringtonia racemosa* shoots against
331 oxidative damage in HepG2 cells. *PeerJ*, 4, e1628.
332 <https://doi.org/10.7717/peerj.1628>

- 333 Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G., & Wasielesky Jr, W. (2014). The
334 reuse of water on the culture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT
335 system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(1), 3-14.
336 <https://doi.org/10.1111/jwas.12093>
- 337 Kuhn, D. D., Lawrence, A. L., Crockett, J., & Taylor, D. (2016). Evaluation of bioflocs
338 derived from confectionary food effluent water as a replacement feed ingredient for
339 fishmeal or soy meal for shrimp. *Aquaculture*, 454, 66-71.
340 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.009>
- 341 Lamarra, J., Rivero, S., & Pinotti, A. (2016). Design of chitosan-based nanoparticles
342 functionalized with gallic acid. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 717-726.
343 <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.072>
- 344 Leitão, N. C. M. C. S., Prado, G. H. C., Veggi, P. C., Meireles, M. A. A., & Pereira, C.
345 G. (2013). Anacardium occidentale L. leaves extraction via SFE: Global yields,
346 extraction kinetics, mathematical modeling and economic evaluation. *The Journal of*
347 *Supercritical Fluids*, 78, 114-123.
348 <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.03.024>
- 349 León, D., C.,M., Wasiliesky, W., j., Monserrat, J.,M.(2018). Quercetin influence in
350 water quality and biochemical responses of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in
351 Biofloc Technology System. *Aquaculture Research*, 49, 3569–3576.
352 <https://doi.org/10.1111/are.13823>
- 353 Maleki, M., Khelghati, N., Alemi, F., Bazdar, M., Asemi, Z., Majidinia, M., ... &
354 Yousefi, B. (2020). Stabilization of telomere by the antioxidant property of
355 polyphenols: Anti-aging potential. *Life Sciences*, 118341.
356 <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118341>
- 357 Mu, G., Gao, Y., Tuo, Y., Li, H., Zhang, Y., Qian, F., & Jiang, S. (2018). Assessing and
358 comparing antioxidant activities of lactobacilli strains by using different chemical and
359 cellular antioxidant methods. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 10792-10806.
360 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14989>

361 Mu'azu, N. D., Haladu, S. A., Jarrah, N., Zubair, M., Essa, M. H., & Ali, S. A. (2018).
362 Polyaspartate extraction of cadmium ions from contaminated soil: evaluation and
363 optimization using central composite design. *Journal of Hazardous Materials*, 342, 58-
364 68. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.08.013>

365 Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2009). Response surface
366 methodology: process and product optimization using designed experiments (3rd ed.).
367 John Wiley & Sons.

368 Ochoa, S., Durango-Zuleta, M. M., & Osorio-Tobón, J. F. (2020). Techno-economic
369 evaluation of the extraction of anthocyanins from purple yam (*Dioscorea alata*) using
370 ultrasound-assisted extraction and conventional extraction processes. *Food and*
371 *Bioproducts Processing*. 122, 111-123.
372 <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.04.007>

373 Ofosu, F. K., Elahi, F., Daliri, E. B. M., Tyagi, A., Chen, X. Q., Chelliah, R., Kim, J. H.,
374 Han, S. I., Oh, D. H. (2020). UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS Characterization, antioxidant
375 and antidiabetic properties of sorghum grains. *Food Chemistry*, 127788.
376 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127788>

377 Pickens, J. M., Danaher, J. J., Sibley, J. L., Chappell, J. A., & Hanson, T. R. (2020).
378 Integrating greenhouse cherry tomato production with biofloc tilapia production.
379 *Horticulturae*, 6(3), 44.
380 <https://doi.org/10.3390/horticulturae6030044>

381 Pinelo, M., Ruiz-Rodríguez, A., Sineiro, J., Señoráns, F. J., Reglero, G., & Núñez, M. J.
382 (2007). Supercritical fluid and solid–liquid extraction of phenolic antioxidants from
383 grape pomace: a comparative study. *European Food Research and Technology*, 226(1-
384 2), 199-205.
385 <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0526-3>

386 Pinho, S. M., Molinari, D., de Mello, G. L., Fitzsimmons, K. M., & Emerenciano, M. G.
387 C. (2017). Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics
388 production of different lettuce varieties. *Ecological Engineering*, 103, 146-153.
389 <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.009>

390 Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A., & Browdy, C. L.
391 (2010). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive
392 aquaculture systems and the effects of suspended solids
393 management. *Aquaculture*, 310(1-2), 130-138.
394 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.019>

395 Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of
396 soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2), 119-128.
397 [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01184-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01184-1)

398 Şahin, S., & Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-
399 assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*,
400 20(1), 595-602.
401 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>

402 Şahin, S., Aybastier, Ö., & Işık, E. (2013). Optimisation of ultrasonic-assisted
403 extraction of antioxidant compounds from *Artemisia absinthium* using response surface
404 methodology. *Food Chemistry*, 141(2), 1361-1368.
405 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.003>

406 Sandeep, K., & Nisha, S. (2012). Green tea polyphenols: versatile cosmetic ingredient.
407 *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences*, 1(4),
408 348-363.

409 Santos, D. T., Veggi, P. C., & Meireles, M. A. A. (2012). Optimization and economic
410 evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba
411 skins. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 444-452.

412 Silva, E. M., Rogez, H., & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of
413 phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and*
414 *Purification Technology*, 55(3), 381-387.
415 <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.01.008>

416 Stavrou, I. J., Christou, A., & Kapnissi-Christodoulou, C. P. (2018). Polyphenols in
417 carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and

418 health impact. *Food Chemistry*, 269, 355-374.
419 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.152>

420 Teh, S. S., & Birch, E. J. (2014). Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol
421 content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed
422 cakes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 346-353.
423 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.08.002>

424 Turton, R., Whiting, W. B., Bhattacharyya, D., & Shaeiwitz, J. A. (2018). Analysis,
425 synthesis, and design of chemical processes. Prentice Hall International Series in the
426 Physical and Chemical Engineering Sciences.

427 Van Rijn, J. (2013). Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural*
428 *Engineering*, 53, 49-56.
429 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.010>

430 Vieira, G. S., Cavalcanti, R. N., Meireles, M. A. A., & Hubinger, M. D. (2013).
431 Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by
432 ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*).
433 *Journal of Food Engineering*, 119(2), 196-204.
434 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.030>

435 Wang, X., Wu, Y., Chen, G., Yue, W., Liang, Q., & Wu, Q. (2013). Optimisation of
436 ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from Sparganii rhizoma with
437 response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(3), 846-854.
438 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.11.007>

439 Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A., & Browdy, C. L. (2006). Effect of natural
440 production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture
441 system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258(1-4), 396-403.
442 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>

443 Wong, K. H., Li, G. Q., Li, K. M., Razmovski-Naumovski, V., & Chan, K. (2017).
444 Optimisation of *Pueraria* isoflavonoids by response surface methodology using
445 ultrasonic-assisted extraction. *Food Chemistry*, 231, 231-237.
446 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.068>

447 Yalcin, T. E., Ilbasmis-Tamer, S., & Takka, S. (2018). Development and
448 characterization of gemcitabine hydrochloride loaded lipid polymer hybrid
449 nanoparticles (LPHNs) using central composite design. *International Journal of*
450 *Pharmaceutics*, 548(1), 255-262.
451 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.063>

452 **Capítulo 1**

453

454

455

456 **Sólidos sedimentáveis residuais do bioflocos: Otimização da extração de polifenóis**

457 **usando metodologia de superfície resposta e análise econômica**

458

459

460

461

462

463 Robson Matheus Marreiro Gomes, Astrid Muñoz Buitrago, Grecica Mariana Colombo

464 Juan Rafael Buitrago, Fabio Roselet, José Maria Monserrat

465

466

467

468 Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia,

469 Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Av. Itália, Km 08, Rio Grande, RS 96201-

470 900, Brasil

471 Laboratório de Produção de Microalgas, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do

472 Rio Grande – FURG, Av. Itália, Km 08, Rio Grande, RS 96201-900, Brasil

473

474

475 Artigo em preparação para submissão a revista Aquaculture

476 **Resumo**

477

478 O uso da tecnologia de bioflocos vem se destacando, por oferecer à aquicultura uma
479 ferramenta mais sustentável de produção comparado a sistemas tradicionais, no entanto
480 continua descartando efluentes gerados neste sistema para o ambiente. O
481 desenvolvimento de métodos de tratamento destes efluentes, de forma eficientes e
482 sustentáveis são partes importantes para o uso amplo desses sistemas. A extração
483 assistida por ultrassom é uma alternativa simples, eficiente e de baixo custo, e pode ser
484 uma alternativa para a extração de polifenóis dos bioflocos. O objetivo do estudo foi
485 examinar através da metodologia de superfície resposta (MSR) os parâmetros de
486 temperatura (25 - 65 °C), tempo de extração (30 – 150 min), concentração do etanol no
487 solvente (0 – 100%) e a proporção solvente - sólido (5-25 ml/g) nas extrações de
488 polifenóis dos bioflocos, além de sua influência nos custos da extração. Os resultados
489 mostraram que todos os fatores estudados foram significativos na extração de polifenóis
490 (maior resposta predita foi de 2.976 µg EAG/g, e foi obtida com 65°C, 150 minutos, 0%
491 de álcool e 21,3 de soluto), concentração do álcool e relação solvente – sólido foram
492 significativos para atividade antioxidante contra o radical DPPH (maior resposta predita
493 foi de 1.504 µM ET/g, e foi obtida com 0% de álcool e 25 de soluto). No custo de
494 fabricação (COM) o tempo e a concentração do etanol foram determinantes nos custos
495 de produção, e para a relação benefício custo (BC) somente a concentração do etanol. O
496 Biofoco é uma fonte residual de polifenóis, e a MSR foi uma ferramenta eficiente para
497 aperfeiçoar o processo de extração desses compostos, no entanto as análises econômicas
498 mostraram que o custo de extração é elevado.

499 Palavras-chave: Aquicultura, Valorização de resíduos, Compostos bioativos, Atividade
500 antioxidante, Planejamento experimental, MSR.

501 **Introdução**

502 A tecnologia de biofocos (BFT) vem ganhando destaque no meio de produção
503 aquícola, por usar menos recursos naturais como água e terra, e realizar menor descarga
504 de efluente, com uma boa relação benefício/custo (Crab *et al.*, 2012). BFT é uma
505 técnica de troca mínima ou zero de água, e atua na qualidade de água através da
506 assimilação de resíduos orgânicos nitrogenados por estimulação de bactérias

507 heterotróficas, através da adição de uma fonte externa de carbono orgânico para
508 balanceamento da relação carbono e nitrogênio (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2006;
509 Crab *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2016).

510 Estudos vêm demonstrando que o biofloco se torna uma fonte complementar de
511 alimento aos animais, diminuindo o custo com rações (Avnimelech, 1999; Hargreaves,
512 2006; Wasielesky *et al.*, 2006; Jatobá, 2014; Kumar *et al.*, 2016), além de favorecer
513 ganhos no desempenho zootécnico (Ju *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2016). Menores taxas
514 de renovações promovem menor incidência de doenças e diminuem o impacto
515 ambiental desse sistema em comparação aos sistemas tradicionais (Wasielesky *et al.*,
516 2006; Maicá, 2012). Todos esses fatores favorecem à expansão desse sistema na
517 produção de organismos aquáticos. Entretanto processos de clarificação são
518 rotineiramente realizadas para manutenção da qualidade de água (Gaona *et al.*, 2011;
519 Ray *et al.*, 2010), contribuindo para o descarte desse resíduo junto ao realizado no fim
520 de ciclos de produção. Desta forma o desenvolvimento de métodos de tratamento
521 visando o aproveitamento dos resíduos excedentes de bioflocos produzidos nos
522 sistema, tornará essa tecnologia em uma ferramenta mais sustentável de produção (Van
523 Rijn, 2013).

524 Compostos fenólicos naturais compreendem ácidos fenólicos, flavonoides,
525 cumarinas, taninos, lignanas e estilbeno (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Vários
526 estudos têm demonstrado a competência de polifenóis no combate à radicais livres
527 como DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)
528 6-ácido sulfônico], hidroxil, ânion superóxido, dentre outros (Ge *et al.*, 2020; Ofofu *et*
529 *al.*, 2020; Gómez-García, *et al.*, 2020; Islam *et al.*, 2020). León *et al.* (2018) reportaram
530 a presença de flavonóides, um dos principais grupos de polifenóis, e atividade contra
531 radical peroxil em extratos do bioflocos, tornando possível a utilização deste resíduo
532 como fonte de polifenóis, visto que os antioxidantes naturais estão com alta demanda no
533 mercado (Mu *et al.*, 2018). O uso de antioxidantes exógenos atenua os efeitos do
534 estresse oxidativo, promovendo proteção contra a oxidação de biomoléculas, como
535 proteínas, lipídios e DNA, por meio de ação direta contra esses radicais ou por proteção
536 indireta por meio da regulação das atividades de enzimas antioxidantes (Alía *et al.*,
537 2006; Miquel, 2009; Kong *et al.*, 2016).

538 A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma ferramenta bastante
539 utilizada em processos de extração de compostos ativos de diversas matérias primas
540 (Chen *et al.*, 2015; Hammi *et al.*, 2015; Lamarra *et al.*, 2016). Diversos planejamentos
541 experimentais são utilizados em otimizações, como, Box-Behnken, experimentos
542 fatoriais completos de três níveis, e composto central rotacional (DCCR) (Chen *et al.*,
543 2015). Dentre esses planejamentos, o DCCR é um modelo muito utilizado e eficiente de
544 MSR (Chen *et al.*, 2015; Hammi *et al.*, 2015; Lamarra *et al.*, 2016; Y Yalçın *et al.*,
545 2018; Mu'azu *et al.*, 2018). Este método consiste em um planejamento fatorial
546 composto de pontos axiais para estimar a curvatura e pontos centrais para avaliar a
547 reprodutibilidade experimental (Lamarra *et al.*, 2016). Este modelo proporciona avaliar
548 de maneira simples os efeitos e interações de diferentes fatores no processo de
549 otimização de extração de compostos bioativos, a fim de alcançar uma melhor
550 otimização (Hammi *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2015; Čujić *et al.*, 2016).

551 No presente estudo, a influência de quatro fatores (temperaturas, tempo,
552 concentração do etanol, e relação de solvente – soluto) no processo de extração de
553 compostos bioativos dos bioflocos foi otimizada utilizando a metodologia MSR e o
554 planejamento fatorial DCCR. Além disso, foi efetuada a análise econômica dos
555 processos de extração.

556 **Materiais e Métodos**

557 **Obtenção do biofloco**

558 O biofloco foi coletado de cultivos superintensivos do camarão-branco-do-
559 pacífico (*Litopenaeus vannamei*) em sistema BFT, realizados na Estação Marinha de
560 Aquicultura (EMA) da Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Rio Grande do
561 Sul - Brasil. As amostras de biofloco foram deixadas em repouso durante 15 minutos,
562 para sedimentação, a fração líquida foi descartada, e a fração sólida foi centrifugado a
563 800 x g por 15 minutos a 4 °C para remoção de água residual. Após, as amostras foram
564 liofilizadas em liofilizador de Bancada Horizontal (SL-405/E), a 0°C sob -760 mmHg,
565 maceradas e estocadas em ultrafreezer a -80°C.

566 **Reagentes e padrões**

567 O reagente 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi obtido da Sigma–Aldrich
568 (Alemanha), e o trolox [(±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid]
569 foi obtido da Sigma–Aldrich (Suíça). O reagente Folin–Ciocalteu e o ácido gálico foram
570 obtidos da Dinâmica Química (Brasil). O etanol (95%) e o carbonato de sódio foram
571 obtidos da Synth (Brasil), e a água ultrapura foi preparada usando sistema Milli-Q de
572 purificação.

573 **Procedimento de extração dos compostos antioxidantes**

574 A extração foi realizada em banho ultrassônico Eco-sonics modelo Q3.0L com
575 frequência de 40 kHz. A temperatura foi mantida com a utilização de banho
576 termostaticado em um sistema de circulação com auxílio de bombas de água. Foram
577 utilizadas amostras com peso de 0,4 g e ajustada aos volumes de solvente para as
578 diferentes relações de solvente – sólido, homogeneizadas em bequers de 200 mL, nas
579 diferentes temperaturas (°C), tempos (min), concentração do etanol em água (%), e
580 relações de solvente – soluto (mL/g). Após a extração, as amostras foram centrifugadas
581 a 10.000 x g por 5 min à 4°C e o sobrenadante foi coletado para determinar o conteúdo
582 de polifenóis totais e atividade antioxidante.

583 **Polifenóis totais**

584 O conteúdo total de Polifenóis foi medido de acordo com o método de Folin-
585 Ciocalteu (FC) conforme descrito por Waterhouse (2002). Foi utilizado 20 µL de
586 amostra, adicionado 1,58 mL de água, seguido de 100 µL de reagente FC, logo
587 incubado por 8 min. Posteriormente foi adicionado 300 µL de solução de carbonato de
588 sódio, e incubado por 2 horas à temperatura ambiente. As absorbâncias das amostras
589 foram lidas à 765 nm. Para o padrão de calibração foi utilizada uma solução de ácido
590 gálico, e os valores foram expressos em microgramas relativas do padrão por grama de
591 amostra (µg EAG/ g).

592 **Capacidade antioxidante contra radical DPPH**

593 A avaliação contra o radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi
594 realizado segundo o método modificado por Vianna et al. (2012). Utilizando 50 µl do
595 extrato, foi adicionado 150 µL da solução de DPPH 0,06 mM em metanol, após 30

596 minutos foi realizada a leitura da absorvância à 515 nm. A atividade antioxidante foi
 597 expressa por equivalência a capacidade antioxidante do Trolox contra o radical DPPH
 598 por grama de amostra ($\mu\text{M ET/g}$).

599 **Análise estatística**

600 **Varredura preliminar para níveis e fatores**

601 O processo de varredura foi realizado para determinar os fatores que são
 602 significativos dentro dos níveis estudados, para a otimização do processo de extração de
 603 polifenóis totais através de um delineamento experimental do tipo Plackett & Burman
 604 com 12 ensaios (com adição de 3 pontos centrais), e 4 fatores, sendo os fatores,
 605 temperaturas (X_1), tempo (X_2), concentração do etanol (X_3), e relação de solvente –
 606 soluto (X_4), e 3 níveis (Tabela 1 e 2). Os efeitos dos fatores foram analisados através da
 607 ANOVA, com nível de significância de 10%. Para esta análise foi utilizado o software
 608 STATISTICA versão 13.3 (TIBCO Software Inc., EUA). Este processo determinou as
 609 variáveis e os níveis utilizados na etapa de otimização.

610 **Tabela 1. Faixa de valores codificados para a varredura no processo de otimização da extração de polifenóis de**
 611 **amostras de biofloco.**

Fatores	Variáveis	Níveis		
		-1	0	+1
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	X_1	25	45	65
Tempo (min)	X_2	30	90	150
Concentração do etanol (%)	X_3	0	50	100
Relação solvente - soluto (g/mL)	X_4	0,050	0,125	0,200

612

613 **Tabela 2: Delineamento de Plackett & Burman com valores codificados no processo de otimização da extração**
 614 **de polifenóis de amostras de biofloco.**

Ensaio	Variáveis independentes			
	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo (min)	Concentração do etanol (%)	Relação solvente - soluto (mL/g)
1	1	-1	1	-1
2	1	1	-1	1
3	-1	1	1	-1
4	1	-1	1	1
5	1	1	-1	1
6	1	1	1	-1

7	-1	1	1	1
8	-1	-1	1	1
9	-1	-1	-1	1
10	1	-1	-1	-1
11	-1	1	-1	-1
12	-1	-1	-1	-1
13 (PC)	0	0	0	0
14 (PC)	0	0	0	0
15 (PC)	0	0	0	0

615

616 **Planejamento fatorial para otimização**

617 Após a varredura, foi utilizada MSR para investigar as influências e interações
618 dos fatores dentro dos níveis indicados na Tabela 3, na quantidade de polifenóis totais
619 e atividade antioxidante das extrações com o intuito de otimizar o processo.

620 **Tabela 3: Faixa de valores codificados no processo de otimização da extração de polifenóis de amostras de**
621 **biofloco.**

Fatores	Variáveis	Níveis				
		-2	-1	0	+1	+2
Temperatura (°C)	X ₁	25	35	45	55	65
Tempo (min)	X ₂	30	60	90	120	150
Concentração do etanol (%)	X ₃	0	25	50	75	100
Relação solvente- soluto (mL/g)	X ₄	5	10	15	20	25

622

623 Para o processo de otimização foi utilizado o modelo de Delineamento
624 Composto Central Rotacional (DCCR 2⁴), sendo que o número de experimentos foi
625 calculado a partir da equação a seguir:

626
$$N_{\text{exp}}: 2^k + 2 \cdot k + \text{PC}$$

627 Onde k é o número de fatores, e PC é o número de pontos centrais adicionado ao
628 delineamento experimental (Sahin *et al.*, 2013). Desta forma foram definidos um total
629 de 29 ensaios (Tabela 4), com 16 do fatorial completo (2^k) entre níveis altos e baixos (-
630 1, +1), 8 (2*K) como pontos axiais ($\alpha = \pm 2$, calculado a partir da fórmula $(2^k)^{\frac{1}{4}}$), e por
631 fim 5 pontos centrais para determinar a variabilidade dos ensaios (Singh *et al.*, 2011).

632 Foi utilizada para calcular as respostas previstas uma equação polinomial de segunda
 633 ordem incluindo todos os termos (Tabela 4).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} X_i X_j$$

634 Onde Y é a resposta, β_0 é o intercepto, $\beta_i X_i$ é o efeito linear, $\beta_{ii} X_i^2$ é o efeito
 635 quadrático, $\beta_{ij} X_i X_j$ é o efeito de interação entre as variáveis independentes (X_i e X_j). Os
 636 efeitos dos fatores e suas interações foram analisados através da ANOVA, com nível de
 637 significância de 5%, e foi utilizado o software STATISTICA versão 13.3 (TIBCO
 638 Software Inc., EUA).

639 **Tabela 4: DCCR com valores codificados no processo de otimização da extração de polifenóis de amostras de**
 640 **biofloco.**

Ensaio	Variáveis independentes			
	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Concentração do etanol (%)	Relação solvente - soluto (mL/g)
1	-1	-1	-1	-1
2	-1	-1	-1	1
3	-1	-1	1	-1
4	-1	-1	1	1
5	-1	1	-1	-1
6	-1	1	-1	1
7	-1	1	1	-1
8	-1	1	1	1
9	1	-1	-1	-1
10	1	-1	-1	1
11	1	-1	1	-1
12	1	-1	1	1
13	1	1	-1	-1
14	1	1	-1	1
15	1	1	1	-1
16	1	1	1	1
17	-2	0	0	0
18	2	0	0	0
19	0	-2	0	0
20	0	2	0	0
21	0	0	-2	0
22	0	0	2	0
23	0	0	0	-2

24	0	0	0	2
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0
28	0	0	0	0
29	0	0	0	0

641

642 **Análise econômica**

643 Todos os dados relacionados à avaliação econômica (custo de fabricação, e relação
644 benefício custo) foram analisados seguindo os valores gerados pela matriz de ensaios
645 gerados para o processo de otimização utilizando o planejamento DCCR, realizando a
646 mesma análise estatística.

647 **Custo de fabricação**

648 O custo de fabricação (COM) foi utilizado para realizar a avaliação econômica
649 dos processos de extração de polifenóis dos bioflocos, e os valores foram estimados de
650 acordo com a metodologia proposta por Turton *et al.* (2018). O COM é calculado com a
651 equação a seguir:

$$652 \text{ COM} = 0,280 \times \text{FCI} + 2,37 \times \text{COL} + 1,23 \times (\text{CUT} + \text{CWT} + \text{CRM})$$

653 Este custo é estimado em função de cinco custos principais: capital fixo de
654 investimento (FCI), custo de mão de obra operacional (COL), custo de utilidades
655 (CUT), custo de tratamento de resíduos (CWT) e custo de matéria-prima (CRM). O
656 COM foi expresso em USD/ano tomando como referência a cotação do Banco Central
657 do Brasil (USD equivalente à R\$ 5,34 em 03/02/21) e foi estimado para todos os
658 ensaios de otimização além do ponto ótimo de extração.

659 Todos os dados para a realização da simulação da análise econômica estão na
660 Tabela 5. O número de operadores foi estimado de acordo com Turton *et al.* (2018). O
661 custo com equipamento foi estimado a partir de preços do mercado dos Estados Unidos,
662 e utilizada taxa de depreciação de 10%. O CWT foi negligenciado devido à etapa de
663 extração já ser um processo de tratamento de resíduo. O COL foi obtido a partir de
664 dados fornecidos pelo Conselho Nacional de Química (CNQ) do Brasil. O custo com
665 energia e água foram os praticados no laboratório, obtido de acordo com valores locais

666 para indústria da Companhia Estadual de Energia Elétrica do Rio Grande do Sul
 667 (CEEE) e a Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN). Os custos com a
 668 obtenção de material prima (Biofoco) também foi negligenciado por se tratar de um
 669 resíduo da aquicultura.

670

671 **Tabela 5: Parâmetros econômicos utilizados no custo de fabricação (COM).**

Custos	Valor
Capital fixo de investimento	
Liofilizador (USD)	4.315,00
Banho ultrassom (USD)	4.352,13
Banho Maria (USD)	325,58
Millipore Milli-Q (USD)	10.836,00
Centrífuga (USD)	5.670,00
Custo de operação laboratorial	
Taxa básica hora trabalhador (USD)	0,780
Custo de obtenção de matéria prima	
Etanol (USD/L)	3,409
Água (USD/L)	0,001
Custo de utilidades	
Eletricidade (USD/KWh)	0,150
Água (USD/L)	0,001
Ganho financeiro	
Preço de venda (USD/Kg)*	427,60

* Valor do ácido gálico (Sigma–Aldrich)

672

673 **Relação benefício custo**

674 A relação benefício custo (BC) foi obtida através da seguinte equação:

$$BC = \frac{LB}{COM}$$

675 Onde LB representa o lucro bruto da produção, e COM os valores de custos de
 676 fabricação. O valor de BC menor que 1 representa saldo negativo financeiro, igual a 1
 677 demonstra que o valor obtido com o ganho financeiro cobre o valor gasto para a

678 produção, e o valor acima 1 demonstra saldo positivo financeiro onde há presença de
679 lucro líquido.

680 **Resultados e discussão**

681 **Processo de varredura**

682 O processo de varredura mostrou que todas as variáveis dentro dos níveis
683 estudados foram significativas no processo de extração (Tabela 6), desta forma as
684 variáveis temperatura, tempo, concentração do álcool e a relação solvente – soluto
685 entraram no processo de otimização.

686 **Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para fatores do processo de varredura.**

Fator	Efeito	Erro padrão	valor <i>t</i>	valor <i>p</i>
X ₀	1013,02	10,61	95,49	<0,0001
X ₁	421,88	23,53	17,93	0,0004
X ₂	126,56	23,53	5,38	0,0126
X ₃	-1240,10	23,53	-52,71	<0,0001
X ₄	-135,63	22,72	5,97	0,0094

687

688 **Ajustando os modelos**

689 O conteúdo de polifenóis totais e a capacidade antioxidante contra o radical
690 DPPH dos extratos de biofloco dos 30 experimentos realizados estão apresentados na
691 Tabela 7. Dentre os experimentos o maior valor para o conteúdo de polifenóis totais foi
692 obtido com o ensaio 14 (55°C, 120 min, 25% de etanol, e 20mL/g) no qual o extrato
693 apresentou um valor de 1.918,57 µg EAG/g, e o menor valor foi obtido com o ensaio 22
694 (45 °C, 90 min, 100% de etanol, e 15 mL/g) com 303,21 µg EAG/g. Para a atividade
695 antioxidante contra o radical DPPH o ensaio 14 (55 °C, 120 min, 25% de etnaol, e 20
696 mL/g) apresentou o valor máximo de 1.278,97 µM ET/g, e o menor valor foi observado
697 no ensaio 23 (45°C, 90 min, 50% de etanol, 5 mL/g), sendo de 286,41µM ET/g de
698 biofloco. A Tabela 8 mostra os efeitos e os *p*-valores inferiores a 0,05 que indicam o
699 efeito significativo das variáveis independentes (fatores estudados) em relação as
700 respectivas variáveis respostas. Os dados mostram que nenhum coeficiente quadrático

701 foi significativo ($p>0,05$), apenas coeficientes lineares tiveram significância ($p<0,05$) no
 702 modelo estimado. A concentração de álcool e a concentração de solvente apresentaram
 703 valores significativos ($p<0,05$) para ambas as variáveis resposta (Polifenóis totais e
 704 Capacidade antioxidante contra radical DPPH) apresentando o mesmo efeito para as
 705 duas (efeito negativo para concentração do álcool, e efeito positivo para a concentração
 706 de solvente), enquanto as variáveis temperatura e tempo (ambos com efeito positivo)
 707 foram apenas significativo para o conteúdo de polifenóis totais. Houve interações
 708 significativas entre alguns fatores para as duas variáveis respostas. A interação entre a
 709 variável temperatura e a concentração do etanol, e entre a variável tempo e concentração
 710 do etanol foram significativas para polifenóis totais, e interação entre concentração do
 711 etanol e a relação solvente – soluto, foi significativo para atividade contra o radical
 712 DPPH.

713 A análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 9 mostrou que os
 714 modelos de regressão múltipla foram significativos ($p<0,05$) tanto para o conteúdo total
 715 de polifenóis como para atividade contra o radical DPPH. A análise de falta de ajuste
 716 foi não significativa ($p>0,05$) e mostra que os dois modelos se ajustaram bem aos dados
 717 experimentais obtidos. As Figuras 1 e 2 apresentam as dispersões dos dados observados
 718 em relação aos preditos, e demonstra graficamente os coeficientes de determinação (R^2),
 719 que foram de 0,98 e 0,76 para o conteúdo total de polifenóis e atividade antioxidante
 720 contra o radical DPPH, respectivamente.

721

722 **Tabela 7: Condições e respostas medidas usadas no projeto experimental para metodologia de superfície**
 723 **reposta (MSR).**

Ensaio	Variáveis independentes				Variáveis Respostas	
	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Concentração etanol (%)	Relação solvente – soluto (ml/g)	Polifenóis (µg EAG/g)	DPPH (µM ET/g)
1	35	60	25	10	887,86	565,13
2	35	60	25	20	1.070,95	1.002,05
3	35	60	75	10	562,86	516,41
4	35	60	75	20	747,14	722,56
5	35	120	25	10	1.087,86	568,97
6	35	120	25	20	1.125,71	1.071,28
7	35	120	75	10	470,00	412,56
8	35	120	75	20	675,71	566,15
9	55	60	25	10	1.549,76	557,44
10	55	60	25	20	1.540,00	1.073,85

11	55	60	75	10	748,57	343,33
12	55	60	75	20	897,14	609,74
13	55	120	25	10	1.723,57	580,51
14	55	120	25	20	1.918,57	1.278,97
15	55	120	75	10	741,43	411,28
16	55	120	75	20	825,71	984,10
17	25	90	50	15	588,93	584,23
18	65	90	50	15	1.449,64	630,39
19	45	30	50	15	988,93	740,00
20	45	150	50	15	1.042,50	780,39
21	45	90	0	15	1.808,57	828,46
22	45	90	100	15	303,21	757,31
23	45	90	50	5	790,36	286,41
24	45	90	50	25	1.085,71	883,97
25	45	90	50	15	1.017,50	691,92
26	45	90	50	15	1.090,71	709,23
27	45	90	50	15	1.026,43	640,00
28	45	90	50	15	1.067,50	807,31
29	45	90	50	15	1.026,43	715,00

724

725 **Tabela 8: Regressão com efeitos e interações dos modelos de regressão múltipla previstos para polifenóis total**
726 **e atividade contra radical DPPH.**

Modelo Polifenóis	Fatores	Efeito	Erro padrão	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
	X ₀	1028,83	10,96	93,85	<0,0001
	X ₁	419,84	24,10	17,42	<0,0001
	X ₂	55,95	24,10	2,32	0,0299
	X ₃	-687,20	24,10	-28,51	<0,0001
	X ₄	134,98	24,10	5,60	<0,0001
	X ₁₃	-225,30	29,52	-7,63	<0,0001
	X ₂₃	-131,25	29,52	-4,45	0,0002
Modelo DPPH					
	X ₀	700,65	21,66	32,35	<0,0001
	X ₃	-189,53	47,62	-3,98	0,0005
	X ₄	379,02	47,62	7,96	<0,0001
	X ₃₄	-119,39	58,33	-2,05	0,0500

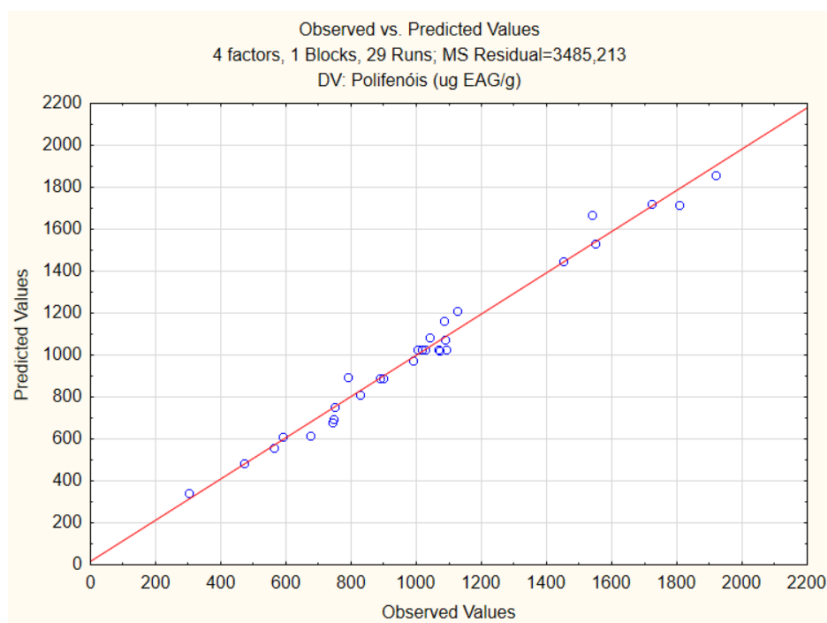
727

728 Tabela 9: Análise de variância (ANOVA) dos modelos de regressão múltipla para polifenóis e atividade contra
 729 radical DPPH.

Fonte de variação	SQ	GL	QM	valor <i>F</i>	valor <i>p</i>
Polifenóis ($R^2=0,98$)					
Regressão	4.131.548	7	616.364	145,457	<0,0001
Residuais	66.361	22	4.237		
Falta de ajuste	59.643	17	3.509	0,5224	0,8553
Erro puro	6.716	5	6.716		
Total	4.380.908	29			
DPPH ($R^2=0,76$)					
Regressão	1.134.948	3	378.316	28,1138	<0,0001
Residuais	349.871	26	13.457		
Falta de ajuste	135.072	5	27.015	2,6411	0,0528
Erro puro	214.799	21	10.229		
Total	1.484.819	29			

730

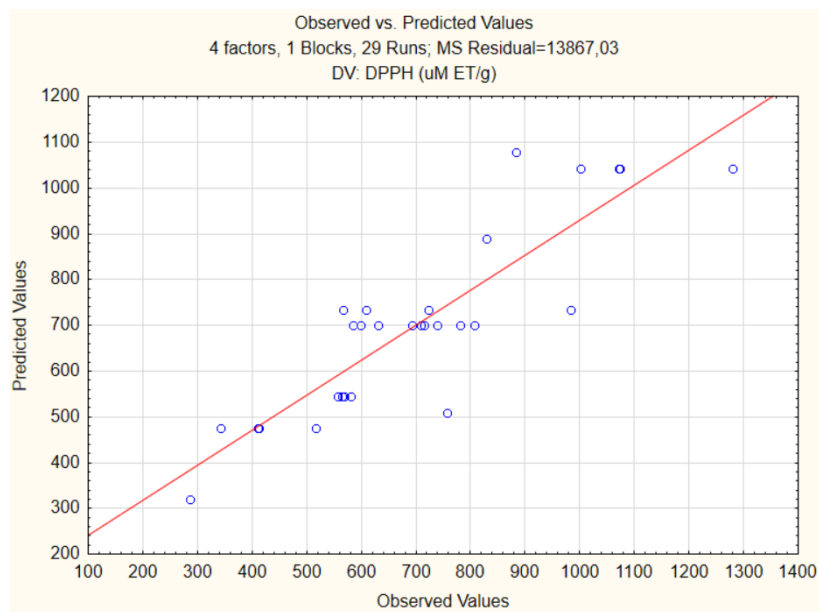
731



732

733

Figura 1: Valores preditos e observados para polifenóis totais.



734

735

Figura 2: Valores preditos e observados para atividade contra radical DPPH.

736 **Efeitos e superfície de resposta para análise de conteúdo total de polifenóis**

737 O modelo obtido com base nos termos que apresentaram significância estatística
738 ($p < 0,05$) foi o seguinte:

$$739 \text{ Polifenóis } (\mu\text{g/g}) = 1.028,83 + 419,8 X_1 + 55,95 X_2 - 687,2 X_3 + 134,98 X_4 - 225,3 X_{13} \\ 740 - 131,25 X_{23}$$

741 Onde o fator representado pela variável X_1 é a temperatura, X_2 o tempo, X_3 a
742 concentração do etanol, X_4 a relação solvente – soluto, X_{13} a interação entre temperatura
743 e concentração do etanol e X_{23} a interação entre tempo e concentração do etanol.

744 O modelo gerado demonstra uma relação linear entre o conteúdo total de
745 polifenóis e as variáveis independentes utilizadas no processo de extração, com um
746 coeficiente de determinação muito elevado ($R^2 = 0,98$). Os resultados das interações
747 significativas entre os fatores utilizados no processo de otimização dos extratos de
748 bioflocos foram plotados em gráficos de superfície resposta tridimensionais apresentados
749 na Figura 3. Na Figura 3a pode ser observada a interação entre a temperatura e a
750 concentração de álcool em função da quantidade de polifenóis totais, demonstrando um
751 efeito positivo na extração de polifenóis com o aumento da temperatura, e o inverso
752 para a concentração do etanol no solvente. Os melhores resultados foram observados
753 para a temperatura de 65 °C junto com o solvente contendo apenas água (0% de etanol).

754 A Figura 3b mostra a interação entre o tempo e a concentração do álcool na extração de
755 polifenóis, com efeito positivo para o tempo, e efeito negativo para a concentração de
756 álcool. Os melhores resultados foram observados para o tempo de 120 minutos e
757 utilizando somente água como solvente.

758 Os maiores valores para polifenóis na maior temperatura podem ser devido ao
759 efeito desta variável em propriedades que podem melhorar o rendimento da extração
760 como viscosidade, difusividade, solubilidade e tensão superficial com o consequente
761 aumento da solubilidade do soluto e do coeficiente de difusão (Boonkird *et al.*, 2008;
762 Wang *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2015; Kumar & Sharma, 2017). Esse
763 aumento também contribui com a liberação dos polifenóis associados com a quebra de
764 constituintes celulares, devido ao aumento da permeabilidade da membrana celular
765 possibilitando a penetração do solvente (Wan *et al.*, 2011). Além disso, a liberação de
766 componentes, ligado com o aumento da temperatura pode ainda mais reduzir as chances
767 desses polifenóis coagularem com lipoproteínas (Wang *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 2011;
768 Kumar & Sharma, 2017). O aumento da temperatura também leva a um acréscimo no
769 número de bolhas de cavitação formadas e ao aumento nas taxas de transferência de
770 massa (Rostagno & Barroso, 2003). Park & Lee (2020) em extratos de chá de omija
771 demonstraram que em temperaturas de torrefação (120 a 180°C) é possível fazer
772 extração destes compostos fenólicos, mostrando sua estabilidade a temperaturas bem
773 elevadas.

774 No entanto alguns trabalhos demonstram que o aumento da temperatura é
775 eficiente para a extração destes compostos ativos até um determinado nível, como
776 relatado em extrato de microalga do gênero *Tetraselmis*, onde o incremento do
777 rendimento foi observado à medida que a temperatura foi aumentada da faixa de 50 para
778 80°C, e queda no rendimento a partir desse valor (Gam *et al.*, 2020). O aumento da
779 temperatura até 65 °C levou a um aumento significativo da concentração de polifenóis
780 de extratos de farelo de centeio, porém houve decréscimo com a temperatura de 75°C
781 (Iftikhar *et al.*, 2020). Isto pode estar relacionado com a possibilidade destes compostos
782 fenólicos em altas temperaturas sofrerem degradação (Chen *et al.*, 2015; Ghitescu *et al.*,
783 2015; Kumar & Sharma, 2017).

784 O conteúdo fenólico total de todas as amostras aumentou de forma constante em
785 função do tempo. A extensão do tempo da extração com o ultrassom pode resultar em

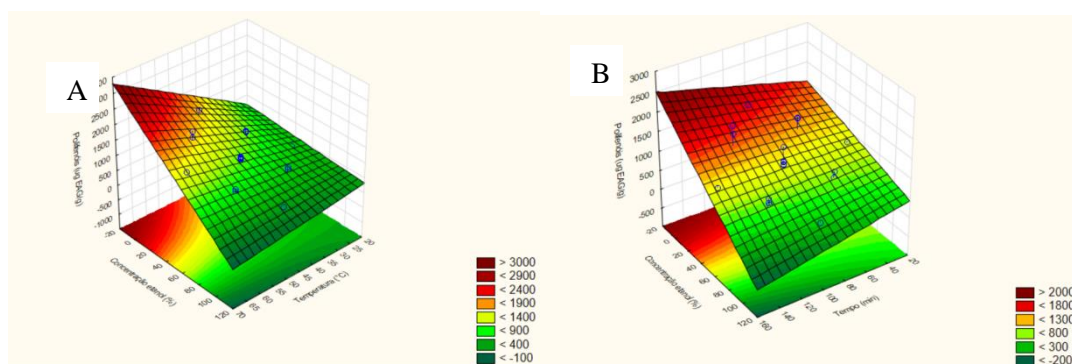
786 um maior rendimento do extrato (Şahin & Şamlı, 2013). A dissolução dos constituintes
787 solúveis ocorre primeiro em ou próximo às superfícies das partículas da amostra
788 (chamadas de lavagem), e segundo, na transferência de massa de constituintes solúveis
789 do material na solução por difusão, sendo este último estágio mais lento que o anterior e
790 é responsável por limitar a taxa do processo de extração, por isso o tempo pode ser
791 importante no processo de extração (Veličković *et al.*, 2006; Şahin e Şamlı, 2013)
792 Porém alguns trabalhos relatam diferentes tempos ótimos de extração desde curtos
793 como 20 minutos a mais longos como 120 minutos (Şahin *et al.*, 2013; Wang *et al.*,
794 2013; Ghitescu *et al.*, 2015; Gam *et al.*, 2020). Diferente dos dados obtidos nesse
795 trabalho, alguns estudos indicam que a superexposição ao tratamento com ultrassom por
796 maior tempo de extração associadas às temperaturas mais elevadas podem causar
797 degradação dos compostos bioativos. (Şahin & Şamlı, 2013; Ghitescu *et al.*, 2015).

798 A melhor eficiência de extração com adição de água ao solvente pode estar
799 associada à polaridade relativa desses compostos e ao aumento da propagação de ondas
800 ultrassônicas em solventes aquosos, as mudanças na proporção de água para etanol
801 resultam em uma mudança na polaridade do solvente e aumentam a extração de
802 materiais com uma polaridade específica (Rostagno & Barroso, 2003; Gam *et al.*,
803 2020). Alguns estudos mostram efeitos contrários ao aumento da concentração do
804 etanol, a exemplo de extratos em casca de madeira de abeto, onde o aumento da
805 concentração de etanol melhorou o rendimento de polifenóis totais, aumentando de 8,81
806 para 12,43 mg EAG/g com um aumento simultâneo da concentração de etanol de 50 a
807 70% (Ghitescu *et al.*, 2015). Em trabalho com extrato de folha de oliveira, a melhor
808 extração foi com 50% de etanol, embora a água pura seja o solvente mais polar de
809 todos, o solvente mais polar não produziu os melhores resultados na extração de
810 polifenóis (Şahin e Şamlı, 2013). Este fenômeno foi atribuído a maior viscosidade da
811 água do que a dos outros solventes, no qual diminuiu com a inclusão do etanol,
812 acelerando a transferência de massa entre líquido e sólido e aumentando a solubilidade
813 dos compostos polifenólicos polares (Şahin & Şamlı, 2013; Ghitescu *et al.*, 2015).

814 Em extratos de farelo de centeio o aumento da proporção de solvente para soluto
815 de 20 mL/g para 40 mL/g melhorou a eficiência de extração, porém diminuiu com o
816 aumento desse valor (Iftikhar *et al.*, 2020). Em estudo com Arônia seca (*Aronia*
817 *melanocarpa*) também foi observado melhores resultados de extração de polifenóis para

818 um aumento na relação de solvente – soluto, com melhor desempenho na relação de
 819 1:30 (peso/volume), próxima da melhor resposta neste trabalho (d’Alessandro *et al.*,
 820 2012; Ćujić *et al.*, 2016). Como o aumento da quantidade de solvente está diretamente
 821 relacionado com os princípios de transferência de massa, uma vez que o gradiente de
 822 concentração que é a força motriz é suposto ser maior quando se usa uma proporção
 823 menor de sólido para solvente, isto levaria a uma maior difusão, aumentando a
 824 eficiência de extração (Şahin & Şamlı, 2013).

825



826

827 **Figura 3:** Gráficos de superfície de resposta para polifenóis totais como uma função de interações
 828 significativas entre os fatores: (A) Concentração de etanol e temperatura; (B) Concentração de etanol e tempo
 829 Os valores dos outros fatores foram mantidos nos pontos centrais.

830

831 **Efeitos e superfície resposta para análise de atividade antioxidante contra o radical** 832 **DPPH**

833 O modelo obtido com base nos termos que apresentaram significância estatística
 834 ($p < 0,05$) foi o seguinte:

$$835 \text{ DPPH } (\mu\text{M/g}) = 700,65 - 189,53 X_3 + 379,02 X_4 - 119,39 X_{34}$$

836 Onde o fator representado pela variável X_3 é a concentração do etanol, X_4 é a relação
 837 solvente – soluto e X_{34} é a interação entre a concentração do etanol e a relação solvente
 838 – soluto.

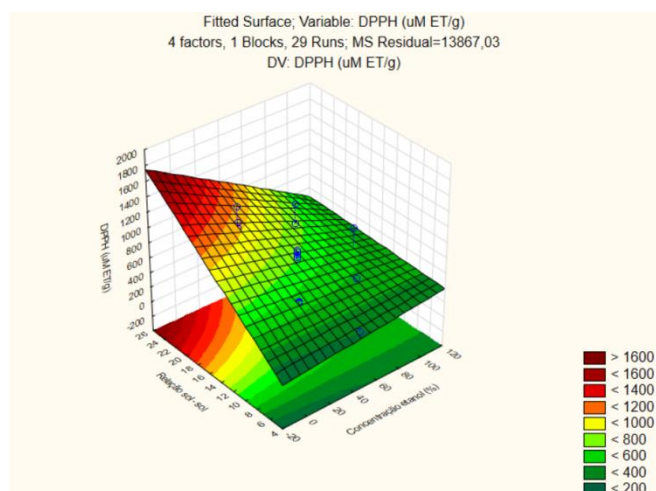
839 O modelo gerado apresentou um coeficiente de determinação satisfatório ($R^2 =$
 840 0.76) entre a atividade contra o radical DPPH e as variáveis independentes utilizadas no
 841 processo de extração. O resultado da interação significativa entre os fatores dos extratos

842 de bioflocos foram plotados em gráficos de superfície reposta tridimensionais
843 apresentados na Figura 4.

844 O gráfico gerado na Figura 4 apresenta a interação entre a concentração do
845 etanol e a relação solvente – soluto, expressando um efeito negativo para essa interação,
846 com maiores valores estimados para concentração 0% de etanol juntamente da relação
847 de solvente – soluto de 25 mL/g. Em concordância com os dados deste trabalho, em
848 extratos de melão de beterraba houve aumento da capacidade antioxidante com a
849 diminuição da concentração de etanol que foi diretamente relacionada com a melhor
850 extração de antocianinas (Chen & Yu, 2015). No entanto diferentes trabalhos mostram
851 diferentes atividades para diferentes concentrações de álcool no solvente. Em microalga
852 do gênero *Tetraselmis* foi observado o aumento do rendimento de extração com o
853 aumento da concentração do etanol até 58,3%, e depois disso com o acréscimo do
854 álcool diminuiu o rendimento (Gam *et al.*, 2020). Em extrato do vegetal Taro
855 (*Colocasia esculenta*) foi observado que a atividade antioxidante frente ao radical
856 DPPH foi constante até a concentração de solvente de 60% e, posteriormente, diminuiu
857 com o aumento da concentração do álcool acima desta faixa (Kumar e Sharma, 2017).
858 Melhores valores para atividade antioxidante em extrato da fruta Açaí (*Euterpe*
859 *oleracea*) foram encontrados com o aumento da concentração do etanol até 90%, no
860 entanto houve diminuição, seguindo relação direta com a dosagem de antocianinas, mas
861 diferente para polifenóis que houve descésimo a partir de 70% (Pompeu *et al.*, 2009).
862 Em de folha de Oliveira (*Olea europaea*) os extratos de etanol puro apresentaram maior
863 capacidade antioxidante, por outro lado, os extratos de água pura exibiram capacidade
864 antioxidante relativamente menor (Şahin & Şamlı, 2013).

865 Com extrações de resíduos de cervejaria, realizados através de três etapas
866 consecutivas de extração, com proporções de solubilização de 1:0,25 à 1:10 (g/mL), nas
867 mais baixas relação entre o solvente e a matéria prima processo de extração foi menos
868 eficiente, onde mesmos com os três processos os valores foram inferiores em relação a
869 apenas um único processo de extração das maiores relações de diluição, demonstrando
870 um efeito positivo no aumento no volume sobre a eficiência de extração de compostos
871 bioativos, e tendência semelhante foi observada para todas as atividades antioxidantes
872 expressas em EC50 (Barbosa-Pereira *et al.*, 2014). A capacidade antioxidante em
873 extratos de casca de Manga (*Mangifera pajang*) diminuiu com o aumento do fator de

874 diluição, alta atividade antioxidante foi evidente quando a proporção líquido-sólido era
 875 baixa (20–30 mL/g, próximos do nível de maior atividade para este fator no presente
 876 trabalho) (Prasad *et al.*, 2011). É importante estudar a relevância deste fator em
 877 processos de otimização, pois o aumento da proporção do solvente pode aumentar a
 878 chance de componentes antioxidantes entrarem em contato com o solvente melhorando
 879 a extração ou acarretar uma diluição destes na solução extratora e resultar em diferentes
 880 respostas de atividade antioxidante (Prasad *et al.*, 2011).



881

882 **Figura 4: Gráfico de superfície de atividade antioxidante contra radical DPPH como uma função de interações**
 883 **significativas entre os fatores: Concentração de etanol e relação solvente – soluto. Os valores dos outros fatores**
 884 **foram mantidos nos pontos centrais.**

885

886 **Análise econômica**

887 Os modelos obtidos com base nos termos que apresentaram significância
 888 estatística ($p < 0,05$) foram os seguintes:

889
$$\text{COM} = 153982,08 - 129496,84 X_2 + 56245,08 X_2^2 + 151361,63 X_3 - 53163 X_{23}$$

890 Onde o fator representado pela variável X_2 é o tempo, X_3 é a concentração do
 891 etanol X_{23} é a interação entre tempo e concentração do etanol.

892
$$\text{BC} = -0,05 X_3 + 0,04$$

893 Onde o fator representado pela variável X_3 é a concentração do etanol.

894 O gráfico de dispersão da Figuras 5 e 6 demonstram a relação dos dados observados e
 895 preditos gerando um coeficiente de determinação elevado ($R^2 = 0.97$) para o COM e
 896 bom ($R^2 = 0.73$) para BC. Dentro dos 29 tratamentos (Tabela 10), o COM do ensaio 19

897 (45°C, 30 min, 50% de etnaol,15 mL/g) apresentou maior custos no valor de 447.417,36
 898 USD, e o menor COM foi do ensaio 21 (45°C, 90 min, 0% de etanol, 15 mL/g) com
 899 18.098,34 USD. A melhor relação benefício custo foi do ensaio 21, devido ao uso
 900 apenas da água como solvente, e a pior relação foi a do ensaio 22, sendo o álcool
 901 responsável pela diminuição da relação. Os valores da relação benefício custo mostram
 902 que os ensaios de extração utilizados no processo de otimização são economicamente
 903 inviáveis, todos os valores abaixo de 1, ou seja, os lucros gerados na venda do produto
 904 não superam os gastos gerados na etapa de extração, e isso está associado a baixa
 905 quantidade de polifenóis extraída do bioflocos em relação ao investimento para extraí-
 906 los.

907 Os resultados (Tabela 11) mostram que o fator tempo teve um efeito linear
 908 negativo e um efeito quadrático positivo, e o fator concentração do etanol teve um efeito
 909 linear positivo para o COM. O fator concentração do etanol teve um efeito linear
 910 negativo e um efeito quadrático positivo para BC. Houve interação entre a variável
 911 tempo e concentração do etanol para o COM (Figura 7)

912 A Tabela 12 apresenta os percentuais relacionados a todos os custos principais,
 913 FCI COL, CUT, CWT, CRM. Foi possível notar que o CRM foi o principal custo no
 914 processo de extração para todos os ensaios com excessão do ensaio 21, no qual o maior
 915 percentual de custo foi o COL, isso é devido à utilização de água como solvente, no que
 916 difere dos outros ensaios que utilizaram o álcool como solvente, já que os únicos
 917 insumos considerados no CRM foram o álcool e a água, e o bioflocos foi desprezado por
 918 ser um efluente.

919 **Tabela 10: Condições e respostas medidas usadas no projeto experimental para metodologia de superfície**
 920 **resposta (MSR) para o custo de fabricação (COM) e relação benefício custo (BC).**

Ensaio	Variáveis independentes				Avaliação econômica		
	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Concentração etanol (%)	Relação solvente – sólido (mL/g)	COM (USD/ano)	Lucro Bruto (USD/ano)	BC
1	35	60	25	10	125.391,23	3880,00	0,03
2	35	60	25	20	125.391,23	2340,07	0,02
3	35	60	75	10	338.044,63	2459,73	0,01
4	35	60	75	20	338.044,63	1632,53	0,00
5	35	120	25	10	70.640,54	2377,01	0,03
6	35	120	25	20	70.640,54	1229,86	0,02
7	35	120	75	10	176.967,24	1026,97	0,01
8	35	120	75	20	176.967,24	738,23	0,00

9	55	60	25	10	125.575,30	6772,57	0,05
10	55	60	25	20	125.575,30	3364,96	0,03
11	55	60	75	10	338.228,70	3271,31	0,01
12	55	60	75	20	338.228,70	1960,29	0,01
13	55	120	25	10	70.824,62	3766,07	0,05
14	55	120	25	20	70.824,62	2096,07	0,03
15	55	120	75	10	177.151,32	1620,05	0,01
16	55	120	75	20	177.151,32	902,11	0,01
17	25	90	50	15	159.683,20	1143,85	0,01
18	65	90	50	15	159.662,49	2815,57	0,02
19	45	30	50	15	447.638,03	5762,25	0,01
20	45	150	50	15	102.313,12	1214,88	0,01
21	45	90	0	15	18.098,34	3512,71	0,19
22	45	90	100	15	288.307,93	588,92	0,00
23	45	90	50	5	159.867,27	4605,22	0,03
24	45	90	50	25	159.867,27	1265,24	0,01
25	45	90	50	15	159.867,27	1976,24	0,01
26	45	90	50	15	159.867,27	2118,44	0,01
27	45	90	50	15	159.867,27	1993,59	0,01
28	45	90	50	15	159.867,27	1948,50	0,01
29	45	90	50	15	159.867,27	2073,36	0,01

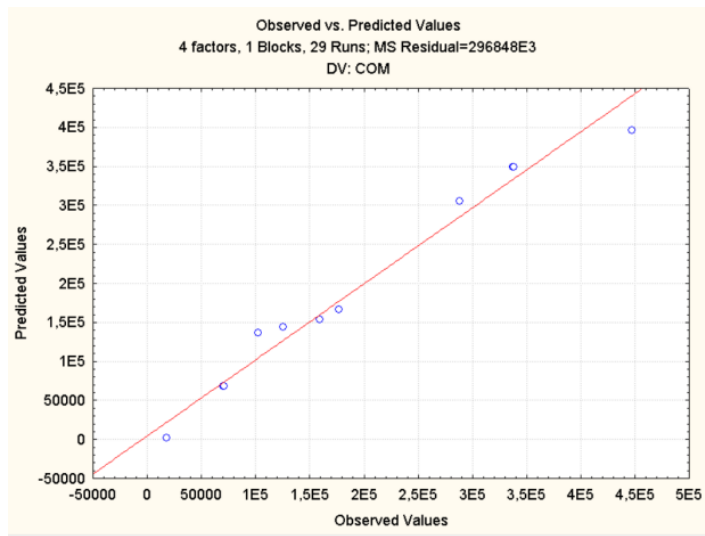
921

922 **Tabela 11: Estimativa dos modelos de regressão múltipla previstos para o custo de fabricação (COM) e relação**
923 **benefício custo (BC).**

Modelo COM	Fatores	Efeito	Erro padrão	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
	X ₀	153982,08	4178,93	36,85	<0,0001
	X ₂	-129496,84	7034,18	-18,41	<0,0001
	X ₂ ²	56245,08	6496,40	8,66	<0,0001
	X ₃	151361,63	7034,18	21,52	<0,0001
	X ₂₃	-53163,35	8615,08	-6,17	<0,0001
<hr/>					
Modelo BC					
	X ₃	-0,05	0,0079	-6,31	<0,0001
	X ₃ ²	0,04	0,0073	5,40	<0,0001

924

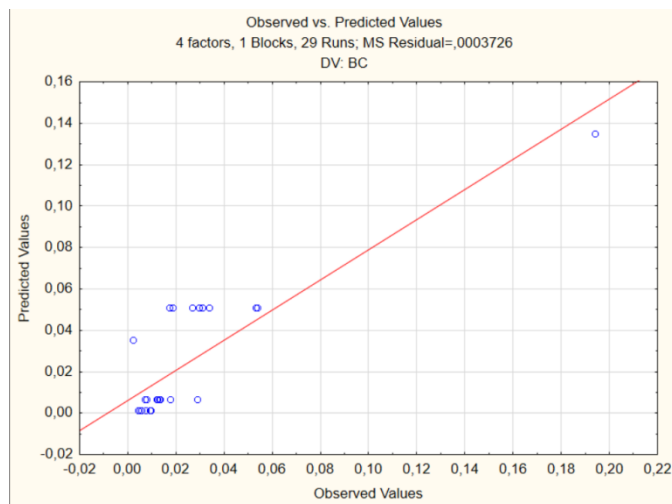
925



926

Figura 5: Valores preditos e observados para o COM.

927

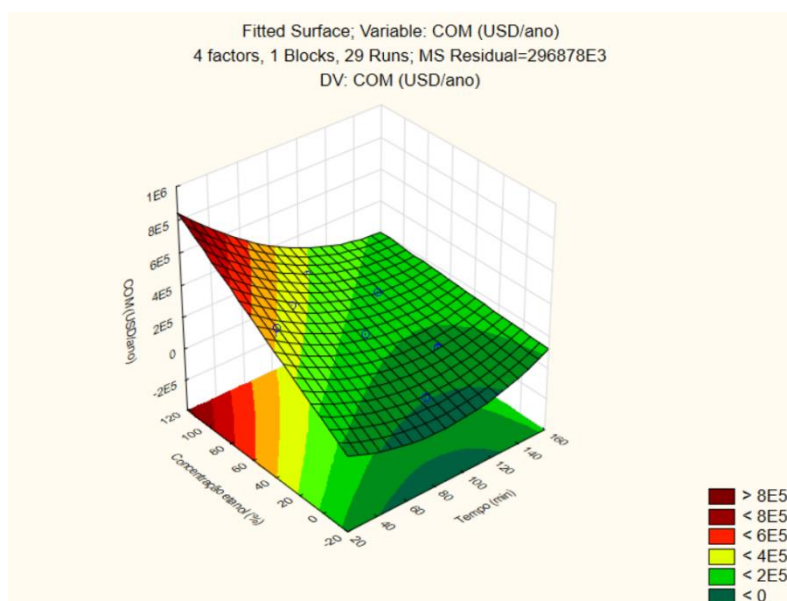


928

Figura 6: Valores preditos e observados para a BC.

929

930



931

932 **Figura 7:** Gráficos de superfície de resposta para o custo de fabricação (COM) como uma função de interações
 933 **significativas** entre os fatores: concentração de etanol e tempo de extração (Outros fatores foram mantidos nos
 934 **pontos centrais).**

935

936 **Tabela 12:** Percentual dos componentes em relação ao custo de fabricação (COM).

Ensaio	Componentes da COM				
	FCI	COL	CUT	CWT	CRM
1	5%	8%	18%	0%	69,67%
2	5%	8%	18%	0%	69,67%
3	2%	3%	18%	0%	77,35%
4	2%	3%	18%	0%	77,35%
5	8%	13%	17%	0%	61,92%
6	8%	13%	17%	0%	61,92%
7	3%	5%	17%	0%	73,92%
8	3%	5%	17%	0%	73,92%
9	5%	8%	18%	0%	69,56%
10	5%	8%	18%	0%	69,56%
11	2%	3%	18%	0%	77,31%
12	2%	3%	18%	0%	77,31%
13	8%	13%	17%	0%	61,75%
14	8%	13%	17%	0%	61,75%
15	3%	5%	18%	0%	73,84%
16	3%	5%	18%	0%	73,84%
17	4%	6%	18%	0%	72,85%
18	4%	6%	18%	0%	72,86%

19	1%	2%	19%	0%	77,89%
20	6%	9%	17%	0%	68,27%
21	33%	53%	14%	0%	0,56%
22	1%	3%	19%	0%	80,61%
23	4%	6%	18%	0%	72,77%
24	4%	6%	18%	0%	72,77%
25	4%	6%	18%	0%	72,77%
26	4%	6%	18%	0%	72,77%
27	4%	6%	18%	0%	72,77%
28	4%	6%	18%	0%	72,77%
29	4%	6%	18%	0%	72,77%

937

938 Na Figura 7 é possível observar que o valor do COM aumenta com a diminuição
939 do tempo de extração junto ao aumento do álcool etílico como solvente. O menor tempo
940 de extração implica no aumento do número de extrações por dia de produção, e em
941 paralelo a necessidade de um volume maior de solvente, aumentando o COM com o
942 aumento de utilização de etanol. Quando se usa apenas água como solvente para
943 extração o comportamento do COM é diferente, o maior custo foi com o COL seguido
944 do FCI.

945 O FCI está diretamente relacionado ao gasto com matéria-prima (USD/ano) e ao
946 total de extratos obtidos (kg/ano) ao final do processo, portanto, quando o tempo de
947 extração é maior, menos lotes e menores quantidades de extratos são obtidos, levando a
948 um maior FCI. Por outro lado, o CRM aumenta com tempos de extração mais curtos
949 devido ao acréscimo do número de extrações realizadas por ano de produção comparado
950 a tempos maiores de extração, exigindo uma quantidade maior de matéria prima (Santos
951 *et al.*, 2012).

952 As maiores concentrações de etanol levaram ao aumento dos custos, já que a
953 preço para obtenção é muito maior do que a da água. Em extrações de polpa de Jussara
954 (*Euterpe edulis*), a concentração de etanol na água afetou notavelmente os custos de
955 produção, mesmo com o álcool 30% obtendo o maior rendimento de extração, os
956 extratos produzidos com soluções sem etanol proporcionaram o menor COM, seja em
957 leite agitado, ou por ultrassom (Vieira *et al.*, 2013).

958 Além dos custos com o aumento da quantidade de solvente utilizado, a maior
959 utilização de álcool também pode ocasionar uma redução do potencial de recuperação
960 do solvente, o que implica custos mais elevados e maior toxicidade (Tanase *et al.*,

961 2019). A menor utilização de etanol também traz uma vantagem importante, por ser
962 menos danoso do ponto de vista ambiental (Vauchel *et al.*, 2018). Mas também é
963 importante avaliar as mudanças dos efeitos negativos no impacto ambiental com o
964 ganho no rendimento de extração com o uso de diferentes solventes como o etanol e a
965 água nas diferentes categorias de impactos (Papadaki *et al.*, 2017; Vauchel *et al.*, 2018).

966 A relação solvente – soluto não mostrou efeito significativo nos custos, mas isso
967 pode ter sido devido ao valor por aquisição atribuído ao biofloco ser desprezado por ser
968 considerado um resíduo, não influenciando em diferentes valores no ensaio de acordo
969 com a quantidade de massa utilizada para realizar as extrações. O aumento nesta
970 proporção pode gerar uma economia de utilização de matéria prima para obtenção
971 destes compostos, ou seja, a um mesmo volume necessita-se a utilização de menos
972 material para obter a mesma quantidade de polifenóis totais, diminuindo o custo de
973 extração (Ćujić *et al.*, 2016). O aumento da relação volume de solvente e massa causou
974 uma oscilação nos custos de fabricação em extratos de polpa de jussara, este
975 comportamento pode ser explicado pelo aumento da relação ter ocorrido
976 concomitantemente ao aumento do volume do solvente e diminuição da massa da polpa,
977 caracterizando um efeito duplo, diminuindo o custo com a polpa (1,80 USD/kg) e
978 aumentando o custo com a mistura de solvente etanol/água (1:1) (0,85 USD/kg de
979 etanol mais 0,04 USD/kg de água), que pode ser atribuível à variação do custo de
980 fabricação (Vieira *et al.*, 2013).

981 A adoção de economia circular pode ser uma estratégia para melhorar o
982 benefício custo, integrando os extratos gerados para obter ganhos no sistema de
983 produção aquícola (Jahazi *et al.*, 2020). O uso de polifenóis no cultivo de Tilápia
984 (*Oreochromis niloticus*) promoveu o aumento da taxa de crescimento, com ação
985 imunestimulante, antioxidante e antimicrobiano, alternativa ao uso de antimicrobianos
986 contra *Streptococcus agalactiae* (Van Doan *et al.*, 2020). Em cultivo de camarão branco
987 do pacífico *L. vannamei* a aplicação de polifenóis possibilitou efeito protetivo contra
988 diminuição de nutrientes básicos no animal, alteração da composição proteica, e danos
989 causado ao tecido muscular, induzidos por aflatoxina B1, toxina produzida por
990 *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, comumente encontrada em rações (Huang
991 *et al.*, 2021).

992 A suplementação com polifenóis em cultivo do peixe *Larimichthys crocea*
993 promoveu melhora na atividade antioxidante, diminuição do conteúdo de
994 malondialdeído, aumento da atividade da SOD, e regulação de genes participantes da
995 oxidação de lipídios como CPT1, PPAR α e ACO, reduzindo a deposição acúmulo
996 anormal de lipídios no fígado, problemas gerados na utilização de dietas ricas em
997 lipídeos, que prejudica à saúde e à produção de peixes (Ji *et al.*, 2018). Com alevinos de
998 carpa comum a adição de polifenóis possibilitou melhora no peso final, taxa de
999 crescimento específico e taxa de conversão alimentar, parâmetros e estatus antioxidante
1000 (Jahazi *et al.*, 2020). Desta forma estudos futuros deveriam considerar a interação entre
1001 os ganhos obtidos pelo processo de extração desses compostos fenólicos, com o
1002 benefício do rendimento zootécnico na área da aquicultura, integrando uma cadeia de
1003 benefícios ao sistema de produção.

1004 A utilização de resíduo menos heterotrófico e mais fotoautotrófico gerados em
1005 sistemas de produção em bioflocos com maiores exposição à luz poder ser uma boa
1006 alternativa para melhorar a relação benefício custo. Essa luminosidade pode influenciar
1007 no desenvolvimento de microalgas dentro do sistema (Ju *et al.*, 2008), e são poderosas
1008 fontes de compostos fenólicos (Levasseu *et al.*, 2020). A inclusão das microalgas
1009 *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, foi significativa na melhora da resposta
1010 imune da tilápia, e na qualidade de água (Jung *et al.*, 2017). Camarões cultivados em
1011 sistemas com bioflocos submetidos a exposição à luz demonstraram maior ganho de peso
1012 e biomassa ao final do cultivo do que os cultivados em sistema de bioflocos com menos
1013 luminosidade, e o aumento do tempo de exposição da luz seguiu com o aumento da
1014 clorofila dentro do sistema de cultivo (Baloi *et al.*, 2013)

1015 **Conclusão**

1016 O bioflocos é uma fonte residual de polifenóis, e a metodologia de superfície de
1017 resposta se mostrou uma ferramenta eficaz para otimizar a extração em bioflocos com o
1018 método de extração assistida por ultrassom. As condições ótimas para a extração de
1019 compostos foram determinadas diante dos fatores estudados, onde temperatura, tempo,
1020 concentração do álcool, e relação solvente – soluto foram condições que influenciaram
1021 na extração de polifenóis, enquanto a concentração do álcool e relação sólido-solvente
1022 foram determinantes para a atividade antioxidante. A análise econômica mostrou efeito

1023 importante nos tempos de extrações junto com a concentração do álcool nos custos de
1024 produção. A relação custo benefício mostrou impacto negativo na utilização deste
1025 resíduo no processo de produção. No entanto novos estudos devem ser realizados para
1026 determinar os efeitos desses compostos bioativos na melhoria da produção animal, e no
1027 ganho financeiro e ambiental pela utilização dos polifenóis extraídos deste resíduo, e em
1028 diferentes tipos de bioflocos.

1029 **Agradecimentos**

1030

1031 Robson Matheus Marreiro Gomes foi financiado por uma bolsa de mestrado da
1032 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Fabio
1033 Roselet é pós-doutorando da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
1034 Superior – CAPES e José Maria Monserrat é pesquisador do Conselho Nacional de
1035 Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

1036 **Referência**

1037

1038 Alía, M., Ramos, S., Mateos, R., Granado-Serrano, A. B., Bravo, L., & Goya, L. (2006).
1039 Quercetin protects human hepatoma HepG2 against oxidative stress induced by tert-
1040 butyl hydroperoxide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 212(2), 110-118.
1041 <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.07.014>

1042 Anand, P. S., Kohli, M. P. S., Kumar, S., Sundaray, J. K., Roy, S. D., Venkateshwarlu,
1043 G., ... & Pailan, G. H. (2014). Effect of dietary supplementation of biofloc on growth
1044 performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 418,
1045 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.051>

1046 Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
1047 systems. *Aquaculture* 176, 227–235.
1048 [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)

1049 Baloi, M., Arantes, R., Schweitzer, R., Magnotti, C., & Vinatea, L. (2013). Performance
1050 of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying

1051 levels of light exposure. *Aquacultural Engineering*, 52, 39-44.
1052 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.07.003>

1053 Bansal, S., Syan, N., Mathur, P., & Choudhary, S. (2012). Pharmacological profile of
1054 green tea and its polyphenols: a review. *Medicinal Chemistry Research*, 21(11), 3347-
1055 3360.
1056 <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9800-4>

1057 Barbosa-Pereira, L., Bilbao, A., Vilches, P., Angulo, I., LLuis, J., Fité, B., ... & Cruz, J.
1058 M. (2014). Brewery waste as a potential source of phenolic compounds: Optimisation of
1059 the extraction process and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. *Food*
1060 *Chemistry*, 145, 191-197.
1061 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.033>

1062 Boonkird, S., Phisalaphong, C., & Phisalaphong, M. (2008). Ultrasound-assisted
1063 extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab-and pilot-plant scale.
1064 *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(6), 1075-1079.
1065 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.04.010>

1066 Cacace, J. E., & Mazza, G. (2003). Optimization of extraction of anthocyanins from
1067 black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science*, 68(1), 240-248.
1068 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14146.x>

1069 Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of
1070 phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food*
1071 *Chemistry*, 172, 543-550.
1072 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>

1073 Companhia Estadual de Energia Elétrica (CEEE): Tarifas e Custos. Disponível em:
1074 <<https://www.ceee.com.br/a-ceee/tarifas-e-custos>>. Acesso em: 10 de dez. de 2020

1075 Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN): Sistema tarifário. Disponível
1076 em: <<https://www.corsan.com.br/sistematarifario>>. Acesso em: 10 de dez. de 2020.

1077 Conselho Regional de Química (crqmq): Responsável técnico. Disponível em:
1078 <http://www.crqmq.org.br/img/RT/RT_ResponsavelTecnico.php>. Acesso em: 10 de
1079 dez. de 2020.

1080 Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in
1081 aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356–357, 351–356.
1082 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

1083 Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016).
1084 Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as
1085 traditional technique. *Food Chemistry*, 194, 135-142.
1086 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>

1087 d’Alessandro, L. G., Kriaa, K., Nikov, I., & Dimitrov, K. (2012). Ultrasound assisted
1088 extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification*
1089 *Technology*, 93, 42-47.
1090 <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.024>

1091 da Silva Martins, Á. C., Artigas Flores, J., Porto, C., Wasielesky Junior, W., &
1092 Monserrat, J. M. (2015). Antioxidant and oxidative damage responses in different
1093 organs of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) reared in a biofloc
1094 technology system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 48(4), 279-288.
1095 <https://doi.org/10.1080/10236244.2015.1041240>

1096 Dang, T. T., Van Vuong, Q., Schreider, M. J., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A., &
1097 Scarlett, C. J. (2017). Optimisation of ultrasound-assisted extraction conditions for
1098 phenolic content and antioxidant activities of the alga *Hormosira banksii* using response
1099 surface methodology. *Journal of Applied Phycology*, 29(6), 3161-3173.

1100 FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in*
1101 *action*. Rome

1102 Gajula, D., Verghese, M., Boateng, J., Walker, L. T., Shackelford, L., Mentreddy, S. R.,
1103 & Cedric, S. (2009). Determination of total phenolics, flavonoids and antioxidant and
1104 chemopreventive potential of Basil (*Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L.).

- 1105 *International Journal of Cancer Research*, 5, 130–143.
1106 <https://doi.org/10.3923/ijcr.2009.130.143>
- 1107 Galviz-Quezada, A., Ochoa-Aristizábal, A. M., Zabala, M. E. A., Ochoa, S., & Osorio-
1108 Tobón, J. F. (2019). Valorization of iraca (*Carludovica palmata*, Ruiz & Pav.)
1109 infructescence by ultrasound-assisted extraction: An economic evaluation. *Food and*
1110 *Bioproducts Processing*, 118, 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.08.016>
- 1111 Gam, D. H., Yi Kim, S., & Kim, J. W. (2020). Optimization of ultrasound-assisted
1112 extraction condition for phenolic compounds, antioxidant activity, and epigallocatechin
1113 gallate in lipid-extracted microalgae. *Molecules*, 25(3), 454.
1114 <https://doi.org/10.3390/molecules25030454>
- 1115 Gaona, C. A. P., Poersch, L. H., Krummenauer, D., Foes, G. K., & Wasielesky, W. J.
1116 (2011). The effect of solids removal on water quality, growth and survival of
1117 *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *International Journal of*
1118 *Recirculating Aquaculture*, 12, 54-73.
1119 <http://doi.org/10.21061/ijra.v12i1.1354>
- 1120 Ge, X., Jing, L., Zhao, K., Su, C., Zhang, B., Zhang, Q., Han, L., Yu, X., Li, W. (2020).
1121 The phenolic compounds profile, quantitative analysis and antioxidant activity of four
1122 naked barley grains with different color. *Food Chemistry*, 127655.
1123 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127655>
- 1124 Ghitescu, R. E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A. M., Gilca, I. A., & Popa, V. I.
1125 (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce
1126 wood bark. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 535-541.
1127 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.07.013>
- 1128 Gómez-García, R., Campos, D. A., Oliveira, A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., &
1129 Pintado, M. (2020). A chemical valorisation of melon peels towards functional food
1130 ingredients: bioactives profile and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 127579.
1131 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127579>
- 1132 Hammi, K. M., Jdey, A., Abdelly, C., Majdoub, H., & Ksouri, R. (2015). Optimization
1133 of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus*

- 1134 lotus fruits using response surface methodology. *Food Chemistry*, 184, 80-89.
1135 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.047>
- 1136 Hargreaves, J. A. (2006). Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture.
1137 *Aquacultural Engineering*, 34(3), 344-363.
1138 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.08.009>
- 1139 Henares, M. N., Medeiros, M. V., & Camargo, A. F. (2020). Overview of strategies that
1140 contribute to the environmental sustainability of pond aquaculture: rearing systems,
1141 residue treatment, and environmental assessment tools. *Reviews in Aquaculture*, 12(1),
1142 453-470. <https://doi.org/10.1111/raq.12327>
- 1143 Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B., O'donnell, C. P., Martin-Diana,
1144 A. B., & Barry-Ryan, C. (2012). Optimization of ultrasound assisted extraction of
1145 antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface
1146 methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 582-590.
1147 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.11.001>
- 1148 Huang, Z., Sun, L., Wang, Y., Deng, Q., Fang, Z., Zhao, L., & Zhao, J. (2021).
1149 Protective mechanism of tea polyphenols against muscle quality deterioration of shrimp
1150 (*Penaeus vannamei*) induced by aflatoxin B1. *Aquaculture*, 532, 736093.
1151 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736093>
- 1152 Iftikhar, M., Zhang, H., Iftikhar, A., Raza, A., Begum, N., Tahamina, A., ... & Wang, J.
1153 (2020). Study on optimization of ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds
1154 from rye bran. *LWT – Food Science and Technology* colocar nome da revista por
1155 extenso, 134, 110243.
1156 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110243>
- 1157 Islam, M. Z., Cho, D. K., & Lee, Y. T. (2020). Bioactive compounds and antioxidant
1158 capacity of tea infusion prepared from whole and ground medicinal herb parts. *CyTA-*
1159 *Journal of Food*, 18(1), 116-121.
1160 <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1702104>
- 1161 Jahazi, M. A., Hoseinifar, S. H., Jafari, V., Hajimoradloo, A., Van Doan, H., &
1162 Paolucci, M. (2020). Dietary supplementation of polyphenols positively affects the

1163 innate immune response, oxidative status, and growth performance of common carp,
1164 *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture*, 517, 734709.
1165 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734709>

1166 Jatobá, A., Corrêa da Silva, B., Souza da Silva, J., Vieira, F.S., Mouriño, J.L.P., Seiffert,
1167 W.Q., Toledo, T.M. (2014). Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semi-intensive
1168 and biofloc systems. *Aquaculture* 432, 365-371.
1169 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.005>

1170 Ji, R., Li, Y., Li, X., Xiang, X., Li, Y., Zhu, S., ... & Ai, Q. (2018). Effects of dietary tea
1171 polyphenols on growth, biochemical and antioxidant responses, fatty acid composition
1172 and expression of lipid metabolism related genes of large yellow croaker (*Larimichthys*
1173 *crocea*). *Aquaculture Research*, 49(3), 1210-1218.
1174 <https://doi.org/10.1111/are.13574>

1175 Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., & Dominy, W. (2008). Enhanced growth effects on
1176 shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to
1177 a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 14(6), 533-543.
1178 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00559.x>

1179 Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W. C., & David Horgen, F.
1180 (2008). Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by
1181 biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture research*, 39(2), 118-
1182 133.
1183 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01856.x>

1184 Jung, J. Y., Damusaru, J. H., Park, Y., Kim, K., Seong, M., Je, H. W., Kim, S., Bai, S.
1185 C. (2017). Autotrophic biofloc technology system (ABFT) using *Chlorella vulgaris* and
1186 *Scenedesmus obliquus* positively affects performance of Nile tilapia (*Oreochromis*
1187 *niloticus*). *Algal research*, 27, 259-264.
1188 <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.09.021>

1189 Kong, K. W., Mat-Junit, S., Aminudin, N., Hassan, F. A., Ismail, A., & Aziz, A. A.
1190 (2016). Protective effects of the extracts of *Barringtonia racemosa* shoots against

1191 oxidative damage in HepG2 cells. *PeerJ*, 4, e1628.
1192 <https://doi.org/10.7717/peerj.1628>

1193 Kontogianni, V. G. (2014). Novel techniques towards the identification of different
1194 classes of polyphenols. In *Polyphenols in Plants* (pp. 159-185). Academic Press.
1195 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397934-6.00008-5>

1196 Krummenauer, D., Samocha, T., Poersch, L., Lara, G., & Wasielesky Jr, W. (2014). The
1197 reuse of water on the culture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in BFT
1198 system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(1), 3-14.
1199 <https://doi.org/10.1111/jwas.12093>

1200 Kuhn, D. D., Lawrence, A. L., Crockett, J., & Taylor, D. (2016). Evaluation of bioflocs
1201 derived from confectionary food effluent water as a replacement feed ingredient for
1202 fishmeal or soy meal for shrimp. *Aquaculture*, 454, 66-71.
1203 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.009>

1204 Kumar, V. S., Pandey, P. K., Anand, T., Bhuvaneshwari, G. R., Dhinakaran, A., &
1205 Kumar, S. (2018). Biofloc improves water, effluent quality and growth parameters of
1206 *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. *Journal of Environmental*
1207 *Management*, 215, 206-215.
1208 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.015>

1209 Kumar, V., & Sharma, H. K. (2016). Process optimization for extraction of bioactive
1210 compounds from taro (*Colocasia esculenta*), using RSM and ANFIS modeling. *Journal*
1211 *of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 704-718.
1212 <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9440-y>

1213 Lamarra, J., Rivero, S., & Pinotti, A. (2016). Design of chitosan-based nanoparticles
1214 functionalized with gallic acid. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 717-726.
1215 <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.072>

1216 Leitão, N. C. M. C. S., Prado, G. H. C., Veggi, P. C., Meireles, M. A. A., & Pereira, C.
1217 G. (2013). *Anacardium occidentale* L. leaves extraction via SFE: Global yields,
1218 extraction kinetics, mathematical modeling and economic evaluation. *The Journal of*
1219 *Supercritical Fluids*, 78, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.03.024>

- 1220 León, D., C.,M., Wasiliesky, W., j., Monserrat, J.,M.(2018). Quercetin influence in
1221 water quality and biochemical responses of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in
1222 Biofloc Technology System. *Aquaculture Research*, 49, 3569–3576.
1223 <https://doi.org/10.1111/are.13823>
- 1224 Levasseur, W., Perre, P., & Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added
1225 molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology*
1226 *advances*, 41, 107545.
1227 <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107545>
- 1228 Maicá, P. F., de Borba, M. R., & Wasielesky Jr, W. (2012). Effect of low salinity on
1229 microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone)
1230 juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquaculture*
1231 *Research*, 43(3), 361-370.
1232 <https://doi-org.ez17.periodicos.capes.gov.br/10.1111/j.1365-2109.2011.02838.x>
- 1233 Maleki, M., Khelghati, N., Alemi, F., Bazdar, M., Asemi, Z., Majidinia, M., ... &
1234 Yousefi, B. (2020). Stabilization of telomere by the antioxidant property of
1235 polyphenols: Anti-aging potential. *Life Sciences*, 118341.
1236 <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118341>
- 1237 Miquel, J. (2009). An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the
1238 involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Current Pharmaceutical*
1239 *Design*, 15(26), 3003-3026.
1240 <https://doi.org/10.2174/138161209789058110>
- 1241 Mu, G., Gao, Y., Tuo, Y., Li, H., Zhang, Y., Qian, F., & Jiang, S. (2018). Assessing and
1242 comparing antioxidant activities of lactobacilli strains by using different chemical and
1243 cellular antioxidant methods. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 10792-10806.
1244 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14989>
- 1245 Mu'azu, N. D., Haladu, S. A., Jarrah, N., Zubair, M., Essa, M. H., & Ali, S. A. (2018).
1246 Polyaspartate extraction of cadmium ions from contaminated soil: evaluation and
1247 optimization using central composite design. *Journal of Hazardous Materials*, 342, 58-
1248 68. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.08.013>

- 1249 Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2009). Response surface
1250 methodology: process and product optimization using designed experiments (3rd ed.).
1251 John Wiley & Sons.
- 1252 Ochoa, S., Durango-Zuleta, M. M., & Osorio-Tobón, J. F. (2020). Techno-economic
1253 evaluation of the extraction of anthocyanins from purple yam (*Dioscorea alata*) using
1254 ultrasound-assisted extraction and conventional extraction processes. *Food and*
1255 *Bioproducts Processing*.
1256 <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.04.007>
- 1257 Ofosu, F. K., Elahi, F., Daliri, E. B. M., Tyagi, A., Chen, X. Q., Chelliah, R., Kim, J. H.,
1258 Han, S. I., Oh, D. H. (2020). UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS characterization, antioxidant
1259 and antidiabetic properties of sorghum grains. *Food Chemistry*, 127788.
1260 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127788>
- 1261 Papadaki, S., Kyriakopoulou, K., Tzovenis, I., & Krokida, M. (2017). Environmental
1262 impact of phycocyanin recovery from *Spirulina platensis* cyanobacterium. *Innovative*
1263 *Food Science & Emerging Technologies*, 44, 217-223.
1264 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.014>
- 1265 Park, M., & Lee, K. G. (2020). Effect of roasting temperature and time on volatile
1266 compounds, total polyphenols, total flavonoids, and lignan of omija (*Schisandra*
1267 *chinensis* Baillon) fruit extract. *Food Chemistry*, 338, 127836.
1268 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127836>
- 1269 Pasrija, D., & Anandharamakrishnan, C. (2015). Techniques for extraction of green tea
1270 polyphenols: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 8(5), 935-950.
1271 <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1479-y>
- 1272 Pickens, J. M., Danaher, J. J., Sibley, J. L., Chappell, J. A., & Hanson, T. R. (2020).
1273 Integrating greenhouse cherry tomato production with biofloc tilapia production.
1274 *Horticulturae*, 6(3), 44.
1275 <https://doi.org/10.3390/horticulturae6030044>
- 1276 Pinelo, M., Ruiz-Rodríguez, A., Sineiro, J., Señoráns, F. J., Reglero, G., & Núñez, M. J.
1277 (2007). Supercritical fluid and solid-liquid extraction of phenolic antioxidants from

1278 grape pomace: a comparative study. *European Food Research and Technology*, 226(1-
1279 2), 199-205.
1280 <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0526-3>

1281 Pinho, S. M., Molinari, D., de Mello, G. L., Fitzsimmons, K. M., & Emerenciano, M. G.
1282 C. (2017). Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics
1283 production of different lettuce varieties. *Ecological Engineering*, 103, 146-153.
1284 <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.009>

1285 Pompeu, D. R., Silva, E. M., & Rogez, H. (2009). Optimisation of the solvent extraction
1286 of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface
1287 Methodology. *Bioresource Technology*, 100(23), 6076-6082.
1288 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.083>

1289 Prasad, K. N., Hassan, F. A., Yang, B., Kong, K. W., Ramanan, R. N., Azlan, A., &
1290 Ismail, A. (2011). Response surface optimisation for the extraction of phenolic
1291 compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm.
1292 peels. *Food Chemistry*, 128(4), 1121-1127.
1293 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.105>

1294 Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L., & Leffler, J. W. (2010a). Suspended solids
1295 removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a
1296 plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*,
1297 299(1-4), 89-98.
1298 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021>

1299 Ray, A. J., Seaborn, G., Leffler, J. W., Wilde, S. B., Lawson, A., & Browdy, C. L.
1300 (2010b). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive
1301 aquaculture systems and the effects of suspended solids
1302 management. *Aquaculture*, 310(1-2), 130-138.
1303 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.019>

1304 Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of
1305 soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2), 119-128.
1306 [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01184-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01184-1)

- 1307 Şahin, S., & Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-
1308 assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*,
1309 20(1), 595-602. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>
- 1310 Şahin, S., Aybastier, Ö., & Işık, E. (2013). Optimisation of ultrasonic-assisted
1311 extraction of antioxidant compounds from *Artemisia absinthium* using response surface
1312 methodology. *Food Chemistry*, 141(2), 1361-1368.
1313 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.003>
- 1314 Sandeep, K., & Nisha, S. (2012). Green tea polyphenols: versatile cosmetic ingredient.
1315 *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences*, 1(4),
1316 348-363.
- 1317 Santos, D. T., Veggi, P. C., & Meireles, M. A. A. (2012). Optimization and economic
1318 evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba
1319 skins. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 444-452.
- 1320 Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods,
1321 beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of*
1322 *Functional Foods*, 18, 820-897. [h
1323 ttps://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018](https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018)
- 1324 Shen, E. M., Rogez, H., & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of
1325 phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and*
1326 *Purification Technology*, 55(3), 381-387.
1327 <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.01.008>
- 1328 Silva, E. M., Rogez, H., & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of
1329 phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and*
1330 *Purification Technology*, 55(3), 381-387. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.01.008>
- 1331 Singh, K. P., Gupta, S., Singh, A. K., & Sinha, S. (2011). Optimizing adsorption of
1332 crystal violet dye from water by magnetic nanocomposite using response surface
1333 modeling approach. *Journal of Hazardous Materials*, 186(2-3), 1462-1473.
1334 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.12.032>

1335 Stavrou, I. J., Christou, A., & Kapnissi-Christodoulou, C. P. (2018). Polyphenols in
1336 carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and
1337 health impact. *Food Chemistry*, 269, 355-374.
1338 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.152>

1339 Sun, Z., Su, R., Qiao, J., Zhao, Z., & Wang, X. (2014). Flavonoids extraction from
1340 *Taraxacum officinale* (Dandelion): optimisation using response surface methodology
1341 and antioxidant activity. *Journal of Chemistry*, 2014.
1342 <https://doi.org/10.1155/2014/956278>

1343 Taghvaei, M., Jafari, S. M., Assadpoor, E., Nowrouzieh, S., & Alishah, O. (2014).
1344 Optimization of microwave-assisted extraction of cottonseed oil and evaluation of its
1345 oxidative stability and physicochemical properties. *Food Chemistry*, 160, 90-97
1346 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.064>.

1347 Tanase, C., Coşarcă, S., & Muntean, D. L. (2019). A critical review of phenolic
1348 compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential
1349 biological activity. *Molecules*, 24(6), 1182.
1350 <https://doi.org/10.3390/molecules24061182>

1351 Teh, S. S., & Birch, E. J. (2014). Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol
1352 content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed
1353 cakes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 346-353.
1354 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.08.002>

1355 Turton, R., Whiting, W. B., Bhattacharyya, D., & Shaiwitz, J. A. (2018). Analysis,
1356 synthesis, and design of chemical processes. Prentice Hall International Series in the
1357 Physical and Chemical Engineering Sciences.

1358 Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Hung, T. Q., Lumsangkul, C., Jaturasitha, S., El-
1359 Haroun, E., & Paolucci, M. (2020). Dietary inclusion of chestnut (*Castanea sativa*)
1360 polyphenols to Nile tilapia reared in biofloc technology: impacts on growth, immunity,
1361 and disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology*,
1362 105, 319-326. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.07.010>

- 1363 Van Rijn, J. (2013). Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural*
1364 *Engineering*, 53, 49-56.
1365 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.010>
- 1366 Vauchel, P., Colli, C., Pradal, D., Philippot, M., Decossin, S., Dhulster, P., & Dimitrov,
1367 K. (2018). Comparative LCA of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from
1368 chicory grounds under different operational conditions. *Journal of Cleaner Production*,
1369 196, 1116-1123.
1370 <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.042>
- 1371 Veličković, D. T., Milenović, D. M., Ristić, M. S., & Veljković, V. B. (2006). Kinetics
1372 of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (*Salvia officinalis* L.) and
1373 glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(2), 150-156.
1374 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2005.02.002>
- 1375 Vieira, G. S., Cavalcanti, R. N., Meireles, M. A. A., & Hubinger, M. D. (2013).
1376 Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by
1377 ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*).
1378 *Journal of Food Engineering*, 119(2), 196-204.
1379 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.030>
- 1380 Wan, C., Yu, Y., Zhou, S., Liu, W., Tian, S., & Cao, S. (2011). Antioxidant activity and
1381 free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different
1382 temperatures. *Pharmacognosy Magazine*, 7(25), 40.
1383 doi: 10.4103/0973-1296.75900
- 1384 Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-
1385 assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106(2),
1386 804-810. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>
- 1387 Wang, X., Wu, Y., Chen, G., Yue, W., Liang, Q., & Wu, Q. (2013). Optimisation of
1388 ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *Sparganii rhizoma* with
1389 response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(3), 846-854.
1390 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.11.007>

1391 Ward, C. W., Prosser, B. L., & Lederer, W. J. (2014). Mechanical stretch-induced
1392 activation of ROS/RNS signaling in striated muscle. *Antioxidants & Redox Signaling*,
1393 20(6), 929-936. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5517>

1394 Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A., & Browdy, C. L. (2006). Effect of natural
1395 production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture
1396 system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258(1-4), 396-403.
1397 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030>

1398 Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food*
1399 *analytical chemistry*, 6(1), I1-1. <https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06>

1400 Wong, K. H., Li, G. Q., Li, K. M., Razmovski-Naumovski, V., & Chan, K. (2017).
1401 Optimisation of *Pueraria* isoflavonoids by response surface methodology using
1402 ultrasonic-assisted extraction. *Food Chemistry*, 231, 231-237.
1403 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.068>

1404 Yalçın, T. E., İlbasmış -Tamer, S., & Takka, S. (2018). Development and
1405 characterization of gemcitabine hydrochloride loaded lipid polymer hybrid
1406 nanoparticles (LPHNs) using central composite design. *International Journal of*
1407 *Pharmaceutics*, 548(1), 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.063>

1408

1409 **Conclusões gerais**

1410

- 1411 • A metodologia de superfície resposta foi eficiente para a otimização da extração
1412 de compostos bioativos dos bioflocos;
- 1413 • Os fatores temperatura, tempo, concentração do álcool, e relação solvente –
1414 sólido foram significativos para o processo de otimização de extração de
1415 polifenóis do biofloco;
- 1416 • As variáveis concentração do álcool, e relação solvente – sólido foram
1417 significativos para o processo de otimização da atividade antioxidante dos
1418 extratos de biofloco;
- 1419 • Tempo de extração, e concentração do álcool foram os fatores determinantes no
1420 aumento do custo de produção;
- 1421 • O estudo de diferentes fatores na influência do processo de extração é
1422 importante visto que ocorrem diferentes respostas aos mesmos fatores em níveis
1423 próximos para diferentes matérias primas.

1424 **Perspectivas futuras**

1425

1426 De acordo com as hipóteses estudadas e os resultados obtidos, novos estudos podem ser
1427 explorados:

- 1428 • Estudar os efeitos de outros fatores no processo de otimização do bioflocos;
- 1429 • Realização de estudos de aplicação biológica na aquicultura;
- 1430 • Explorar as aplicações biotecnológicas amplas destes compostos extraídos;
- 1431 • Realizar análise para determinar composições específicas destes compostos
1432 fenólicos, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC);
- 1433 • Realização de estudos de diferentes compostos bioativos presentes neste resíduo
- 1434 • Fazer simulações em diferentes escalas de produção para avaliação dos custos,
1435 além da integração com os ganhos obtidos com as aplicações destes compostos a
1436 aquicultura.