

**Superacidificação da ração como
estratégia nutricional para evitar a
mortalidade e melhorar a eficiência da
taxa de conversão alimentar de
*Penaeus vannamei***

Miguel Ángel Romero López

info@higienizo.com

Diretor da Higienizo Espanha



O que aconteceria se usássemos uma dose de acidificante o suficiente alta para evitar a mortalidade por vibrião em camarões, mas sem efeitos negativos para os animais?

Agradecimentos



ORGANIZAÇÃO DO FENACAM POR CONVITE

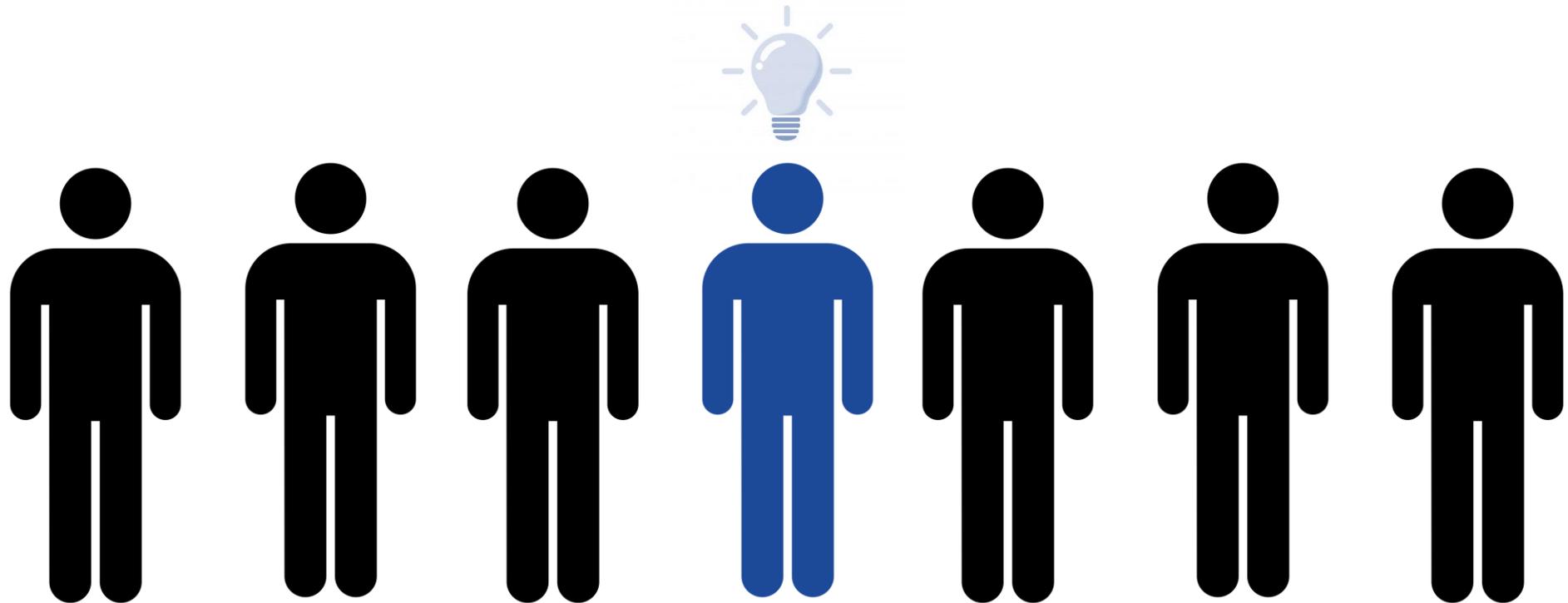
DESENVOLVIMENTO DE PESQUISAS

- BRASIL: Dr. Alberto NUNES e Dr. Julio FIGUEROA.
- ECUADOR: Victoria CASTILLO, José LOAHIZA, Arturo LOHAHIZA e Wady OLVERA.
- ESPANHA: Carlos ANILLO, Gonzalo GARCÍA
- FRANÇA: Jean François LE ROUX, Pierre STEPHANE
- NORUEGA: Mathieu CALMONT

Desafiando o status quo



Se fizermos o que os outros fazem, chegaremos ao mesmo lugar que eles.



Desafiando o status quo



Sabemos que o aumento das doses de acidificantes aumenta o **controle de Vibrio...**

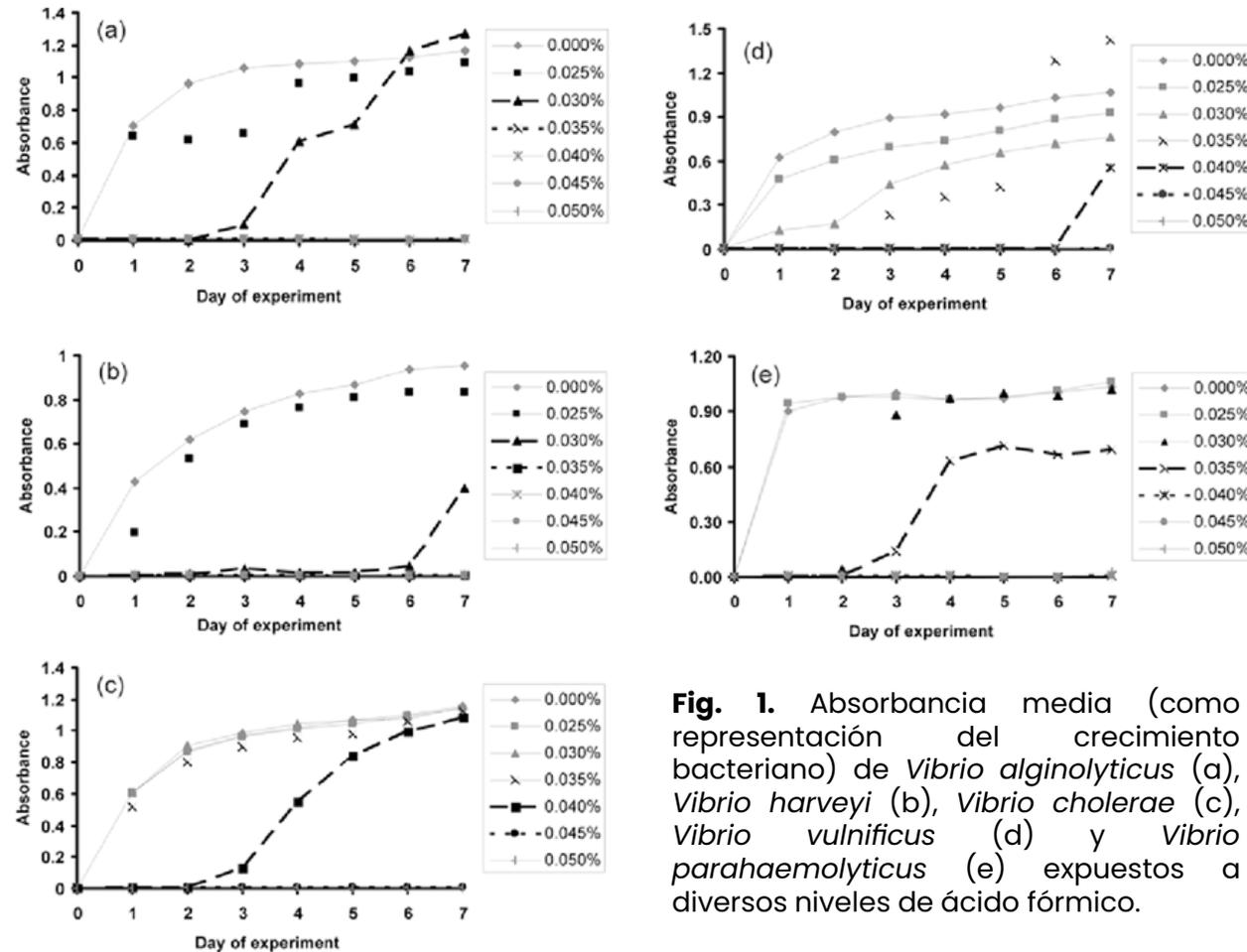


Fig. 1. Absorbancia media (como representaci3n del crecimiento bacteriano) de *Vibrio alginolyticus* (a), *Vibrio harveyi* (b), *Vibrio cholerae* (c), *Vibrio vulnificus* (d) y *Vibrio parahaemolyticus* (e) expuestos a diversos niveles de 3cido f3rmico.

Adams, Derek & Boopathy, Raj. (2013). Use of formic acid to control vibriosis in shrimp aquaculture. *Biologia*. 68. 10.2478/s11756-013-0251-x.

Desafiando o status quo

... mas muitas publicações indicam que altas doses de agentes acidificantes **reduzem o crescimento** dos camarões MAIS podem causar **lesões intestinais** nos animais.



	Controle	1% OAB ¹	2% OAB	4% OAB
Peso inicial (g)	0,125±0,010	0,121±0,005	0,120±0,006	0,126±0,008
Peso final (g)	0,69±0,13 ^b	1,01±0,05 ^{ab}	1,24±0,17 ^a	0,99±0,15 ^{ab}
Comp. Total (cm)	4,61±0,33 ^b	5,40±0,06 ^{ab}	5,73±0,42 ^a	5,44±0,26 ^{ab}
Ganho de peso (%)	451,1±66,2 ^b	736,4±58,0 ^{ab}	945,7±165,1 ^a	713,0±167,6 ^{ab}
Sobrevivência (%)	68,3±4,4	73,3±13,6	81,7±1,7	76,7±1,7
pH da ração	6,77	6,44	6,02	5,83

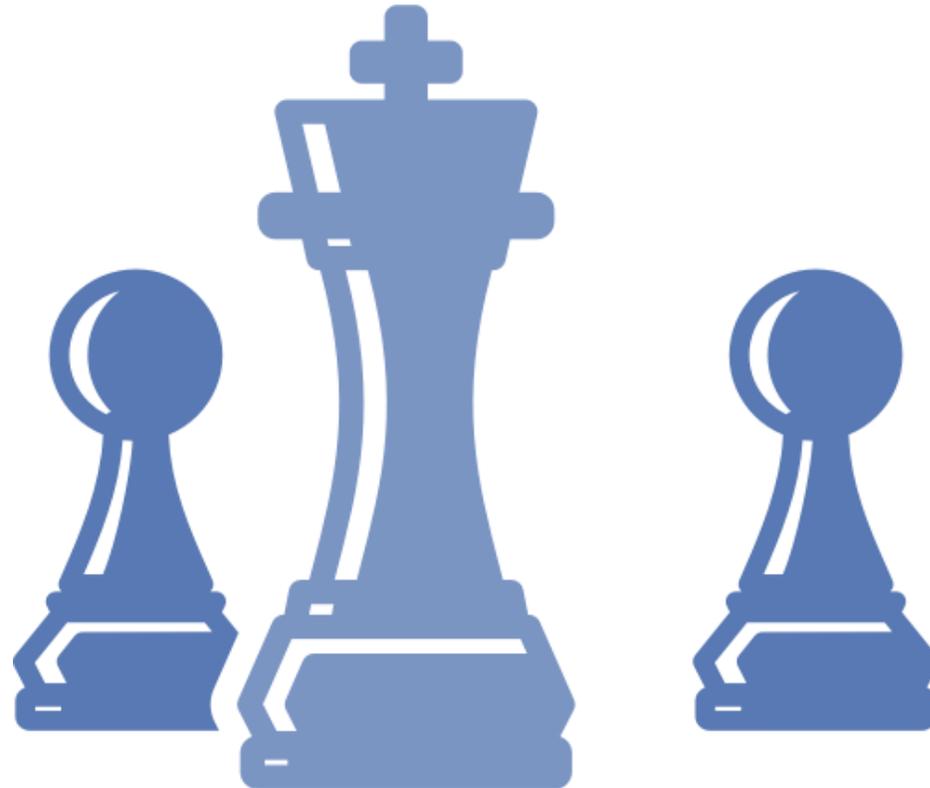
¹ OAB: Ácidos fórmico, láctico, málico e cítrico

Representação da Tabela 2 do artigo: Nicholas Romano, Chik-Boon Koh, Wing-Keong Ng, Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Aquaculture, Volume 435, 2015, Pages 228-236, ISSN 0044-8486.

Desafiando o status quo



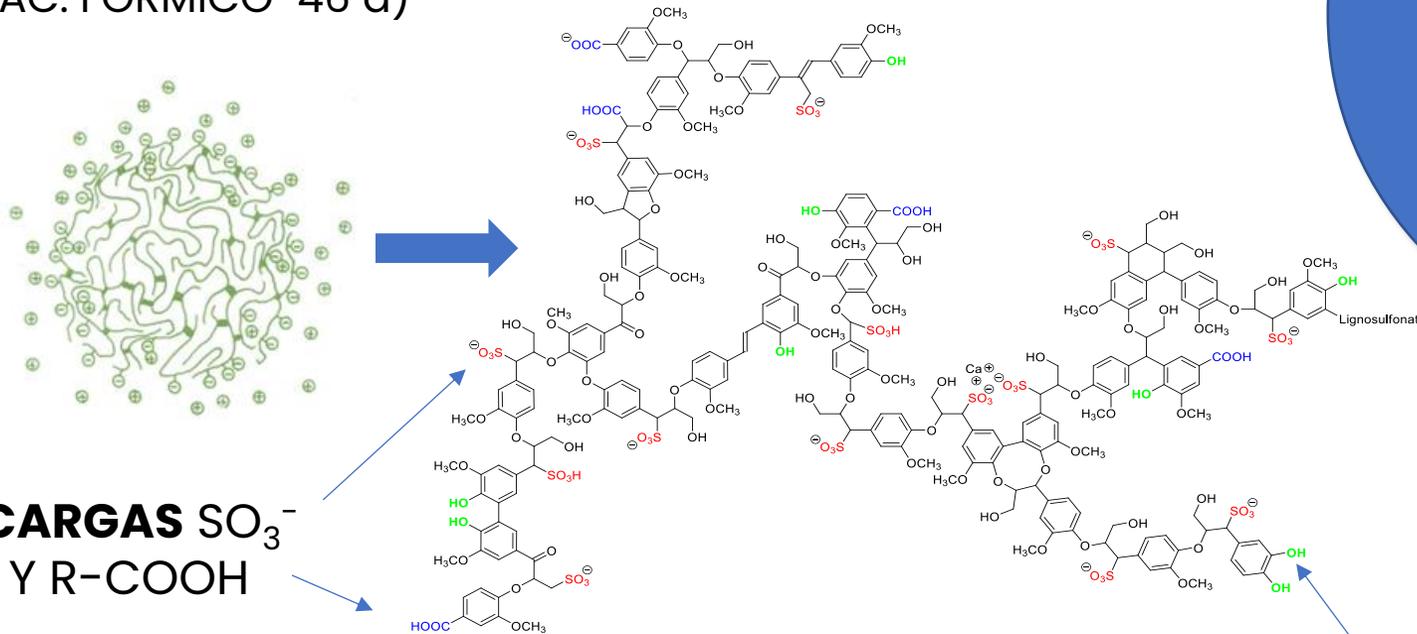
Desenvolvemos uma estratégia diferente para a acidificação da ração do camarão, por meio da qual evitamos as desvantagens dos ácidos orgânicos, apesar de usarmos doses muito altas..



Qual é a estratégia diferente?

Proteja o **ácido fórmico** com **ácido lignossulfônico**.

- **TAMANHO MOLECULAR** 36.000 d (783 MAIOR DO QUE ÁC. FORMICO-46 d)



- **CARGAS** SO_3^-
Y R-COOH

Ác. Fórmico

Ác. Lignossulfônico

- **GRUPOS FENOL** QUE ATUAM COMO ANTIOXIDANTES

Qual é a estratégia diferente?

A combinação de **40 % Ác. Lignossulfônico** com **60 % de Ác. Fórmico**, permite obter UM **ACIDIFICANTE em pH 0,3** sem os problemas associados ao Ác. Fórmico.



Uma estratégia diferente



O ácido lignosulfônico é um **subproduto da celulose**, extraído da madeira. Ao associar o ÁC. FÓRMICO com o ÁC. LIGNOSSULFÔNICO, o ALS torna o manuseio de ácidos orgânicos mais amigável, pois:

1. Reduz a corrosão do ácido fórmico em **95%**.
2. Reduz a evaporação do ácido fórmico em **70%**.

Além disso, o ALS tem grupos fenólicos com efeito **antioxidante** e sua estrutura controla a **atividade da água** dos alimentos.

Uma estratégia diferente



Efeito de 40 % de ácido lignossulfônico + 60 % de ácido fórmico contra Vibrio

- Ácido fórmico: produção padrão



A concentração bacteriana (densidade óptica) é comparada com concentrações crescentes de 60% de AC. ÁCIDO FÓRMICO + 40% DE ÁCIDO LIGNOSSULFÔNICO. Os resultados são apresentados em porcentagens, considerando a densidade óptica como 100% (não há controle bacteriano).

Espécie / dose	10	25	50	60	70	80	90	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	2000	3000	4000	Antibiótico
<i>V. harveyi</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98%	98%	98%	98%	91%	2%	1%	1%	0%
<i>V. parahaemolyticus</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	97%	97%	97%	92%	1%	1%	1%	0%
<i>V. vulnificus</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	95%	90%	1%	1%	1%	0%
<i>L. monocytogenes</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	38%	1%	1%	1%	0%
<i>Pseudomonas spp.</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99%	1%	1%	1%	0%

FONTE: CENAIM Agosto 2016

Essa proteção do ácido fórmico não tem efeitos negativos sobre os animais e ajuda a controlar os Vibrio em laboratórios.



PARA LABORATÓRIOS (APLICAR EM ÁGUA)

Distribuir a dose ao longo do dia em várias aplicações e a critério do técnico responsável.

LARVAS (distribuir a dose diária em 2-4 administrações):

- ZOEAE: 2-4 ppm/dia

- MYSIS: 4-6 ppm/dia

- PÓS-LARVA:

PL1-PL10: 6-10 ppm/dia

P11 EM DIANTE: 20-80 ppm/dia

TRANSPORTE: 5 ppm no início e depois mais 5 ppm em cada aplicação

ALGAS MARINHAS:

Fases iniciais (sacos de 15 e 300 litros): 2 ppm/dia

Fase de massa (tanques de 1.000-5.000-30.000 l): 5-20 ppm/dia

ARTÊMIA: após a colheita, POUCO ANTES DA FUNDAÇÃO/EDUCAÇÃO, aplique 4-6 ml de ÁF+ ALS/l de artêmia colhida no balde onde é colocada a pasta de artêmia, visando um pH de 2,5/3,0.

HIGIENE: faça uma solução de 3-5% de ácido fórmico. Ácido fórmico + ácido lignossulfônico para sanitização. Ácido lignossulfônico para sanitização de equipamentos. Podemos aplicar essa solução em vazios sanitários de tanques (não enxaguar depois), pelúcias.

ÁGUA DE RESERVATÓRIO: 5 ppm/dia

Também podemos usar o AF+ALS nas fases de engorda para controlar os Vibrio.



PRÉ-CRIAÇÃO (g Ác. Fórmico. + Ác. lignossulfônico /kg alimento):

- PREVENTIVO: **10-15**
- CORRETIVO: **15-20**

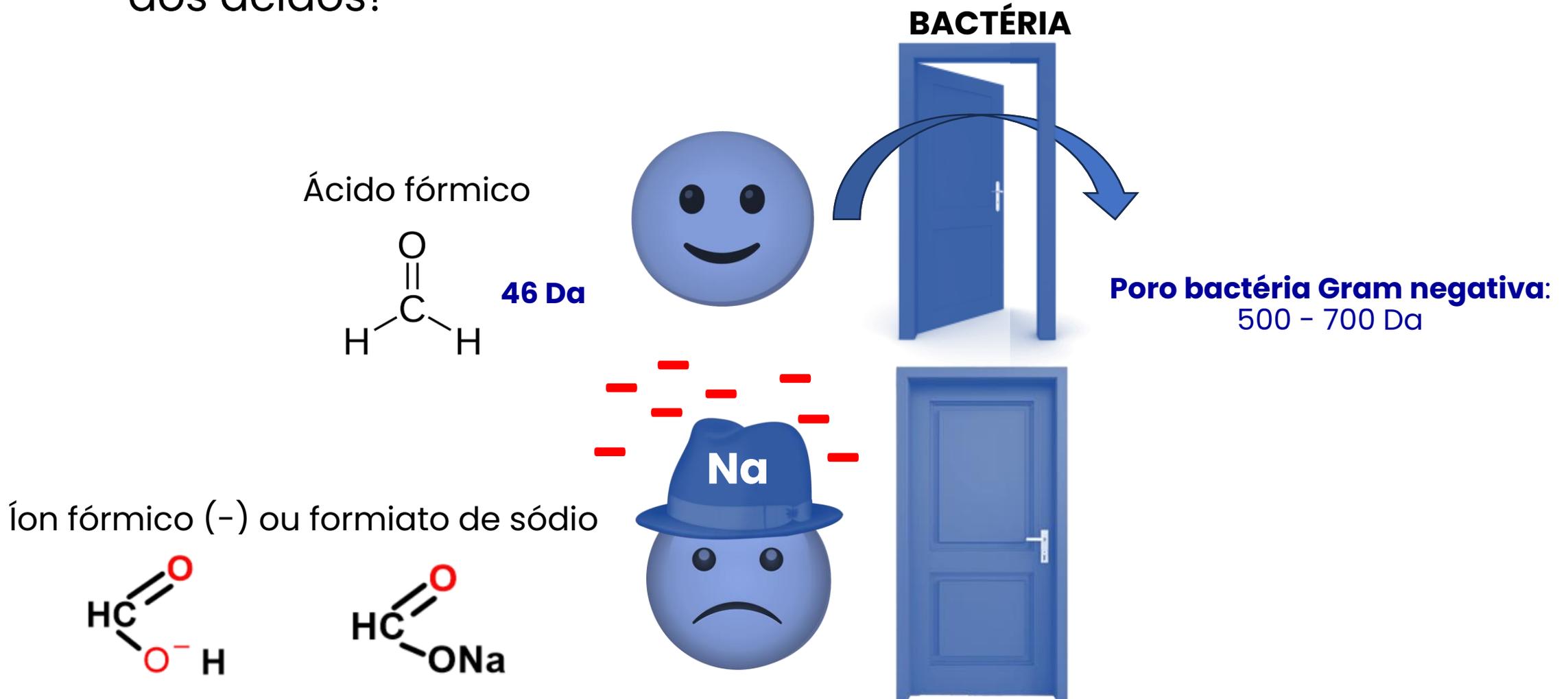
ENGORDA (g Ác. Fórmico. + Ác. lignossulfônico/kg alimento):

- PREVENTIVO: **5**
- CORRETIVO: **20**

Eficácia de ácidos orgânicos e seus sais



Quem realmente age contra os Vibrios, os ácidos ou os sais dos ácidos?

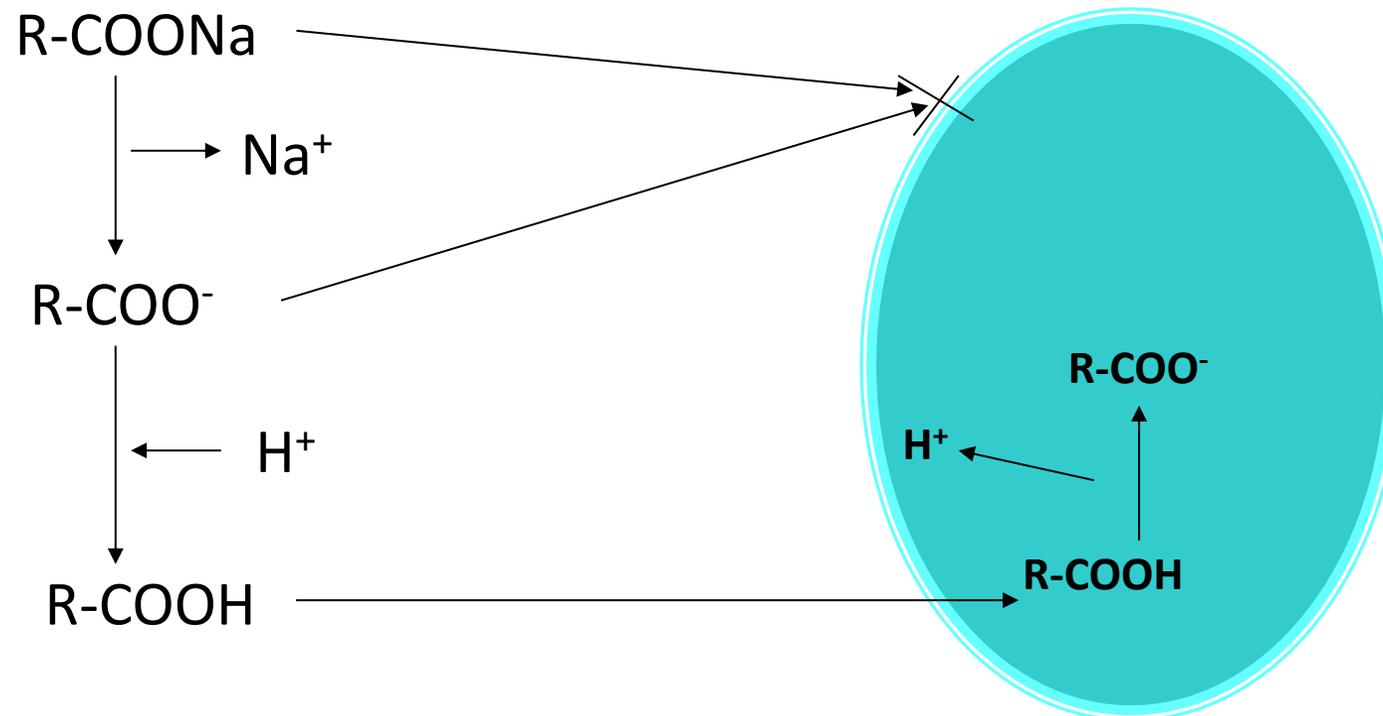


Eficácia de ácidos orgânicos e seus sais



DIFERENÇA COM SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS (por exemplo, formiato de sódio)

SOMENTE ÁCIDOS ORGÂNICOS NÃO DESASSOCIADOS ENTRAM NA BACTÉRIA



Desafios



Se os antibióticos promotores de crescimento usados em baixas doses na fase de engorda inibem os patógenos,

O que aconteceria se usássemos doses de ácido fórmico e ácido lignosulfônico suficientemente altas durante TODA A FASE DE ENGORDA DO CAMARÃO para proteger o camarão contra Vibrios?



2 desafios a altas doses de ácido fórmico + ácido lignossulfônico



Desafio 1: Reduziríamos a mortalidade cumulativa de camarões melhorando o Índice de Conversão (IC) por meio de uma menor quantidade de animais que tenham comido e morrido?

Desafio 2: Surgiriam efeitos negativos no crescimento do camarão?

Testes 1-3



HIGIENIZO



Borregaard



Nas nossas empresas, decidimos desenvolver uma série de estudos sobre o ácido lignossulfônico associado ao ácido fórmico no LABOMAR, Instituto de Ciências do Mar (Brasil) com o Dr. Alberto J.P. Nunes.



Teste 1 (abril de 2023): Material e métodos

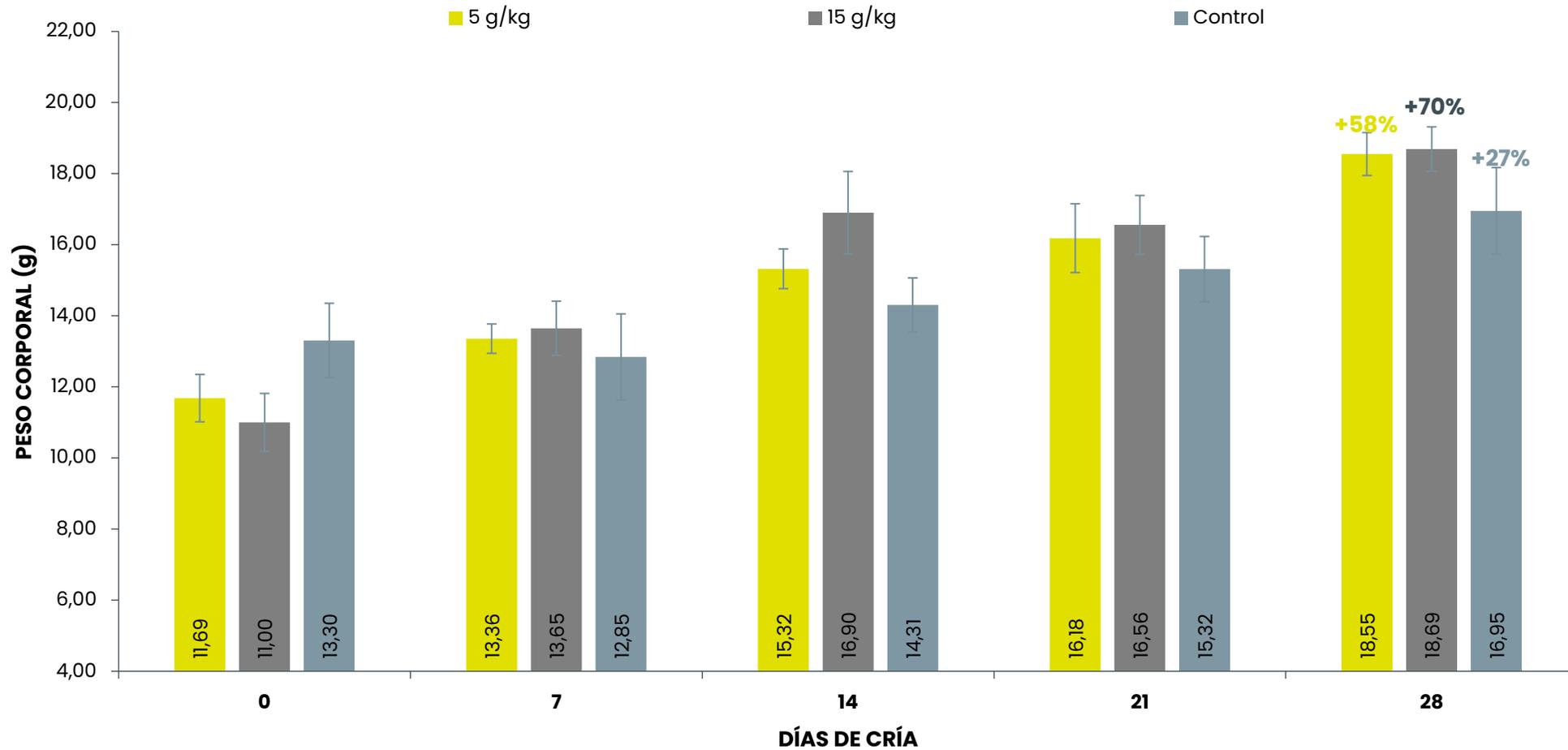


- Um tanque ao ar livre de 7,96 m³ para cada tratamento e um tanque para uma dieta de controle, totalizando 3 tanques. Salinidade: 15 g/l.
- Juvenis de *Penaeus vannamei* de $12,05 \pm 0,09$ (CV = 5,7%) foram estocados em 75 animais/m² (400 camarões/tanque) e criados por 28 dias.
- Foram adotados os seguintes procedimentos:
 - Ração CTL: sem adição;
 - Ração PTX5: com **5 g/kg de ácido fórmico + ácido lignossulfônico** numa amostra de 10 kg de ração;
 - Ração PTX15: com **15 g/kg de Ácido Fórmico + ácido lignossulfônico** numa amostra de 10 kg de ração;
- **OBJETIVO: estudar se altas doses de acidificante poderiam reduzir o crescimento**

Teste 1: Resultados - Peso corporal



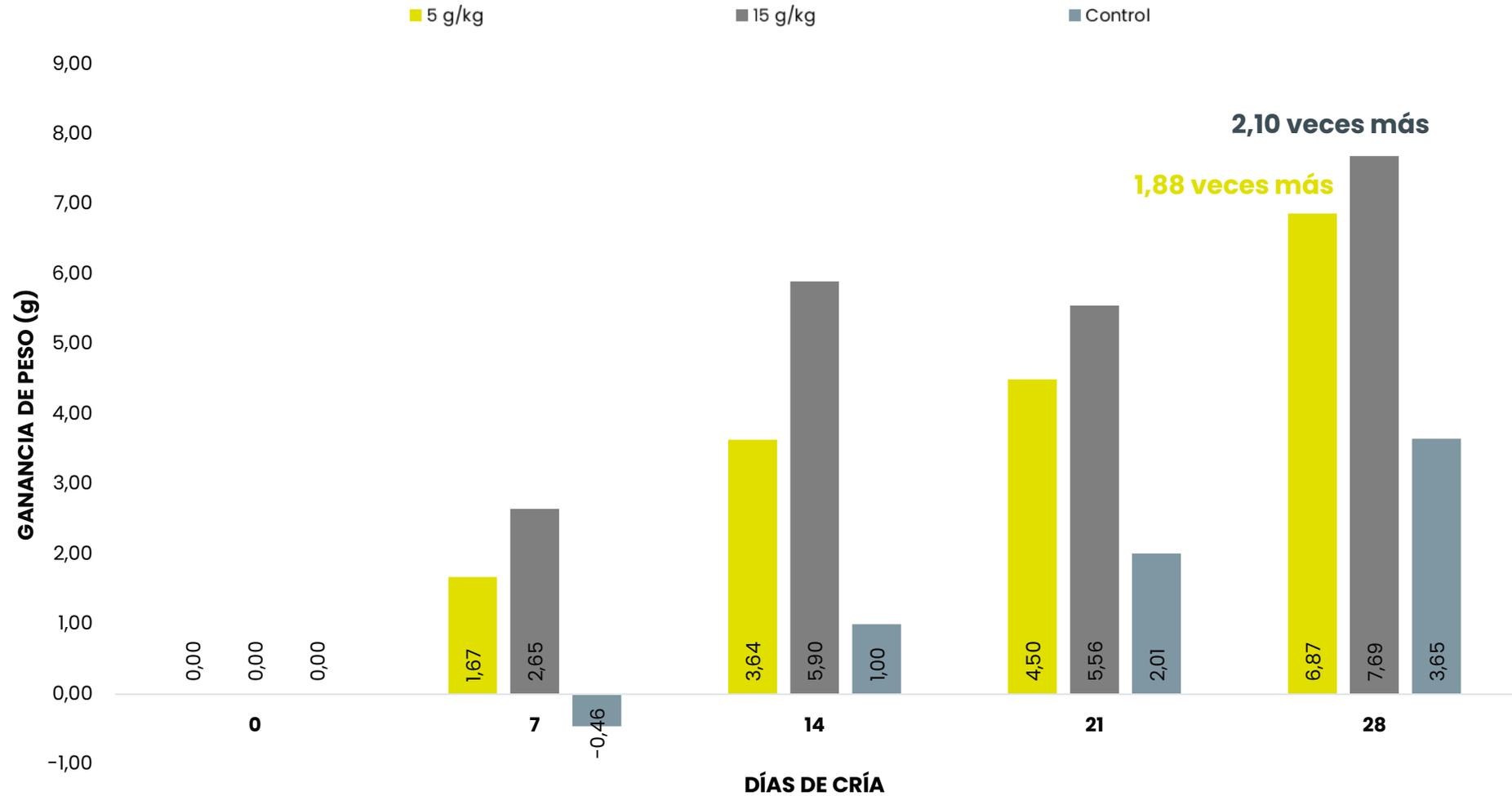
PESO CORPORAL DE LOS CAMARONES



Teste 1: Resultados - Peso corporal



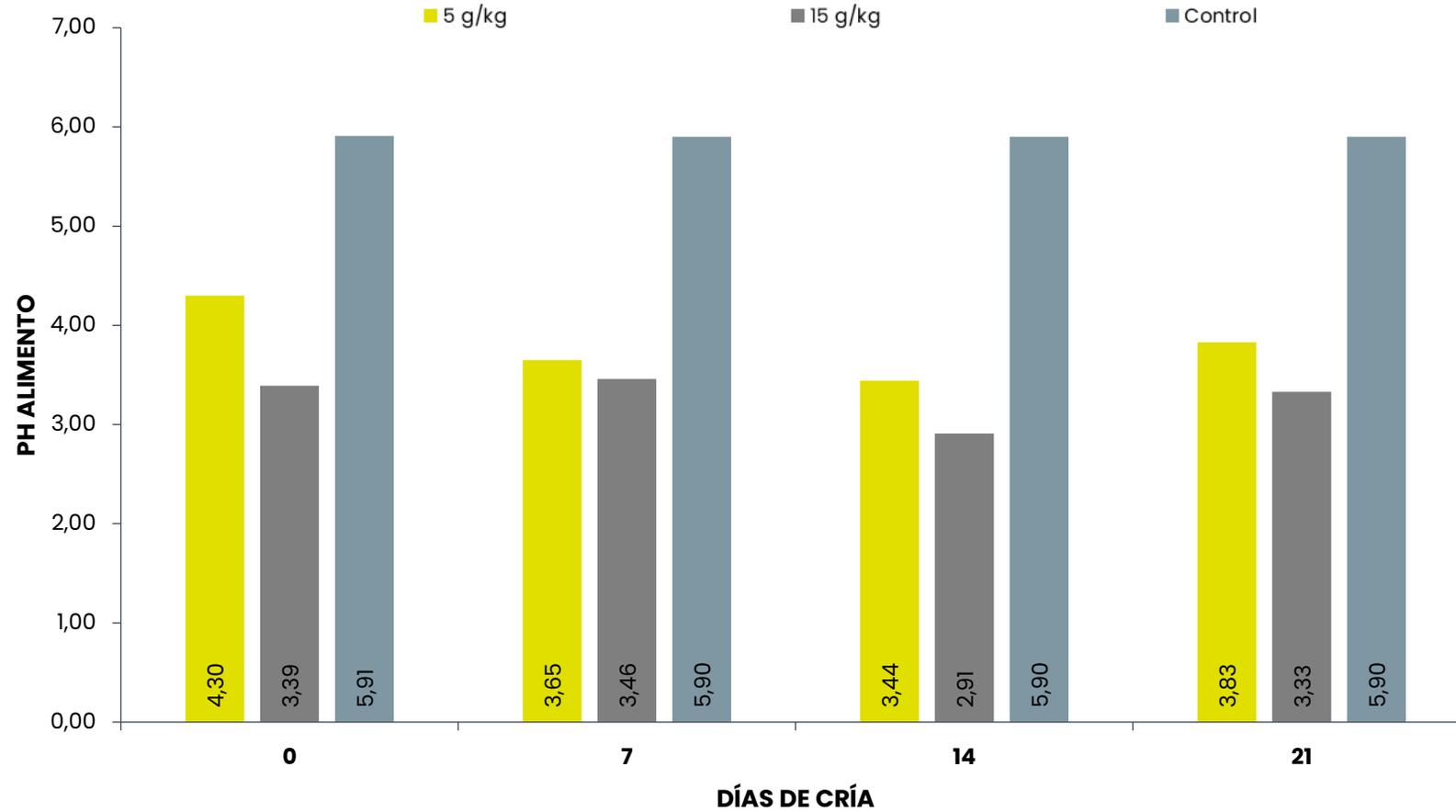
GANANCIA DE PESO EN RELACIÓN A SEMANA 0



Prueba 1: Resultados – pH da ração



PH ALIMENTO



Teste 2 (novembro de 2023): Material e métodos



- Dois tanques ao ar livre de 7,96 m³ para cada tratamento e um tanque para uma dieta de controle, totalizando 5 tanques. Salinidade: 15 g/l.
- Os juvenis de *Penaeus vannamei* serão estocados com 75 animais/m² e criados por 42 dias.
- Foram adotados os seguintes procedimentos:
 - Ração CTL: sem adição;
 - Ração PTX5: com **5 g/kg de ácido fórmico + ácido lignossulfônico** numa amostra de 10 kg de ração;
 - Ração PTX15: com **15 g/kg de Ácido Fórmico + ácido lignossulfônico** numa amostra de 10 kg de ração;
- **OBJETIVO: estudar a taxa de sobrevivência e a taxa de conversão alimentar se a porcentagem de animais mortos (comem e que não chegaram ao fim) fosse reduzida.**

Teste 2: Resultados - Biomassa e sobrevivência



Tratamiento	Días	Alimento	Supervivencia	Biomasa inicial	Biomasa final	Biomasa ganada/m ²
Control	42	4.022	55,8%	3.208	3.378	32
PTX5 (5 g/kg)	42	4.093	68,0%±7,1	3.208	4.055	162±65
PTX15 (15 g/kg)	42	4.020	99,9%±1,2	3.208	5.453	422±15
p ANOVA	-	-	0,03		0,035	

Em relação ao controle :

+21,1% da biomassa final
5 vezes mais biomassa obtida/m²

+64,7% da biomassa final
13 vezes mais biomassa obtida/m²

↓
 Mesma
 cantidad de
 alimento

Quando receberam a **mesma quantidade de ração, os camarões PTX15 foram subnutridos** e, portanto, cresceram menos do que o controle e o PTX5.

Tratamiento	Crecimiento (g/sem)	IC
Control	1,49	23,57
PTX5 (5 g/kg)	1,38±0,11	5,15±1,93
PTX15 (15 g/kg)	1,26±0,01	1,79±0,04
p ANOVA	0,054	0,011

Em relação ao controle :

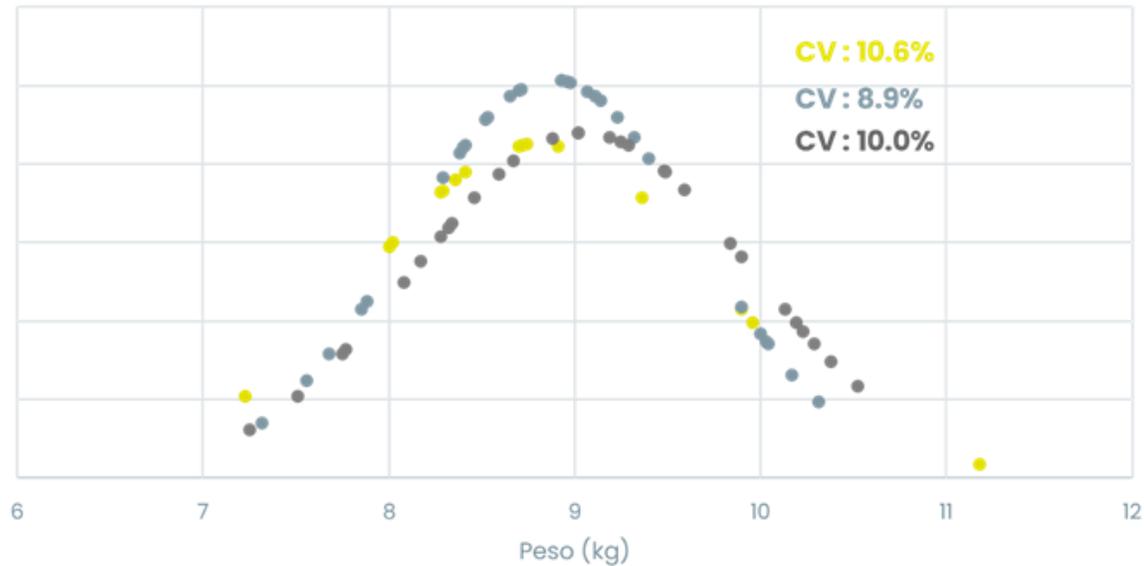
-218,5% da IC
-7,38 % de crescimento (g/sem)

-759,4% da IC
-15,43 % de crescimento (g/sem)

Teste 2: Resultados – Coeficientes de variação

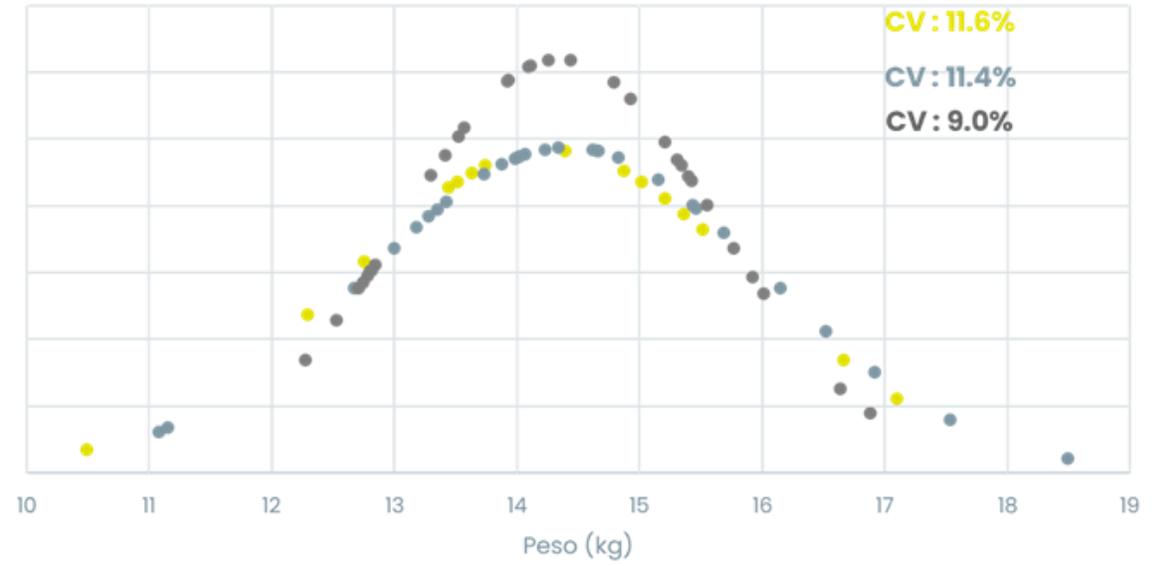


Peso T0

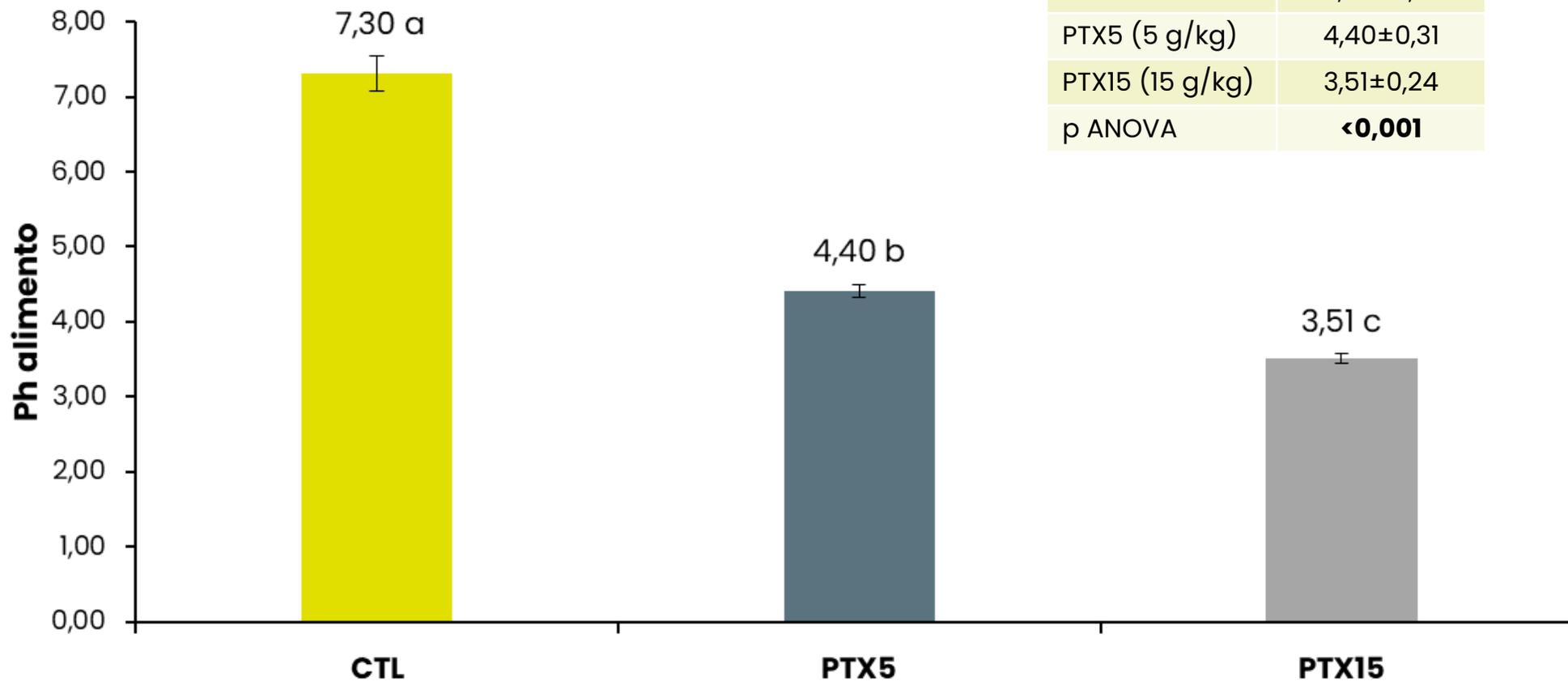


● Control ● (5g/kg) ● (15g/kg)

Peso FIN



Teste 2: Resultados – pH da ração



Tratamento	pH
Controle	7,30±0,91
PTX5 (5 g/kg)	4,40±0,31
PTX15 (15 g/kg)	3,51±0,24
p ANOVA	<0,001

Testes 1-2: Conclusões



AS ALTAS DOSES DE ÁCIDO FÓRMICO + ÁCIDO LIGNOSSULFÔNICO (5-15 G/Kg ALIMENTAÇÃO) REDUZINDO EM MAIS DE 2 PONTOS O PH DA RAÇÃO EM RELAÇÃO AO CONTROLE

1. MELHORA O **CRESCIMENTO** DOS ANIMAIS
2. AUMENTO DA **SOBREVIVÊNCIA** DOS CAMARÕES NA PRESENÇA DE VIBRIOS
3. MELHORA NA **TAXA DE CONVERSÃO ALIMENTAR** DEVIDO AO MENOR NÚMERO DE ANIMAIS QUE COMEM E MORREM ANTES DO FINAL DO PERÍODO DE CRIAÇÃO

Teste 3 (setembro de 2024): Material e métodos



- 5 tanques INDOOR de 1 m³ para cada tratamento dietético, totalizando 15 tanques. Salinidade: 3 g/l.
- Os juvenis de *Penaeus vannamei* de 2,0 g serão criados em 56 animais/m² (40 camarões por tanque) por 12 semanas.
- Foram adotados os seguintes procedimentos:
 - Ração CTL: sem adição;
 - Ração PTX5: com **5 g/kg de ácido fórmico + ácido lignossulfônico** em uma amostra de 10 kg de ração;
 - Ração PTX15: com **15 g/kg de Ácido Fórmico + ácido lignossulfônico** em uma amostra de 10 kg de ração;

OBJETIVOS:

1. **Reduzir a salinidade da água (reduzimos para 3 g/l):** é um meio não favorável ao crescimento dos Vibrios o que nos permite saber se há ou não melhores taxas de conversão exclusivamente devido à inclusão do acidificante (não por reduzir a mortalidade dos animais que comem e não chegam ao final).
2. **Realizar testes em ambientes fechados para evitar o desenvolvimento de fitoplâncton** na presença de luz (o fitoplâncton pode ser considerado como parte da alimentação dos animais) para estudar o efeito exclusivo da ração acidificada..

Teste 3: Resultados – Peso corporal

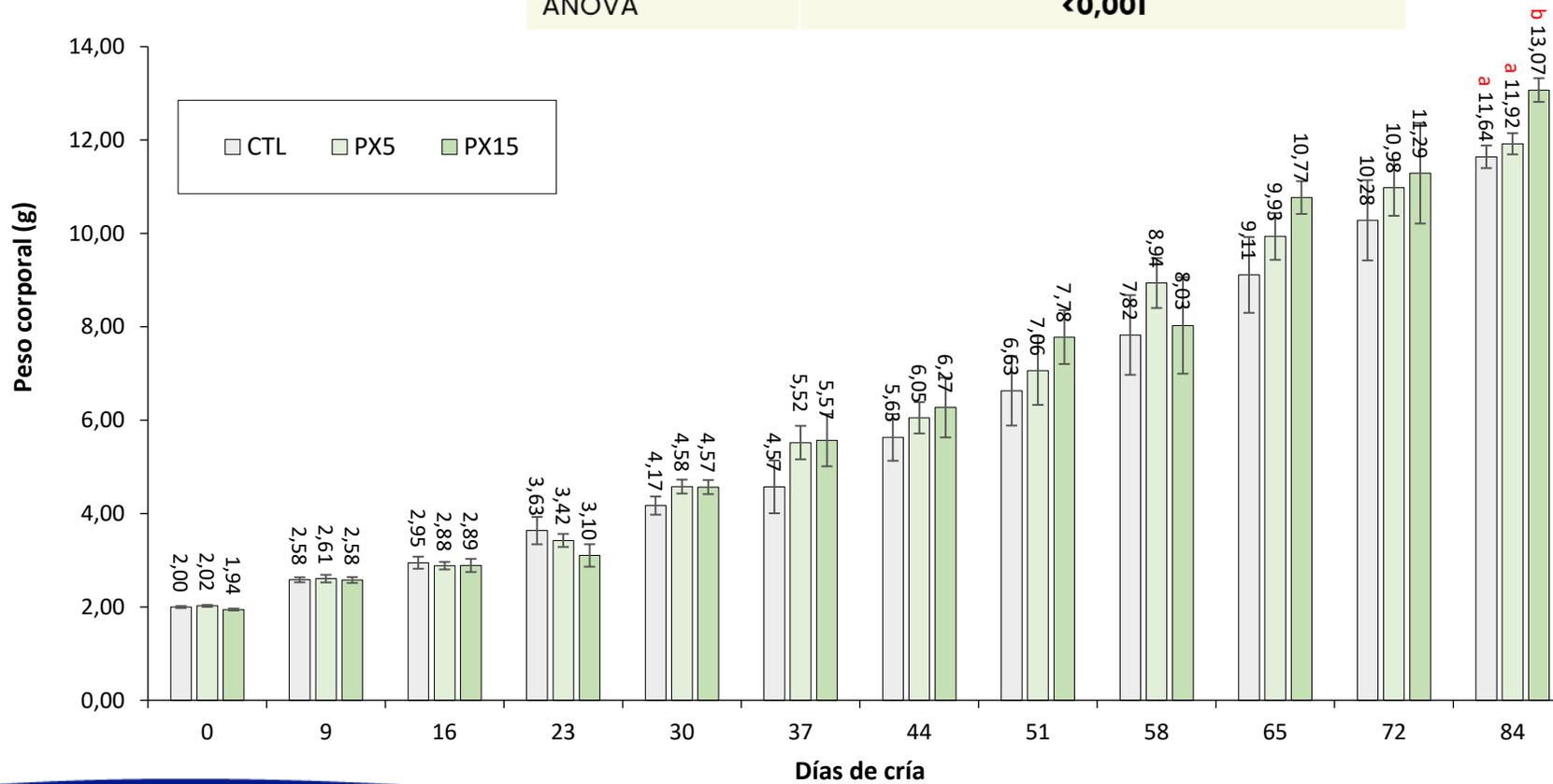


Tratamiento	Peso inicial	Peso final	Peso ganado total
Control	2,00±0,3	11,64±3,08	+9,64
PTX5 (5 g/kg)	2,02±0,3	11,92±3,08	+9,90
PTX15 (15 g/kg)	1,94±0,31	13,07±3,26	+11,13
ANOVA	<0,001		

Em relação ao controle :

+2,7 % do peso final

+15,5 % do peso final



Teste 3: Resultados – Biomassa, peso, IC e sobrevivência



Tratamiento	Días	Alimento (admi.- restos)	Peso inicial	Peso final	Peso ganado total	Peso ganado/semana
Control	84	5027,3	2,00±0,3	11,64±3,08	9,64	0,80±0,20
PTX5 (5 g/kg)	84	5330,45	2,02±0,3	11,92±3,08	9,90	0,82±0,14
PTX15 (15 g/kg)	84	5323,38	1,94±0,31	13,07±3,26	11,13	0,93±0,13
ANOVA	-	-	-	-	< 0,001	0,442

Em relação ao controle :
+2,7 % do peso final
+15,5 % do peso final

Teste 3: Resultados – Biomassa, peso, IC e sobrevivência



Tratamiento	Ingesta media (g/camarón)	IC
Control	27,88±2,5	3,55±0,8
PTX5 (5 g/kg)	29,13±1,4	3,04±0,43
PTX15 (15 g/kg)	29,21±2,4	3,06±0,38
ANOVA	0,557	0,313

Em relação ao controle :

-14,4 % do IC

-13,8 % do IC

Teste 3: Resultados – Biomassa, peso, IC e sobrevivência



Tratamiento	Supervivencia	Aumento biomasa /m2
Control	81,0%±4,5	523±154
PTX5 (5 g/kg)	92,0%±4,1	629±127
PTX15 (15 g/kg)	82,5%±6,8	622±129
ANOVA	0,013	0,421

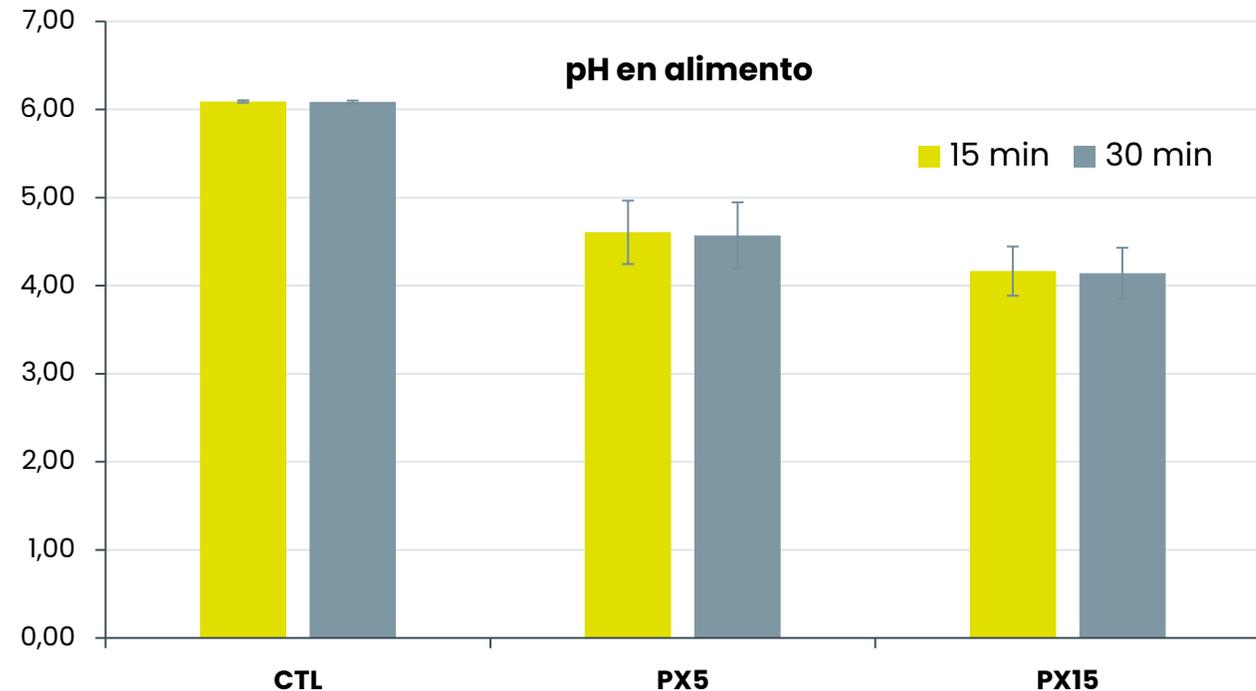
Em relação ao controle :

+13,6 % de sobrevivência
+20,3 % de biomassa/m²

+1,9 % de sobrevivência
+18,9 % de biomassa/m²

Teste 3: Resultados – pH na ração

Tratamiento	pH alimento (15 min)	pH alimento (30 min)
Control	6,09±0,01	6,09±0,02
PTX5 (5 g/kg)	4,61±0,36	4,57±0,38
PTX15 (15 g/kg)	4,17±0,28	4,14±0,29
ANOVA	< 0,001	< 0,001



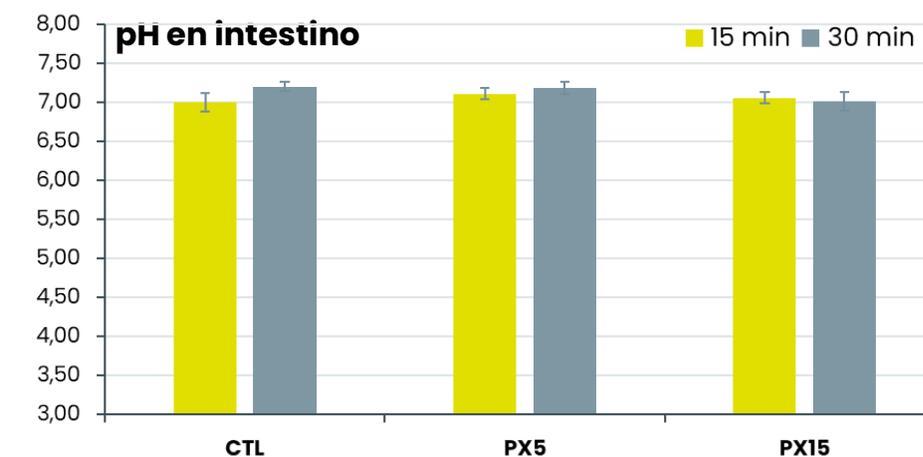
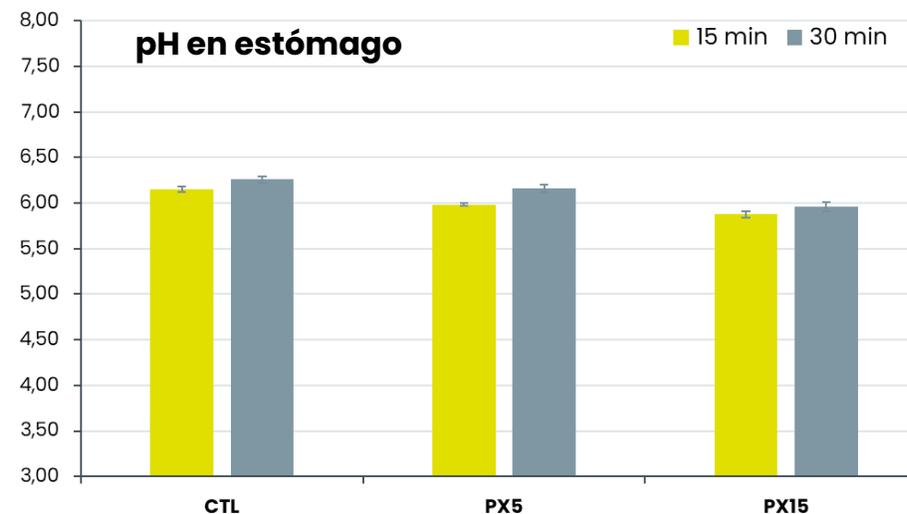
Teste 3: Resultados – pH no estômago e no intestino



Tratamiento	pH estômago (15 min)	pH estômago (30 min)
Control	6,15±0,04	6,26±0,03
PTX5 (5 g/kg)	5,99±0,03	6,16±0,04
PTX15 (15 g/kg)	5,88±0,02	5,96±0,05
ANOVA	< 0,001	0,001

Tratamiento	pH Int. Delgado (15 min)	pH Int. Delgado (30 min)
Control	7,00±0,12	7,20±0,06
PTX5 (5 g/kg)	7,11±0,07	7,18±0,08
PTX15 (15 g/kg)	7,05±0,07	7,01±0,11
ANOVA	0,705	0,239

O camarão é capaz de neutralizar o pH do conteúdo da moenda gástrica ao passar para o intestino delgado.



Prueba 3: Resultados – Resumo do pH



Tratamiento	pH alimento	pH estómago	pH hepatopáncreas	ph Int. Delgado
Control – 15 min	6,09	6,15	6,50	7,00
Control – 30 min	6,09	6,26	6,56	7,20
PTX5 – 15 min	4,61	5,99	6,55	7,11
PTX5 – 30 min	4,57	6,16	6,59	7,18
PTX15 – 15 min	4,17	5,88	6,55	7,05
PTX15 – 30 min	4,14	5,96	6,50	7,01

Teste 3: Conclusões



EM RELAÇÃO AO CONTROLE:

Tratamiento	Ganancia peso corporal	Ganancia peso semanal	Ingesta alimento (g/camarón)	Biomasa final	Tasa de supervivencia	IC
PTX (5 g/kg)	+ 2,40%	+ 1,02%	+ 4,48%	+ 20,25%	+ 13,58%	- 14,36%
PTX (15 g/kg)	+ 12,28%	+ 1,16%	+ 4,77%	+ 18,84%	+ 1,85%	- 13,80%

Teste 3: Conclusões



NA FASE DE ENGORDA DO CAMARÃO, A INCLUSÃO DE 60 % DE ÁCIDO FÓRMICO FÓRMICO + 40 % DE ÁCIDO LIGNOSULFÔNICO, É UMA ESCOLHA IDEAL NAS FAZENDAS:

- **SEM PROBLEMAS DE VIBRIÃO:** 5 G DE ACIDIFICANTE/KG DE RAÇÃO: MELHORA A TAXA DE CONVERSÃO ALIMENTAR E A TAXA DE CRESCIMENTO
- **COM PROBLEMAS DE VIBRIÃO:** 15 G DE ACIDIFICANTE/KG DE RAÇÃO: MELHORA A SOBREVIVÊNCIA, A TAXA DE CONVERSÃO ALIMENTAR E O CRESCIMENTO.

**MUITO OBRIGADO PELA
SUA ATENÇÃO**

***Miguel Ángel Romero
López***

info@higienizo.com

Diretor da Higienizo Espanha



HIGIENIZO