



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VANDERLEIA VOLFF

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOMASSA FERMENTADA DE CASCA
DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*) NA QUALIDADE DA CARNE DE CAMARÃO
DE ÁGUA DOCE *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1879)**

LARANJEIRAS DO SUL

2020



VANDERLEIA VOLFF

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOMASSA FERMENTADA DE CASCA
DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*) NA QUALIDADE DA CARNE DE CAMARÃO
DE ÁGUA DOCE *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1879)**

Dissertação de mestrado, apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Luisa Helena Cazarolli

Coorientadora: Dra. Vânia Zanella Pinto

LARANJEIRAS DO SUL

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

Campus Laranjeiras do Sul-PR

Rodovia BR 158 - Km 405

CEP 85301-970

Telefone: (42) 3635-0000

Laranjeiras do Sul - PR

Brasil

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Volff, Vanderleia
INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOMASSA FERMENTADA DE
CASCA DE MANDIOCA (Manihot esculenta) NA QUALIDADE DA
CARNE DE CAMARÃO DE ÁGUA DOCE *Macrobrachium rosenbergii*
(DE MAN, 1879) / Vanderleia Volff. -- 2020.
73 f.:il.

Orientadora: Doutora Luisa Helena Cazarolli
Co-orientadora: Doutora Vânia Zanella Pinto
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Laranjeiras do Sul, PR, 2020.

1. Levedura; Resíduos agroindustriais; *Macrobrachium*
rosenbergii; Casca de mandioca. I. Cazarolli, Luisa
Helena, orient. II. Pinto, Vânia Zanella, co-orient.
III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

VANDERLEIA VOLFF

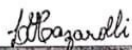
INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BIOMASSA FERMENTADA DE CASCA DE MANDIOCA (*Mandiot esculenta*) NA QUALIDADE DA CARNE DE CAMARÃO DE ÁGUA DOCE *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1879).

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto sensu*, da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

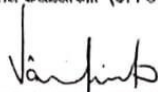
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

07/08/2020

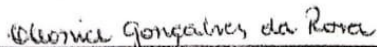
BANCA EXAMINADORA



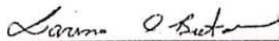
Prof.^a Dra. Luisa Helena Cazarolli (UFFS – presidente/orientadora)



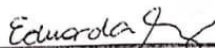
Prof.^a Dra. Vânia Zanella Pinto (UFFS – coorientadora)



Prof.^a Dra. Cleonice Gonçalves da Rosa (UNIPLAC – 1º membro)



Prof.^a Dra. Larissa Canhadas Bertan (UFFS – 2º membro)



Prof.^a Dra. Eduarda Molardi Balny (UFFS – suplente)

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais Emanuel Vanderlei e Matilde, meus irmãos Alexandre e Estevon e minha cunhada Débora, por todo amor.

A minha avó Eloá, por todo o cuidado comigo durante estes anos, em especial nos dois anos de mestrado.

A Dafne, Emanuelli, Isadora, Marina e Tainá, que com sua doçura de criança tornam os dias mais leves.

Ao Jáissom, pelo companheirismo nesses 8 anos juntos.

A Aline, minha amiga de faculdade, minha colega de profissão e que, mesmo a distância, me acompanhou desde estudar juntas para a prova do mestrado até o término deste.

A minha orientadora Luisa e coorientadora Vânia por toda a paciência, por todo o aprendizado que me proporcionaram neste tempo.

Aos membros da banca, Professoras Larissa, Cleonice e Eduarda por todas as contribuições ao trabalho.

Ao Professor Luciano, pelo auxílio nas análises de cromatografia gasosa.

Ao David, pela ajuda com os cromatogramas.

Aos técnicos dos laboratórios, em especial a Fernanda, pelo auxílio nas análises e pela disponibilização da biomassa.

Ao André, Jéssica, Keveen, Luiz Vitor e Milena, por toda a ajuda em todo o desenvolvimento deste trabalho. Toda admiração pelo amor a pesquisa que vocês tem.

Aos colegas de mestrado, pela amizade e companheirismo nesses dois anos.

A Universidade Federal da Fronteira Sul e a todos os os professores do programa, por todo o ensinamento repassado.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram com esse trabalho.

RESUMO

Nos últimos anos, a criação de camarões de água doce vem se destacando devido aos diversos benefícios nutricionais da carne, sendo a alimentação ofertada ao animal um fator importante para a qualidade da carne. Em busca de melhor qualidade e redução de custos na produção, é notável o aumento da busca por ingredientes alternativos adicionados à ração dos camarões, entre eles estão a biomassa fermentada de resíduos agroindustriais. O objetivo geral deste trabalho foi estudar o efeito da suplementação de biomassa fermentada proveniente de casca da mandioca vermelha (*Manihot esculenta*) na composição corporal e qualidade da carne do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*. Os animais foram suplementados com 0%, 3%, 5% e 10% de biomassa fermentada na ração por 50 dias e posteriormente realizadas análises da carcaça fresca: composição química, atividade de água, acidez titulável, pH, proteína carbonilada e perfil de ácidos graxos. Também foram realizadas análises de pH, TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), bases voláteis e perfil de ácidos graxos em animais armazenados congelados, no tempo inicial, 3, 6 e 9 meses de armazenamento. Sobre a composição química houve diferença significativa para lipídeos, com aumento da concentração de lipídeos nos tratamentos 5 e 10% ($p < 0,05$) e aumento da concentração de ácidos graxos em animais suplementados com 3% e 5% de biomassa ($p < 0,05$). Para as análises de carcaça armazenada, houve aumento de TBARS e bases voláteis ao longo dos meses de armazenamento, porém, ainda dentro dos limites recomendados pela legislação ($p < 0,05$). Para o perfil de ácidos graxos no armazenamento, houve diferença significativa com aumento da concentração nos 3 meses de armazenamento, início da diminuição desta concentração aos 6 meses e redução acentuada da concentração aos 9 meses de armazenamento. Os resultados encontrados indicam que a biomassa fermentada pode ser adicionada à ração, sem prejuízos à carne, tendo como vantagem o aumento de ácidos graxos, principalmente os poliinsaturados que promovem diversos benefícios a saúde humana.

Palavras chave: *Macrobrachium rosenbergii*. Leveduras. Casca de mandioca. Resíduos Agroindustriais.

ABSTRACT

In recent years, the creation of freshwater shrimps has been highlighted due to the various nutritional benefits of their meat; being the food offered to this animal is an important factor for the quality of their meat. In search of better quality and cost reduction in production, it is remarkable the increase in the search for alternative ingredients added to shrimp feed, among them are the fermented biomass of agro-industrial residues. The general objective of this paper was to study the effect of the supplementation of fermented biomass from red cassava peel (*Manihot esculenta*) on the body composition and quality of fresh water shrimp meat (*Macrobrachium rosenbergii*). The animals were supplemented with 0%, 3%, 5% and 10% of fermented biomass in the feed for 50 days and later analyses of the fresh carcass were performed: chemical composition, water activity, titratable acidity, pH, carbonylated protein and fatty acid profile. Were also studied the analysis of pH, TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances), volatile bases and fatty acid profile in frozen stored animals, in the initial time, 3, 6 and 9 months of storage. On the chemical composition there were significant differences for lipids, with increased concentration of lipids in treatments 5 and 10% ($p < 0.05$) and increased concentration of fatty acids in animals supplemented with 3% and 5% of biomass ($p < 0.05$). For the analyses of stored carcass, there was an increase of TBARS and volatile bases throughout the months of storage, however, still within the limits recommended by the legislation ($p < 0.05$). For the profile of fatty acids in storage, there was a significant difference with an increase in concentration at 3 months of storage, with the beginning of the decrease in this concentration at 6 months and a sharp reduction in concentration at 9 months of storage. The results found indicate that fermented biomass can be added to the feed without damage to the meat, with the advantage of increasing fatty acids, especially polyunsaturated ones that promote several benefits to human health. For the profile of fatty acids in storage, there was a significant difference with an increase in concentration at 3 months of storage, with the beginning of the decrease in this concentration at 6 months and a sharp reduction in concentration at 9 months of storage. The findings indicate that fermented biomass can be added to the feed, without damaging the meat, with the advantage of increasing fatty acids, especially polyunsaturated ones that promote several benefits to human health.

Key words: *Macrobrachium rosenbergii*. Yeasts. Cassava peel. Agroindustrial residues.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - <i>Macrobrachium rosenbergii</i> adulto..... | 5 |
| Figura 2 - <i>Manihot esculenta</i> | 10 |
| Figura 3. Valores de pH nos tempos inicial, 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura..... | 29 |
| Figura 4. Níveis de peroxidação lipídica nos tempos inicial, 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura..... | 30 |
| Figura 5. Conteúdo de bases voláteis no tempo inicial e após 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura..... | 33 |
| Figura 6. Cromatograma do controle no tempo inicial com o tempo de retenção dos compostos..... | 35 |
| Figura 7. Concentração de ácido 9-12 Octadecadienóico (ácido linoleico) na carcaça fresca de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura..... | 39 |
| Figura 8. Cromatograma do Ácido 9,12 octadecadienóico e Ácido 9-octadecenóico nos tempos inicial, 3,6 e 9 meses de armazenamento..... | 47 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Formulação das rações utilizadas nos tratamentos..... | 16 |
| Tabela 2. Temperatura programada da coluna..... | 21 |
| Tabela 3. Composição química da carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta..... | 22 |
| Tabela 4. Atividade de água na carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta..... | 24 |
| Tabela 5. Acidez titulável e pH da carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta..... | 26 |
| Tabela 6. Níveis de proteína carbonilada na carne de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta..... | 27 |
| Tabela 7. Níveis de peroxidação lipídica no tempo inicial na carne de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta..... | 30 |
| Tabela 8. Conteúdo de bases voláteis no tempo inicial e após 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura..... | 32 |
| Tabela 9. Perfil de ácidos graxos no tempo inicial na carcaça fresca de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura..... | 37 |
| Tabela 10. Concentração de ésteres de ácidos graxos nos 4 tempos de armazenamento (Tempo inicial, 3,6 e 9 meses)..... | 42 |

LISTA DE SIGLAS

ATP: Trifosfato de adenosina

aw: Atividade de água

BHT: Hidroxitoluenobutilado

DHA: Ácido docosahexaenóico

DNPH: 2,4-dinitrofenilhidrazina

DMA: Dimetilamina

EPA: Ácido eicosapentaenóico

FDA: Food and Drug Administration

GRAS: Generally Recognized As Safe

MDA: Malondialdeído

NADPH: Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

N-BVT: Nitrogênio de bases voláteis totais

OD: Oxigênio dissolvido

OTMA: N-óxido de trimetilamina

PH: potencial hidrogeniônico

RIISPOA: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem animal

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA: Ácido tricloroacético

TMA: Trimetilamina

FDA: Food and Drug Administration

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 2 |
| 2. OBJETIVO..... | 3 |
| 2.1 Objetivo Geral..... | 3 |
| 2.2 Objetivo específico..... | 3 |
| 3. REFERENCIAL TEÓRICO..... | 4 |
| 3.1 Carcinicultura e <i>Macrobrachium rosenbergii</i> | 4 |
| 3.2 Pós-pesca, composição corporal e qualidade da carne de camarão..... | 7 |
| 3.3 Levedura <i>Yarrowia lipolytica</i> , biomassa fermentada de casca de mandioca e aplicação na dieta decamarões..... | 9 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 14 |
| 4.1 Biomassa fermentada..... | 14 |
| 4.2 Local e instalações..... | 15 |
| 4.3 Rações..... | 15 |
| 4.4 Animais, tratamentos e coleta de amostras..... | 17 |
| 4.5 Caracterização da carne de camarão..... | 17 |
| 4.5.1 Composição química..... | 17 |
| 4.5.2 Atividade de água..... | 19 |
| 4.5.3 Acidez titulável e pH..... | 19 |
| 4.5.4 Determinação do conteúdo de proteína carbonilada..... | 19 |
| 4.5.5 Análise da peroxidação de lipídeos -TBARS..... | 19 |
| 4.5.6 Bases voláteis..... | 20 |
| 4.5.7 Perfil de ácidos graxos..... | 20 |
| 4.6 Teste de armazenamento congelado da carcaça..... | 21 |
| 4.7 Análise estatística..... | 22 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 22 |
| 5.1 Caracterização da carcaça fresca..... | 22 |

| | |
|--|----|
| 5.1.1 Composição química..... | 22 |
| 5.1.2 Atividade de água..... | 24 |
| 5.1.3 Acidez titulável e pH..... | 25 |
| 5.1.4 Análise de proteína carbonilada..... | 27 |
| 5.2 Alterações durante o armazenamento congelado da carcaça..... | 27 |
| 5.2.1. pH..... | 28 |
| 5.2.2. TBARS..... | 30 |
| 5.2.3. Bases voláteis..... | 32 |
| 5.2.4. Perfil de ácidos graxos..... | 35 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 50 |
| 7.REFERÊNCIAS..... | 51 |

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma importante fonte de renda que vem crescendo nos últimos anos, tendo um papel relevante na segurança alimentar e nutricional. Essa ciência estuda os organismos aquáticos, podendo ser dividida nas seguintes modalidades: Criação de peixes (piscicultura), criação de rãs (ranicultura), criação de ostras, moluscos e mexilhões (malacocultura), cultivo de algas (algicultura) e a carcinicultura (criação de camarões) (SIQUEIRA, 2017).

A carcinicultura consiste da criação de camarões, crustáceos da ordem Decápoda, divididos em camarões de água doce ou salgada. Este é um ramo de atividade que vem crescendo bastante nos últimos anos devido a diversos fatores, dentre eles novas técnicas de produção e aumento de mercado consumidor. O clima brasileiro e a disponibilidade de água doce e faixa litorânea extensa favorecem o cultivo do camarão, em especial na região Nordeste (ABCC, 2013).

Dentre os gêneros de camarão de água doce cultivados, está o *Macrobrachium*, sendo a espécie mais cultivada no Brasil a *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). A introdução desta espécie no país ocorreu em 1977, iniciando o cultivo comercial somente na década de 80 (CAVALCANTI, 1998). O *M. rosenbergii* possui como vantagens o crescimento acelerado, melhor tolerância com o ambiente, pouca agressividade, tolera diferentes taxas de salinidade e temperatura e tem boa resistência a doenças (MOHAN, 2016). Ainda, a carne do camarão de água doce apresenta qualidade nutricional considerável, sendo boa fonte de proteínas, aminoácidos essenciais e ácidos graxos poliinsaturados (ASAIKKUTTI, 2016; MOHAN, 2016; MURALISANKAR, 2015).

Diversos estudos têm demonstrado que a qualidade do camarão está diretamente relacionada aos aspectos nutricionais dos animais sendo que a nutrição e o atendimento às necessidades energéticas dos camarões constituem-se num dos principais problemas da carcinicultura mundial (ZIMMERMAN, 1998; D'ABRAMO, NEW, 2010). Sendo assim, a composição das rações e o atendimento dos requisitos nutricionais dos animais durante o cultivo tornaram-se questões fundamentais de estudo e pesquisa.

Adicionalmente, as demandas energéticas destes animais têm nas proteínas e nos lipídeos duas fontes primárias de elementos nutricionais importantes para seu crescimento e desenvolvimento (NEW, KUTTY, 2010). Desta forma, vem se observando a busca por alternativas e o uso de suplementações nas rações que possam contribuir para a melhoria da produção destes animais. Em termos de fontes alternativas de ácidos graxos insaturados e

proteínas que visam ser mais sustentáveis que as convencionais oriundas da pesca extrativa, destaca-se o uso de biomassa fermentada de resíduos agroindustriais (QIU, DAVIS, 2017).

De maneira geral, resíduos de agroindústrias são considerados matérias primas com alto potencial de geração de valor nutricional, via processos fermentativos utilizando leveduras (LINDQUIST et al., 2015). Considerando a fabricação de rações para consumo animal, o uso dos produtos de fermentação é considerado excelente fonte alternativa de proteína a ser incorporada na dieta além de possuir bom potencial econômico, pois podem substituir as tradicionais fontes de proteína utilizadas nas rações, que apresentam elevado custo. Além disso, os microrganismos podem ser grandes produtores de açúcares redutores e ácidos graxos insaturados que são altamente recomendados em uma dieta humana e animal (NINOW et al., 2010).

Considerando estes aspectos, é de extrema importância o conhecimento das necessidades nutricionais e da fisiologia dos animais bem como o desenvolvimento de rações específicas com ingredientes que possam contribuir para melhorar a qualidade nutricional da carne do camarão, fornecendo aos consumidores produtos com melhor composição corporal.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Estudar o efeito da suplementação de biomassa fermentada proveniente de casca da mandioca vermelha (*Manihot esculenta*) na composição corporal e qualidade da carne do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*.

2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a qualidade nutricional da carne de camarão suplementado com biomassa fermentada de casca da mandioca vermelha (*Manihot esculenta*);

Avaliar o perfil de ácidos graxos da carne de camarão suplementado com biomassa fermentada de casca da mandioca vermelha (*Manihot esculenta*);

Estudar a influência da suplementação com biomassa fermentada na composição corporal dos camarões durante teste de armazenamento da carcaça em condições comerciais (-20 °C) no período de três, seis e nove meses.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Serão tratados neste capítulo a carcinicultura mundial e a espécie *Macrobrachium rosenbergii*, seu cultivo no Brasil e no mundo e as necessidades nutricionais deste animal; além de composição corporal, a qualidade da carne e procedimentos pós-pesca do camarão; A levedura *Yarrowia lipolytica*, biomassa fermentada de casca de mandioca e sua aplicação em dieta de camarões.

3.1 CARNICULTURA E *Macrobrachium rosenbergii*

A carcinicultura é praticada mundialmente, com maior ou menor intensidade, variando entre os continentes, seja ela marinha ou de água doce (continental) (ORMOND et al., 2004). A carcinicultura de água doce possui características promissoras, o que faz com que venha ganhando maior ênfase mundial. Esta atividade é considerada de baixo impacto ambiental, atendendo aos princípios da aquicultura sustentável, pois pode envolver mão de obra familiar, seu cultivo molda-se facilmente às condições regionais, como relevo, clima e condições socioeconômicas (Rodrigues e Zimmermann, 2004). Além disso, destaca-se como vantagens da produção de camarão de água doce a possibilidade de cultivo longe de áreas litorâneas, maior resistência a doenças em comparação aos camarões marinhos, menores densidades de cultivo, sendo assim, mais sustentável, além de oferecer opções de policultivo. A sua produção pode ser de pequena a larga escala (pequenas médias e grandes propriedades) e pode ser considerada menos dispendiosa em relação à mão de obra quando comparada com o cultivo de camarões marinhos (NEW, 2000).

O gênero mais comum de camarão de água doce é o *Macrobrachium*, pertencente à família Palaemonidae, com aproximadamente 243 espécies catalogadas (DE GRAVE, FRANSEN, 2011), sendo que dentre essas espécies a mais utilizada para cultivo é a *Macrobrachium rosenbergii*. Esta espécie está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais do indo-Pacífico e em diversos Países do sudeste Asiático. A produção mundial dessa espécie vem crescendo nos últimos anos, sendo que, em 2012 a produção foi de 216 mil toneladas, passando para 234 mil toneladas em 2018 (FAO, 2020).

Essa espécie foi introduzida no Brasil na década de 70, se adaptando muito bem ao clima tropical brasileiro. Mesmo com a disseminação do seu cultivo ao longo do tempo, o Brasil ainda apresenta números modestos em termos de produção, mas com potencial para crescimento. Em 2018 houve um aumento do cultivo de 11,4% comparado ao ano anterior, com uma produção

nacional de 45,8 mil toneladas de camarão criado em cativeiro, o que mostra que o país ainda possui grande potencial para ser explorado (IBGE, 2018).

Esta é uma espécie considerada rústica, fecunda, precoce e fértil, adapta-se bem às variações de temperatura (Figura 1) além de possuir maior resistência das larvas a concentrações elevadas de amônia, nitrito e nitrato (VALENTI, 2002). Outras características importantes são a sua resistência à doenças, possuir facilidade na criação, apresentar crescimento acelerado, além de ter boa sobrevivência em tanques, ser pouco agressivo e agradáveis ao paladar (NEW, 2000). Além disso, dependendo da nutrição ofertada, o período de cultivo pode ser de 4 a 6 meses, permitindo duas safras ao ano (VALENTI, 1996; SAMPAIO et al., 2009; HOLTHUIS, 2010; FAO, 2012).

Figura 1 - *Macrobrachium rosenbergii* adulto.



Fonte: FAO, 2020. <http://www.fao.org/fishery/affris/phototheque/giant-river-prawn/fr>

As fases de criação do camarão de água doce são a reprodução – desde a manutenção dos reprodutores até a eclosão das larvas; a larvicultura – período compreendido entre a eclosão das larvas e a metamorfose a pós-larvas; a recria ou engorda – fase de crescimento dos animais a partir das pós-larvas até atingirem a idade adulta (VALENTI, 2002). Durante a fase larval, o camarão é totalmente dependente de água salobra a salgada (salinidade de 12 a 16%), já na fase juvenil e adulta adapta-se melhor à água doce. Pode chegar a pesar 500 g e 32 cm de comprimento, porém, em condições de cultivo, geralmente são despescados com peso variando de 20 a 50 g. Os sistemas de cultivo podem ser extensivos, semi-intensivos e intensivos,

podendo ser cultivados em monocultivos ou policultivos (VALENTI, 2002; VALENTI, MALASSEN, 2009).

Considerando o ciclo produtivo do camarão de água doce, é de extrema importância o controle de temperatura, salinidade, fotoperíodo, tipo da alimentação ofertada, visto que estes influenciam no crescimento, reprodução e qualidade de ovos, larvas e pós-larvas do camarão (Rodrigues e Zimmermann, 2004). Dentre os diversos fatores, a nutrição constitui o suporte mais importante da produção animal e um dos principais responsáveis pelo sucesso dessa exploração. Atualmente, as pesquisas são dirigidas para determinar requerimentos nutricionais em níveis mais econômicos e procurar alimentos alternativos, de modo a alimentar os animais e produzi-los a custos economicamente menores.

O camarão é um animal bentônico e sua dieta baseia-se em organismos zoobentônicos e vegetais (VALENTI, 1998). Na natureza alimenta-se de vermes, moluscos, larvas, insetos aquáticos, algas, plantas aquáticas, folhas, sementes e frutas, e a falta de alimento pode levar ao canibalismo (VALENTI, 2002).

O *M. rosenbergii* necessita de diferentes regimes alimentares durante seu ciclo de vida, com especial atenção ao aporte de proteína, carboidrato e lipídeo. Este animal possui hábito alimentar onívoro, o que facilita sua adaptação a diferentes dietas. Este animal necessita de 30 a 35% de proteína na dieta, sendo baseada nos aminoácidos essenciais que a espécie não sintetiza (arginina, histidina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) (TERRAZAS-VIERRO et al., 2010). Devido a isso, a quantidade e qualidade da proteína disponibilizada são cruciais para oferta adequada dos aminoácidos essenciais para a síntese de proteína tecidual (RICHARD et al., 2011).

Os carboidratos e lipídeos servem basicamente como fonte de energia ao animal, sendo que as suas necessidades nutricionais são menos conhecidas comparadas a de proteína. O conteúdo de lipídeos da dieta também está relacionado às necessidades de ácidos graxos essenciais, fosfolipídeos e colesterol que estes animais não sintetizam. De acordo com alguns estudos, os níveis médios de lipídeos na dieta variam entre 2 a 8% não ultrapassando 10%, nível considerado alto e que os animais não conseguem metabolizar eficientemente (ZIMMERMANN, 1998; D'ABRAMO, NEW, 2010).

Para os carboidratos, as quantidades que podem ser metabolizadas eficientemente como fonte de energia pelo *M. rosenbergii* estão diretamente relacionadas à sua capacidade digestiva, em função da atividade das enzimas presentes no trato digestivo do animal. Os carboidratos absorvidos desempenham o principal papel como fonte de energia e além disso, também são

importantes para o armazenamento de energia na forma de glicogênio, na síntese de quitina, esteróides e ácidos graxos (D'ABRAMO, NEW, 2010).

O crescimento do *M. rosenbergii* é descontínuo, ocorrendo através de várias mudas onde o exoesqueleto antigo é liberado formando um novo. Durante essas mudas, as necessidades nutricionais aumentam, sendo supridas por intenso catabolismo de tecidos, reservas acumuladas e da dieta (NEW, 2002; BROWN, NEW, ISMAEL, 2010). Além disso, na fase de reprodução os animais também exigem significativa mobilização de energia. Diversos estudos demonstram que a nutrição dos reprodutores ao longo da vida influencia a qualidade dos ovos, a saúde e desempenho das larvas e pós-larvas (D'ABRAMO, 1998; MUKHOPADHYAY et al., 2003).

De maneira geral, as dietas formuladas são uma mistura de ingredientes adicionados em distintas proporções para fornecer a quantidade desejada de nutrientes. Devido ao seu hábito alimentar onívoro, existe uma grande diversidade de ingredientes que podem ser utilizados nas formulações de rações para camarões e, dessa forma, garantir o funcionamento de seus processos fisiológicos e metabólicos, assegurando adequado crescimento, saúde e reprodução (WOUTERS et al., 2001; WATANABE, KIRON, 1994; IZQUIERDO, TANDLER, SALHI, 2001; D'ABRAMO, NEW, 2010).

3.2 PÓS-PESCA, COMPOSIÇÃO CORPORAL E QUALIDADE DA CARNE DE CAMARÃO

A carne do camarão é altamente perecível, isso se deve a sua elevada atividade de água, alto teor de gorduras insaturadas e pH próximo da neutralidade, devido a isso, o risco de deterioração do produto é alto se não forem observados os cuidados necessários após a despesca do animal. Para evitar deterioração é necessário que os procedimentos na carne sejam realizados ao menor tempo possível e em temperatura adequada (FORTUNA, FRANCO, 2013).

Se esses procedimentos desde a despesca até o armazenamento do animal forem realizados de forma adequada, a carne apresentará a qualidade que o mercado exige, permitindo a conquista de novos mercados consumidores e, conseqüentemente, o sucesso econômico da carcinicultura (PORTELLA, SANT'ANA, VALENTI, 2013).

Nos últimos anos, além de exigir um produto com qualidade microbiológica e sensorial o mercado consumidor passou a exigir também alimentos com composição química benéfica a saúde, o que promoveu o aumento do consumo de animais aquáticos devido aos benefícios da carne. Dentre estes animais está o camarão que é uma boa opção de alimento saudável, por ser

uma boa fonte de proteínas e ácidos graxos poli-insaturados como eicosapentaenoico-EPA (C20:5 ω 3) e docosahexaenóico-DHA (C22:6 ω 3), além de minerais como magnésio, cálcio e ferro e vitaminas lipossolúveis (MOREIRA et al., 2001).

Os camarões de água doce apresentam maior concentração de alguns compostos comparados aos de água salgada, como lipídeos (3,18% em camarão de água doce e 1,33% em água salgada), triglicérides (730 *versus* 213 mg/g de água salgada) e ácidos graxos poli-insaturados (16,2% *versus* 2,9%). Dentre as diferentes espécies de camarão de água doce o *M. rosenbergii* merece destaque devido a sua composição (NEW, KUTTY, 2010).

Segundo Furuya et al., (2006) a carcaça do *M. rosenbergii* possui cerca de 76,2% de umidade, 20,7% de proteína, 0,7% de lipídeos e 1,2% de cinzas. Além disso, apresenta boa fonte de ácidos graxos com destaque para o ácido palmítico-C16:0 (18,2%), EPA (13,9%), oleico-C18:1 ω 9 (9,4%), linolênico-C20:3 ω 3 (9,5%) e DHA (6,5%) e pode ser utilizado diretamente na alimentação humana, ou indiretamente, se incorporado em dietas para peixes objetivando melhorar sua composição em ácidos graxos para posterior consumo humano (NEW, KUTTY, 2010).

Além de ser fonte de ácidos graxos, o *M. rosenbergii* apresenta todos os aminoácidos essenciais (lisina, metionina, treonina, triptofano, isoleucina, leucina, fenilalanina e valina) que não são sintetizados pelo corpo humano, mas necessários para seu funcionamento normal (LEHNINGER et al., 2006). Em crustáceos, os aminoácidos apresentam função de osmorreguladores e, além disso, são grandes responsáveis pelo sabor dos camarões. A glicina é o maior responsável pelo sabor adocicado e arginina, leucina, ácido glutâmico e prolina também apresentam grande participação, contribuindo com o sabor característico do camarão (McCOID et al., 1984). A carne de camarão apresenta também pigmentos carotenoides, com quantidade considerável de astaxantina que é responsável pela cor característica destes animais e β -caroteno (OGAWA et al., 2007; ZIMMERMANN, 1998).

Sabe-se que a composição química do animal pode ser influenciada pela alimentação que ele recebeu, devido a isso, a composição da dieta ofertada ao animal é importante para a acumulação de nutrientes de interesse da nutrição humana na carne (PORTELLA, SANT'ANA, VALENTI, 2013). Há diversos estudos que suplementaram a ração animal e obtiveram melhora na composição corporal. Ayiku et al., (2020) estudaram os efeitos da levedura *S. cerevisiae* no crescimento do camarão e a resistência a doenças, suplementando na ração animal com 1% e 2% de levedura. Esta levedura foi utilizada por apresentar boas quantidades de proteínas, que são cruciais para o camarão. Após oito semanas de suplementação os autores observaram

melhora significativa no ganho de peso e crescimento, além de melhora da resposta imune nos animais que receberam suplementação comparados ao controle.

Ayiku et al., (2020) observou também aumento da concentração de matéria seca nos tratamentos adicionados de levedura, comparados ao controle. No entanto, para proteínas, cinzas e lipídeos houve aumento significativo na suplementação com 2% de levedura. Os autores recomendaram suplementação com 2% da levedura na dieta do camarão devido aos benefícios na composição química da carne do animal.

Aumento de proteínas também foi encontrado por Yang et al., (2015) que avaliaram a substituição de farinha de peixe por farelo de soja extrusado em dieta de juvenis de *L. vannamei*, observando que até 20% da ração poderia ser substituída por farelo de soja, pois promoveu aumento de proteína na composição corporal do animal. Ainda, os autores observaram que dietas com substituição acima de 20% apresentavam prejuízo ao crescimento do animal e na composição corporal.

Qiu e Davis (2017) avaliaram dietas de camarões suplementadas com biomassa fermentada de soja (25, 50 e 100 g/kg), e observaram aumento no crescimento dos animais suplementados com até 50 g/kg e decréscimo no crescimento em animais suplementados com 100 g/kg. Além disso, a quantidade de aminoácidos na carcaça dos animais aumentou nos suplementados com biomassa, com destaque para a concentração de arginina, ácido aspártico, cisteína, leucina, triptofano e tirosina .

Desta forma, a aplicação de ingredientes para aumentar o aporte de nutrientes na ração de camarões pode auxiliar na melhora do desempenho produtivo dos animais, com consequente melhora na composição corporal destes e, aumento da disponibilidade de alimentos com composição química de qualidade nutricional superior, satisfazendo o mercado consumidor.

3.3. LEVEDURA *Yarrowia lipolytica*, BIOMASSA FERMENTADA DE CASCA DE MANDIOCA E APLICAÇÃO NA DIETA DE CAMARÕES

As rações convencionais para camarões contem quantidade significativa de proteína (35% a 55%) para auxiliar no crescimento e devem possuir alta digestibilidade, perfil de aminoácidos otimizado e balanço iônico, sendo geralmente fabricadas com derivados de ingredientes marinhos como farinha e óleo de peixe. A farinha de peixe apresenta ótimo valor nutricional, com quantidade considerável de proteínas e bom perfil de aminoácidos essenciais, enquanto o óleo de peixe, adicionado à ração em uma concentração de até 20%, é uma boa fonte de lipídeos, sendo rico em ácidos graxos como o eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico

(DHA) (PIKE, JACKSON, 2010; SOOKYING, DAVIS, 2011).

Porém esses ingredientes marinhos estão se tornando muito caros, o que torna o custo da ração elevado. Para redução do custo na formulação das rações de animais aquáticos podem ser utilizadas fontes alternativas de proteína, como a proteína vegetal, que tem custo muito menor. No entanto, é necessário que esses produtos também ofereçam quantidade considerável de aminoácidos essenciais, que são encontrados nas rações que utilizam farinha de peixe em sua formulação. Alguns estudos indicam a utilização como fontes de proteína as sementes de algodão, milho e trigo, feijão e grãos secos como fonte de proteínas na formulação de rações, obtendo resultados semelhantes comparados com as rações comerciais (SOOKYING, DAVIS, 2011).

Outros estudos têm sido conduzidos para viabilizar a utilização de subprodutos agroindustriais como matérias-primas para a produção ingredientes com alto valor nutritivo e seu uso na alimentação animal. Uma vez que esses resíduos não possuem um destino específico na grande maioria dos casos tornando-se passivos ambientais quando não adequadamente tratados para o descarte. O aproveitamento biotecnológico desses resíduos, feito através da fermentação por microrganismos, além de diminuir o teor de poluentes amplia as oportunidades de agregação de valor. A obtenção de novos materiais, produtos, co-produtos e substâncias químicas a partir de resíduos agroindustriais tem encontrado espaço e vem sendo desenvolvida (ROSA et al., 2011). Alguns resíduos agroindustriais são ótimos substratos para fermentação, como palha, cascas, sementes, caules, pedúnculos, madeiras de coníferas e folhosas (MORALES et al., 2017).

Uma fonte potencial para aplicação em processos fermentativos é a mandioca vermelha (*Manihot esculenta*) (Figura 2). A mandioca é uma planta tuberosa, originária do Nordeste Brasileiro (TELLES, 1995), possui nomes populares em cada região, como aipim e macaxeira. A planta é dividida em parte aérea (acima do solo) e raízes (abaixo do solo). A parte aérea é composta de talos, pecíolos e folhas, sendo ricas em proteínas, fibras e quantidade considerável de aminoácidos essenciais (ORESEGUN et al., 2016). As raízes apresentam elevado teor de carboidratos não estrutural, destacando-se o amido, sendo a parte da planta a mais comercializada (COÊLHO, 2018).

Figura 2 - *Manihot esculenta*



Fonte: <https://www.tneutron.net/pangan/cassava-manihot-esculenta-crantz/>

Geralmente, a maior parte do que é produzido vai para consumo humano, no entanto também é comum seu uso para consumo animal, utilizando a mandioca *in natura*, as folhas e caules ou subprodutos, possuindo valor nutricional considerável (TAKAHASHI, GONÇALO, 2005). O Brasil é um dos maiores produtores de mandioca do mundo, em 2019 foram produzidas 18,9 milhões de toneladas de mandioca e a produção estimada para 2020 é de 19,1 milhões de toneladas (CONAB, 2020). No entanto, diariamente os subprodutos gerados, como cascas, cepas, cruzeiras e farelo, são desperdiçados, levando a uma perda de recursos e gerando grande quantidade de resíduos que poderiam ser explorados (MORALES et al., 2018), além de que, se não descartados corretamente, podem ocasionar contaminação ambiental (CHENG et al., 2015; SANCHEZ et al., 2017).

Estes resíduos podem ser utilizados para diversos fins, como por exemplo a casca da mandioca pode ser utilizada para alimentação animal, na produção de biogás. Por outro lado, o bagaço que é um material fibroso, produzido no processamento do amido, pode ser utilizado como substrato para processos microbianos para obtenção de produtos suplementados (SANCHEZ et al., 2017).

Em estudo realizado por Morales et al., (2018) foi realizada a fermentação pelo fungo *Lentinula edodes*, utilizando o subproduto da mandioca (bagaço e folhas). A fermentação promoveu aumento da concentração de aminoácidos e ácidos graxos insaturados, aumento de 36,1% na quantidade de proteína bruta e aumento da digestibilidade. Além disso, após a fermentação ocorreu diminuição do cianeto, que está presente na folha da mandioca e que pode ser tóxico.

Os microrganismos (algas, bactérias, bolores e leveduras) são ótimas fontes de proteína unicelular (POU) através do processo de bioconversão, podendo ser utilizado os resíduos

agroindustriais como fonte de carbono (ANUPAMA, 2000). A proteína microbiana apresenta considerável digestibilidade, podendo ser utilizada como fonte proteica a ser incorporada na dieta, e tendo como vantagem substituir os suplementos proteicos convencionais na alimentação animal. O consumo de proteínas está relacionado às necessidades de ingestão de aminoácidos essenciais (AAE). Estes nutrientes exercem papel determinante na eficiência do metabolismo do organismo, estando diretamente ligados à síntese de proteínas, regulação de processos celulares, precursores de moléculas, entre outros (PEREIRA, et al., 2013).

O emprego de biomassa microbiana possui como vantagens a alta velocidade de crescimento dos microrganismos, permitindo o cultivo em substratos diversos com baixo custo, além de apresentar elevado teor proteico. A produção de biomassa de leveduras tem grande potencial econômico para substituir as tradicionais fontes de proteína em rações, além disso, estes microrganismos podem produzir açúcares redutores e ácidos graxos insaturados, altamente recomendados na alimentação animal (ÁLVAREZ- SÁNCHEZ et al., 2018; MORALES et al., 2018).

Nos últimos anos a utilização de leveduras para formulação de ração principalmente de peixes tornou-se frequente, podendo ser utilizada também na alimentação de outros animais aquáticos como o camarão. As leveduras são maiores em tamanho que as bactérias sendo mais fáceis de manusear e apresentam melhor capacidade de crescimento, podendo crescer em meios simples com densidade elevada e custo baixo (HAUPTMAN et al., 2014).

A levedura *Yarrowia lipolytica* é aeróbica estrita, certificada como GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pela *Food and Drug Administration* (FDA), considerada uma das leveduras não convencionais com maior potencial para aplicações biotecnológicas (LIU, HUANG, 2015). Tem como característica importante a sua capacidade de acumular altos níveis de lipídeos (HATLEN et al., 2012). As leveduras podem ser utilizadas como aditivos ou complementos na formulação de diferentes tipos de alimentos para consumo animal e humano por conter boa fonte de proteínas, vitaminas do complexo B, minerais essenciais e fibra dietética. Além disso, a levedura excreta naturalmente várias proteínas no meio de cultura (MADZAK et al., 2004).

A *Y. lipolytica* é utilizada em diversos processos biotecnológicos, sendo a sua biomassa fonte de muitas pesquisas. Nos últimos anos, tornou-se comum a utilização de resíduos da agroindústria na produção de proteína resultante de processos fermentativos de fungos e leveduras (RAJOKA et al., 2006; BERGE et al., 2013; HATLEN et al., 2012; YAN et al., 2018). Na bioconversão, processo que utiliza microrganismos para produção de compostos de interesse, a partir de matéria orgânica, ocorre um aumento da biodisponibilidade de nutrientes

a partir de produtos com baixo conteúdo de proteínas tornando esses resíduos ricos em nutrientes, tendo como vantagem o baixo custo na sua utilização (ANUPAMA, 2000; MORALES et al., 2018).

A utilização das leveduras em rações para organismos aquáticos pode aumentar o desempenho produtivo e aumentar a resistência a infecções bacterianas em peixes (SAKAI, 2001). Além disso, há indicativo de que a sua utilização em rações favorece o crescimento do animal e aumento do teor proteico da carne (FURUYA et al., 2001; GLENCROSS et al., 2015; QIU, DAVIS, 2017). Segundo estudo de Tacon e Metian (2015) em 2025 estima-se que serão necessários 37,4 milhões de toneladas de peixes forrageiros para produção de ingredientes como farinha e óleo de peixe para rações animais, tornando-se insustentável a dependência exclusiva desses ingredientes em rações, uma vez que o consumo de animais aquáticos esteja aumentando 1,5% ao ano em nível global (FAO, 2018). Devido a isso, é crucial a pesquisa de novos ingredientes como fontes alternativas de proteína, e entre estes está a utilização de leveduras (HUA et al., 2019).

Timothée et al., (2020) estudou o efeito de hidrolisado de levedura na dieta da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), o hidrolisado melhorou a eficiência proteica, aumentando o desempenho de crescimento e a resposta antioxidante do peixe, os animais alimentados com 1% de levedura apresentaram nível de malondialdeído (MDA) mais baixo do que o controle.

Glencross et al., (2015) estudou o efeito da biomassa microbiana no camarão *Penaeus monodon*, obtendo aumento da composição de proteínas e lipídeos e ótimo crescimento do animal com a adição da biomassa na ração, verificando que a proteína necessária na dieta do animal poderia ser substituída por biomassa, sem dano ao crescimento do animal.

Guo et al., (2019) avaliou a utilização da levedura *S.cerevisiae* na dieta de camarões *L. vannamei*, foram utilizadas 0, 60, 120, 180 e 240 g/kg da levedura em substituição à farinha de peixe na ração não ocorrendo diferenças significativas na biomassa final, sobrevivência, teor proteico e crescimento dos animais. Berge et al., (2013) utilizou a cepa da *Y. lipolytica* na ração de salmão do Atlântico, observando aumento de ácido eicosapentaenóico (EPA) na carcaça dos animais.

A utilização da levedura na dieta de animais aquáticos apresenta diversas vantagens para o animal: promove melhor eficiência proteica, acumula lipídeos e aumenta o teor de ácidos graxos benéficos para a saúde como o ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosapentaenoico (EPA), auxiliando no crescimento, melhorando a saúde do animal, estimulando o sistema imunológico reduzindo o risco de doenças, com consequente diminuição de custos ao produtor, além disso, apresenta baixo custo de utilização. Devido aos diversos

benefícios, a levedura e sua biomassa seriam boas opções a serem utilizadas na ração do camarão (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2018; FURUYA et al., 2001; PATSIOS et al., 2020).

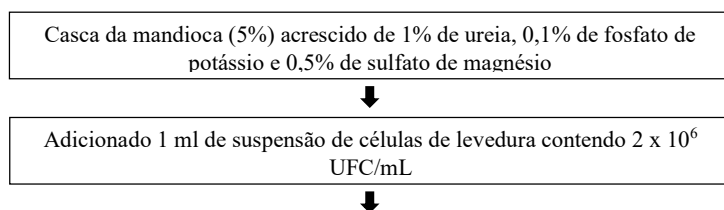
4. MATERIAL E MÉTODOS

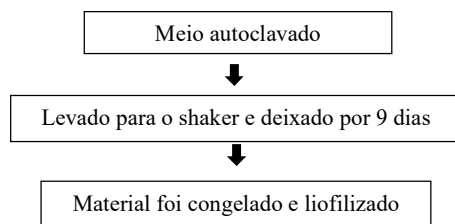
4.1. BIOMASSA FERMENTADA

A biomassa fermentada de *Yarrowia lipolytica* utilizada na suplementação das rações foi doada pelo Professor Dr. Thiago Bergler Bitencourt, da UFFS. As condições de cultivo e fermentação foram padronizadas por Souza et al., (2019). Os resíduos da casca foram armazenados a -10°C, descongelados e secos em estufa a 50 °C por 24 horas e armazenados a temperatura ambiente até a utilização. O inóculo contendo as células da levedura, foi preparado com ágar GYP contendo glicose 2%, peptona 1%, extrato de levedura 0,5% e ágar 2%, sendo a levedura isolada por esgotamento e incubada a 28 °C por 48 horas. Após esse período algumas colônias foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de solução salina para realização de leitura da densidade óptica (500 nm) até absorvância de 0,104, que corresponde ao tubo 0,5 da escala de McFarland e 2×10^6 UFC/mL de células de *Y. lipolytica* QU69 (MCFARLAND, 1970).

O processo de bioconversão foi realizado utilizando a casca de mandioca como fonte de carbono. A fermentação foi realizada em agitador orbital tipo shaker a 40 °C a 150 rpm, com meio mineral de suplementação da levedura composto de 5% de fonte de carbono, 1 % de ureia, 0,1% de fosfato de potássio, e 0,5% de sulfato de magnésio (SANTOS et al., 2013) com modificações. Esse meio foi autoclavado e adicionado 1 mL de suspensão de células da levedura contendo 2×10^6 UFC/mL, posteriormente foi levado para o shaker e deixado por 9 dias. Depois desse processo de 9 dias, o material foi congelado (-80 °C) e liofilizado (Liotop L101, São Paulo) para posterior adição nas rações.

Fluxograma 1. Fluxograma da produção da biomassa fermentada





Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

4.2 LOCAL E INSTALAÇÕES

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Patologia, Bioquímica e Genética, Análise de Alimentos, Central de Análises e também em estufa agrícola pertencentes à Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, campus Laranjeiras do Sul, PR. Os camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* utilizados foram provenientes da unidade amostral de carcinicultura de água doce em estufa agrícola da UFFS campus Laranjeiras do Sul.

A água utilizada no cultivo dos camarões era oriunda do abastecimento da própria universidade. A fim de garantir a qualidade e visando a economicidade da água do meio ambiente, foi utilizado sistema de recirculação com biofiltro e reservatório em fluxo contínuo, dotado de bomba com capacidade de vazão média de 200 L/h. O biofiltro foi montado em caixas d'água com capacidade para 500 L. No interior dos biofiltros foram inseridas pedras britadas e partículas/pedaços de tubulações de eletrodutos, cortados de maneira homogênea, com dimensões de 2 cm. Os biofiltros ainda contaram com aeração contínua e aquecedor com termostato, visando a manutenção de boas taxas de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura da água constante. Fizeram parte da estrutura do experimento caixas d'água com capacidade para 500 L cada. Diariamente foi coletada e registrada a temperatura da água bem como semanalmente foram mensurados os seguintes parâmetros: amônia, nitrito, alcalinidade, dureza, pH e OD no sistema de cultivo.

4.3 RAÇÕES

As rações utilizadas na alimentação das pós-larvas até os animais adultos foram formuladas a partir de modelos comerciais existentes no mercado (Bernaqua Vitellus®) específicas para estes animais nas diferentes fases de vida e também, baseados na literatura

sobre o assunto (NEW, 2002; D'ABRAMO, NEW, 2010). A biomassa fermentada da *Y. lipolytica* foi adicionado na ração nas percentagens de 3, 5 e 10%. Sendo escolhida essas concentrações pois são valores que apresentam maior palatabilidade ao animal.

O processo de fabricação das rações foi realizado junto ao Laboratório de Nutrição na UFFS campus Laranjeiras do Sul, sob supervisão e acompanhamento do técnico responsável. Todos os ingredientes secos foram moídos e peneirados (abertura 1 mm) para padronização da granulométrica. Posteriormente os ingredientes foram homogeneizados manualmente em sacos plásticos e em seguida adicionados do óleo e água, até obtenção do ponto da massa (Tabela 1). A massa foi então processada em pelletizadora multi-furos e seca em estufa de secagem (Solab[®], modelo SL-100, Piracicaba-SP) por 8 horas em temperatura inferior a 40 °C. Após a secagem, as rações foram armazenadas em potes de polietileno com tampa do tipo rosca em freezer a -20 °C.

Tabela 1. Formulação das rações utilizadas nos tratamentos

| Ingredientes | Controle | T1 (3%) | T2 (5%) | T3 (10%) |
|-------------------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|
| | (g) | (g) | (g) | (g) |
| Farinha de peixe | 390 | 370 | 360 | 330 |
| Farelo de soja | 340 | 320 | 300 | 270 |
| Farelo de trigo | 70 | 70 | 90 | 90 |
| Amido de milho* | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Farinha de milho | 70 | 80 | 70 | 80 |
| Óleo fígado bacalhau | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Óleo de soja* | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Suplemento vitamínico*# | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Levedura | 0 | 30 | 50 | 100 |

*Quantidade para 1 kg (média) de cada ração por tratamento.

Suplemento vitamínico*#: Nutridrink MAX, Danone[®] sem sabor. Composição nutricional a cada 100 g: valor energético: 430 kcal, carboidratos: 54 g; proteínas: 22 g; gorduras totais: 14 g. gorduras saturadas: 3,4 g; fibra alimentar: 3,5 g; potássio: 693 mg; cálcio: 519 mg; ferro: 7,0 mg; fósforo: 281 mg; magnésio: 74 mg; manganês: 1,3 mg; zinco: 5,2 mg; sódio: 314 mg; selênio: 26 µg; Vit.A: 419 µg; Vit. D: 6,5 µg; Vit. E: 5,2 mg; Vit. K: 23 µg; Vit. B1: 0,58 mg; Vit. B2: 0,73 mg; Vit B6: 0,73 mg; Vit. C: 44 mg; Vit. B12: 1,2 µg; colina: 150 mg; biotina: 12 µg; ácido fólico: 112 µg; ácido pantotênico: 2,3 mg; niacina: 4,2 mg; iodo: 56 µg; cromo: 20 µg; molibdênio: 44 µg; flúor: 0,45 mg; cobre: 754 µg; cloro: 392 mg.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

4.4 ANIMAIS, TRATAMENTOS E COLETA DE AMOSTRAS

O delineamento experimental foi realizado utilizando-se quatro tratamentos: as pós-larvas foram divididas em diferentes grupos, controle e suplementados com biomassa fermentada: o grupo controle (TC) recebeu ração balanceada baseada em ração comercial sem adição de biomassa fermentada; o grupo de tratamento 1 (T1) recebeu ração balanceada suplementada com 3% de biomassa fermentada; o grupo de tratamento 2 (T2) recebeu ração balanceada suplementada com 5% de biomassa fermentada. O grupo de tratamento 3 (T3) recebeu ração suplementada com 10% de biomassa. A biomassa foi adicionada na ração em substituição a farinha de peixe e farelo de soja. A ração foi fornecida em quantidade de 10% em relação a biomassa corporal total dos animais, dividida em duas alimentações diárias, uma pela manhã e outra na parte da tarde. O crescimento e a alimentação dos animais foram acompanhados e adequações nas taxas de alimentação foram realizadas durante o período de suplementação, caso houvesse necessidade. Os animais foram dispostos em tanques com capacidade para 500 L sendo a densidade inicial de estocagem de 0,4 animais por litro (200 animais). O período de suplementação teve duração de 50 dias sendo que neste período foi realizado o acompanhamento diário dos animais.

Ao final do período de suplementação os animais foram coletados, anestesiados em banho de gelo e eutanasiados por aprofundamento do estado anestésico em banho de gelo para processamento e avaliação de carcaça/carne. Para as análises posteriores, os animais foram mantidos em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, enquanto para a avaliação do tempo de armazenamento, os animais foram mantidos em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA CARNE DE CAMARÃO

Foram realizadas as análises de composição química, atividade de água, acidez titulável, pH, determinação do conteúdo de proteína carbonilada, análise da peroxidação de lipídeos (TBARS), bases voláteis e perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa após o abate do animal.

4.5.1 Composição química

O conteúdo de umidade foi determinado em estufa com circulação de ar a 105 °C até peso constante. Inicialmente os cadinhos numerados foram secos em estufa, colocados em dessecador por 30 minutos, adicionado 2 g de amostra, secos na estufa por 12 horas até peso constante. Os cadinhos foram pesados e a mesma amostra foi utilizada para análise de conteúdo de cinzas. Esta análise foi determinada através do resíduo da incineração em mufla à 550 °C por 6 h (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

Para determinação do teor de proteína bruta foi utilizado o método de Micro Kjeldahl para determinar o nitrogênio total, através da conversão em proteína pelo fator de conversão 6,25, que é utilizado para alimentos em geral (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008). Inicialmente foi pesado 0,2 g da amostra e adicionada ao balão de Kjeldahl com 1,5 g de mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio (1:3) e 7 mL de ácido sulfúrico concentrado, levando o balão ao conjunto digestor, onde a temperatura foi lentamente aumentada em intervalos de 50 °C a cada 15 min até 350 °C. A digestão ficou completa quando a solução ficou clara (verde claro) quase transparente (em torno de 4 horas). Depois o tubo macro Kjeldahl foi conectado no conjunto de destilação, a temperatura do destilador foi aumentada vagarosamente e também foi adicionado aos poucos a solução de hidróxido de sódio a 40% até a solução do tubo tornar-se escura (marrom “barro”). Na saída do condensador foi deixado um erlenmeyer com 25 mL de solução de ácido bórico (2%) com 3 gotas de indicador misto, onde foi coletado um volume de destilado de cerca de 50 mL. Por fim, o Erlenmeyer com o destilado foi usado para a titulação com solução de HCl (0,1M) até a viragem, realizando o branco nas mesmas condições. A partir dos valores da titulação foram realizados os cálculos de proteína que foram expressos em porcentagem (%).

O conteúdo de lipídeos foi determinado através da extração a frio com o método de Bligh-Dyer (BLIGH-DYER, 1959). Foram pesados 1 g amostra em um béquer de 100 mL e adicionado 10 mL de clorofórmio e 10 mL de metanol deixando no agitador rotativo por 30 minutos e em seguida foi adicionado mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5% e deixando agitar por mais 5 minutos. Posteriormente deixou a solução em repouso para separação das fases. Descartou-se a camada superior e foi retirado 15 mL da camada inferior (clorofórmio) em um tubo de 30 mL adicionando-se em seguida 1 g de sulfato de sódio anidro, tampando e agitando para remover traços de água. Posteriormente esta solução foi filtrada e transferido 5 mL para um béquer de 50 mL previamente tarado, deixando na estufa a 80°C até evaporar o solvente (15-20 minutos) e por fim foi pesado em balança analítica. Foram realizados os cálculos para concentração de lipídeos e os valores expressos em porcentagem (%).

4.5.2 Atividade de água

A atividade de água (aw) foi determinada com leitura direta em equipamento determinador de aw (Aqualab, Tecnal, Piracicaba-SP) a 25°C.

4.5.3 Acidez titulável, pH

A acidez titulável foi determinada por titulação de neutralização com NaOH. A amostra foi pesada, transferida para Erlenmeyer de 125 mL com 50 mL de água, adicionado 2 gotas de solução fenolftaleína e titulada com solução de hidróxido de sódio 0,01 M até coloração rosa (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

O pH foi determinado por potenciometria com leitura direta em pHmetro após diluição em 10 mL de água (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

4.5.4 Determinação do conteúdo de proteína carbonilada

O dano oxidativo a proteínas por carbonilação foi determinado na amostra pelo método descrito por Levine et al., (1994). Inicialmente foram adicionados 100 µL do sobrenadante dos homogenatos da carne em 600 µL de DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina) 10 Mm preparado em solução de HCl 2 N, seguido de uma incubação durante 1 hora à temperatura ambiente protegido da luz, com agitação contínua. Após, foi adicionado 600 µL de ácido tricloroacético (TCA) 28 % com agitação seguido de banho de gelo durante 10 min, e centrifugação (5 min a 10.000 xg) e o sobrenadante foi descartado. O pellet foi lavado por três vezes consecutivas (centrifugação por 5 min a 10.000 xg), com 800 µL de etanol-acetato de etila (1:1 v/v). Finalmente, o pellet foi ressuspendido com 900 µL de hidrocloreto de guanidina 6,0 M, centrifugado a 9000 xg a 4 °C por 3 min e o sobrenadante transferido para microplaca de 96 poços para leitura a 360 nm. A concentração de proteína carbonilada foi expressa em nmol mg de proteína⁻¹.

4.5.5. Análise da peroxidação de lipídeos -TBARS

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram medidos no sobrenadante dos homogenatos da carne. Para preparação da amostra o meio contendo alíquota de 60 µL da amostra e 120 µL ácido tricloroacético (TCA) 10% foi agitado em vórtex, deixado em banho de gelo por 5 minutos e centrifugado por 5 minutos a 12000 rpm a 4 °C. Após, 40 µL do sobrenadante foi incubado com meio de reação contendo hidroxitoluenobutilado (BHT) 0,007 mg/mL em etanol 95%, ácido tiobarbitúrico (TBA) 3,1

mg/mL em NaOH 0,3%, TCA 7,9% em PBS, em volume total de 315 μ L, durante 60 minutos a 60 °C. Posteriormente, o material foi resfriado e a mensuração do cromóforo rosa foi realizada espectrofotometricamente (Thermo Scientific, Multiskan GO, Estados Unidos) a 535 nm. Os valores foram expressos em nmol MDA⁻¹. mg proteína⁻¹, a partir de curva de calibração preparada com malondialdeído (MDA) nas mesmas condições de análise (FEDERICI, SHAW, HANDY, 2007).

4.5.6. Bases voláteis

A determinação das bases voláteis totais foi realizada através da destilação da amônia e as aminas voláteis por arraste de vapor, em meio levemente alcalino e quantificadas por titulação com solução ácida. Inicialmente a amostra foi pesada em béquer, transferida para tubo de destilação com água destilada, adicionado 2 g de óxido de magnésio, posteriormente foi feito a destilação por arraste de vapor em destilador de nitrogênio por 30 minutos, com a caldeira em temperatura média, o destilado foi recolhido em erlenmeyer de 250 mL, contendo solução de ácido bórico a 4% com indicador misto. Posteriormente foram tituladas as aminas voláteis com solução de ácido clorídrico 0,01 M até a viragem, de cor verde escuro para rosa (BRASIL, 2014b).

4.5.7. Perfil de ácidos graxos

A extração dos lipídios das amostras de carne das carcaças de camarão foi realizada pela extração a frio (BLIGH-DYER, 1959) e os lipídios obtidos foram esterificados usando o procedimento padrão da IUPAC (1987). As soluções contendo os ésteres dos ácidos graxos das amostras foram devidamente diluídas com n-hexano sendo injetadas no cromatógrafo 3 repetições de cada tratamento.

Para quantificação dos ácidos graxos preparou-se uma curva padrão nas concentrações de 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; e 15,0 μ g g⁻¹ a partir de solução estoque na concentração de 50 μ g g⁻¹. O limite de detecção foi calculado como sendo 3 vezes o desvio padrão (n = 10) para um padrão de ésteres de ácidos graxos na concentração de 0,1 μ g g⁻¹ considerando o fator de diluição das amostras e o limite de quantificação como sendo 3,3 vezes o limite de detecção.

O perfil dos ácidos graxos foi determinado utilizando cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massa (Shimadzu, modelo GCMS-QP2010 Ultra) com coluna capilar de sílica fundida DB 5 ms de 30 m com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,25 μ m usando hélio como gás de arraste, numa velocidade linear de 43 cm s⁻¹. Foram injetados 2 μ L de cada amostra ou padrão de maneira manual.

As condições de operação foram: injetor no modo splitless com temperatura de 260 °C; interface em 260 °C; temperatura programada da coluna: temperatura inicial 50°C com aquecimento numa taxa de 15 °C até 175 °C, aquecimento numa taxa de 2 °C até 230 °C e aquecimento numa taxa de 3 °C até 260 °C; espectrômetro de massa ajustado para varredura de 35 a 500 m/z. (Tabela 2)

Tabela 2. Temperatura programada da coluna

| Taxa (°C/min) | Temperatura (°C) | Tempo de espera (min) |
|---------------|------------------|-----------------------|
| - | 50.0 | 1.00 |
| 15.00 | 175.0 | 0 |
| 2.00 | 230.0 | 0 |
| 3.00 | 260.0 | 0 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

Os ácidos graxos foram identificados usando um padrão de ésteres metílicos (18919-1AMP, SIGMA-ALDRICH, EUA) através da comparação do tempo de retenção do éster metílico de cada ácido graxo e o espectro de massa referência da biblioteca NIST08.

4.6 TESTE DE ARMAZENAMENTO CONGELADO DA CARÇAÇA

O armazenamento congelado foi utilizado para simular as condições de armazenamento comercial e doméstico em freezer convencional (-20 ± 5 °C) durante nove meses. As amostras de cada tratamento (controle, 3%, 5% e 10% de biomassa) foram armazenadas em embalagens de polietileno contendo 15 g cada, sendo realizadas a cada 3 meses (Tempo inicial após abate, , três, seis e nove meses de armazenamento). Estes tempos foram utilizados pois alterações na carne tornam-se mais evidentes devido ao maior tempo de estocagem, até 3 meses de armazenamento é considerável um período intermediário com início de alterações indesejáveis, que se acentuam ao longo do tempo, podendo ser observado deterioração significativa até o 9º mês de armazenamento, onde já ocorreu o cessamento da proteção dos antioxidantes naturais presentes na carne contra oxidação e degradação da carne, com conseqüente propagação da reação de oxidação (QUEIRONGA et al., 2014). Em cada tempo de armazenamento foram realizadas as avaliações de pH (4.5.3), peroxidação lipídica (4.5.5), aminas e bases voláteis (4.5.6) e perfil de ácidos graxos (4.5.7) conforme descrito na metodologia.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos resultados experimentais são apresentados como média \pm desvio padrão. Os mesmos foram analisados por meio de análise de variância através do programa graphpad instat. A normalidade destes dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk à 5% de probabilidade e a homocedasticidade dos dados foi avaliada pelo teste de Bartlett. Para a comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey. O nível de significância adotada para os testes foi de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CARÇA FRESCA

5.1.1 Composição química

A composição centesimal representa a proporção de proteínas, lipídeos, cinzas e matéria seca presente na amostra, sendo uma análise importante para verificação do efeito da dieta ofertada no acúmulo de nutrientes na carne do animal (RIBEIRO, LOGATO, 2007). Há diversos fatores que interferem na composição química de animais aquáticos: a genética, origem geográfica, nível de domesticação, disponibilidade e qualidade dos alimentos e a estação do ano (PORTELLA, SANT'ANA, VALENTI, 2013). Na tabela 3 são apresentados os valores de umidade, cinzas, proteína e lipídeo da carcaça.

Tabela 3. Composição química da carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta.

| Variáveis | Tratamentos | | | |
|---------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|
| | Controle | 3% | 5% | 10% |
| Umidade (%) | 78,84 \pm 0,55 | 80,00 \pm 0,16 | 80,48 \pm 0,39* | 81,08 \pm 0,95* |
| Cinzas (%) | 1,403 \pm 0,156 | 1,291 \pm 0,339 | 1,286 \pm 0,052 | 1,263 \pm 0,097 |
| Proteína (%) | 21,78 \pm 2,24 | 18,56 \pm 1,92 | 21,53 \pm 1,27 | 21,26 \pm 4,76 |
| Lipídeos (%) | 0,267 \pm 0,036 | 0,272 \pm 0,016 [#] | 0,314 \pm 0,009* | 0,306 \pm 0,016* |

Dados apresentados em base úmida, como média \pm desvio padrão.

* $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo 5%.

O conteúdo de lipídeos apresentou diferença estatística nos tratamentos com adição de 5 e 10% de biomassa comparado ao grupo controle, ocorrendo um aumento da porcentagem de lipídeos. Gonçalves, Colen, Takahashi (2014) aponta que a *Y. lipolytica* tem a capacidade de transformar ácidos orgânicos em Acetil-coA, que pode ser utilizado na biossíntese de lipídeos, com isso, esta levedura pode ser capaz de acumular até 40% de lipídeos em sua biomassa, em condições de limitação de nutrientes, pode chegar a 70%.

A biomassa produzida por Souza et al., (2019) e que foi utilizada na fabricação das rações dos camarões apresentou aumento de 660% da concentração de lipídeos na biomassa após o processo de bioconversão utilizando a casca da mandioca. Eles analisaram a composição lipídica da casca da mandioca *in natura* e após a bioconversão. A casca de mandioca *in natura* apresentou $1,2 \pm 0,4$ (%) de lipídeos, já na biomassa apresentou $9,4 \pm 1,8$ (%), o que pode ter refletido no resultado deste estudo, com aumento da concentração de lipídeos conforme a adição de maior porcentagem de biomassa.

Além dos lipídeos, Souza et al., (2019) analisaram a concentração de proteína na casca *in natura* e na biomassa, obtendo $8,0 \pm 0,8$ (%) na casca *in natura* e $22,3 \pm 0,9$ (%) na biomassa, tendo um aumento de 179% da concentração. A bioconversão dos resíduos agrícolas é o processo que visa aumentar a biodisponibilidade de nutrientes, onde a levedura *Y. lipolytica* é capaz de utilizar material orgânico como a casca de mandioca transformando-a em produto com alto conteúdo proteico (GONÇALVES, CARVALHO, VIEGAS, 2010). Porém, nesse estudo não houve diferença estatística entre os tratamentos para o teor de proteína bruta, isso pode ser devido ao aminoácido ser utilizado na rota energética e não sendo utilizado a nível estrutural, sendo convertido em intermediário metabólico como a acetil-coenzima A (Acetil-coA) (GONÇALVES, COLEN, TAKAHASHI, 2014).

Além disso, durante o acúmulo de lipídeos na levedura, precursores como a Acetil-coA, glicerol, ATP e NADPH são utilizados para produzir lipídeos, suprimindo outras vias como a síntese proteica e de ácido nucleico e aumento da síntese de ácidos graxos e triglicerídeos, o que pode justificar o aumento de lipídeos nos tratamentos com maior adição de biomassa e ausência de aumento do conteúdo proteico (BEOPOULUS et al., 2009; GONÇALVES, COLEN, TAKAHASHI, 2014).

O teor de cinzas das carcaças de camarão não diferiu entre todas amostras ($p < 0,05$) (Tabela 3). Já para umidade, os tratamentos utilizando 5% e 10% de biomassa apresentaram diferença estatística comparado ao grupo controle, ocorrendo aumento da porcentagem de

umidade com maior adição de biomassa. O aumento da umidade pode estar relacionado com a concentração de lipídeos obtida, quanto maior adição da biomassa e aumento de lipídeos maior foi a concentração de umidade na carne, demonstrando que a umidade pode ter sido influenciada por maior teor de lipídeos (CORTEZ NETTO et al., 2010).

Na produção de organismos aquáticos diversos fatores podem influenciar a composição centesimal dos animais, no entanto, a alimentação é considerada fator determinante para a composição do tecido muscular e, especialmente, da composição de ácidos graxos dos lipídios deste tecido (MAIRESSE et al., 2006; SANTOS et al., 2007). Alguns estudos têm demonstrado que o uso de aditivos, como por exemplo, produtos naturais, na dieta de organismos aquáticos podem influenciar a composição corporal e desta forma o produto ofertado ao consumidor. Estudo de Seenivasan et al., (2011) demonstraram que a suplementação de pós-larvas de *M. rosenbergii* com levedura promoveram aumento no conteúdo de lipídeos corporal proporcional à quantidade de levedura adicionada na dieta. Além disso, outros estudos demonstraram que o uso de levedura intacta ou seus subprodutos promovem alterações no conteúdo de lipídeos de diferentes espécies de camarão (SAAD et al., 2009; PRASAD et al., 2013).

5.1.2. Atividade de água

A atividade de água (A_w) é considerada um dos parâmetros mais importantes para a conservação dos alimentos, sendo uma medida que permite avaliar a água que está disponível para reações físicas, químicas ou biológicas (BRASIL, 2014a).

Na tabela 4 estão os de atividade de água para a carcaça fresca. Como pode ser observado na tabela não houve diferença estatística para a atividade de água entre os tratamentos.

Tabela 4. Atividade de água na carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta.

| Variáveis | Tratamentos | | | |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Controle | 3% | 5% | 10% |
| Atividade de água | 0,942 ± 0,001 | 0,938 ± 0,002 | 0,940 ± 0,000 | 0,938 ± 0,000 |

Dados apresentados como média ± desvio padrão.

Os produtos derivados de animais aquáticos apresentam valor considerável de atividade de água o que torna a carne um produto altamente perecível, uma vez que quanto maior a atividade de água maior o risco de oxidação (OGAWA, MAIA, 1999). Além disso, alimentos que possuem valores de atividade de água acima de 0,9 são propícios ao desenvolvimento microbiológico e também são altamente susceptíveis a autólise de proteínas e gorduras, o que pode provocar alterações nas características no sabor, odor e segurança do alimento (SLADE, LEVINE, REID, 1991). Os resultados de atividade de água do camarão apresentados neste trabalho estão muito próximos aos relatados na literatura para pescados em geral (SADOK et al., 2004; OKPALA, 2015) e demonstram que a adição da levedura na dieta não modificou o conteúdo de água disponível na carne.

5.1.3. Acidez titulável e pH

Os ácidos presentes nos alimentos influenciam na qualidade sensorial dos produtos podendo causar alteração no sabor, odor e cor (ZINJARDE, 2014). A análise de potencial hidrogeniônico (pH) mede a concentração de íons hidrogênio na amostra e é importante para avaliar a deterioração do produto, indicando se este encontra-se ácido, neutro ou alcalino (BRASIL, 2017a).

A Tabela 5 apresenta os resultados para acidez titulável e pH da carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta.

Tabela 5. Acidez titulável e pH da carcaça fresca de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta.

| Variáveis | Tratamentos | | | |
|------------------|---------------|---------------------------|---------------|-----------------|
| | Controle | 3% | 5% | 10% |
| Acidez titulável | 7,666 ± 0,516 | 7,60 ± 0,178 ^S | 7,10 ± 0,089* | 6,966 ± 0,051* |
| pH | 6,776 ± 0,005 | 6,796 ± 0,025 | 6,920 ± 0,026 | 7,043 ± 0,063*# |

Dados apresentados como média ± desvio padrão. *p<0,05 significativo em relação ao grupo controle; # p<0,05 significativo em relação ao grupo 3% ^S p<0,05 significativo em relação ao grupo 10%;

A adição da levedura na ração provocou diminuição da acidez nos tratamentos com maior concentração de biomassa (5% e 10%). De maneira geral, não existe um padrão para

organismos aquáticos, no entanto um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons de hidrogênio modificando a acidez e o pH. Desta forma analisando os dados de acidez e pH do camarão suplementado com a levedura observou-se que à medida que se aumentou as concentrações de levedura na dieta ocorreu uma redução significativa da acidez. Este resultado se correlaciona com os valores obtidos de pH reforçando a hipótese de que a composição corporal dos camarões pode ter sido modificada pela dieta.

Ainda, os animais aquáticos são muito susceptíveis à deterioração uma vez que sua faixa de acidez indica condição ideal para desenvolvimento de microrganismos e a redução de acidez observada neste estudo pode ser vantajosa por reduzir a probabilidade de proliferação de microrganismos com consequente queda na deterioração do produto (BERKEL, 2005).

Os resultados de pH estão dentro das faixas consideradas ideais para evitar alterações microbiológicas importantes na carne segundo a legislação RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem animal (BRASIL, 2017b), para o pescado fresco o valor encontrado deve ser inferior a 6,8 e do camarão entre 6,5 e 7,5.

Considerando estudos com camarão fresco, observou-se grandes variações de pH dependendo da espécie considerada, para o *Litopenaeus vannamei* foi observado pH de 6,35 (REBOUÇAS et al., 2017), para o *Penaeus brasiliensis* + *Penaeus paulensis* os valores de pH variaram de 7,1 a 8,1 (MOURA et al., 2003) e para o *Macrobrachium rosenbergii* foram identificados valores de pH de 6,62 para a carne fresca (KIRSCHNIK, VIEGAS, 2004). Ainda, o estabelecimento de valores de pH que correspondessem ao estado de frescor do camarão foi indicado por alguns autores. Bailey et al., (1956) consideraram que em pH até 7,70 o camarão mantinha as características de um produto ‘fresco’ enquanto Segundo Luna (1971) e Shamshad et al., (1990), pH acima de 7,2 e de 7,6, respectivamente, caracterizavam produto não-comestível.

Os resultados do presente trabalho estão de acordo com o descrito na literatura e na legislação para pescado fresco. No entanto houve um aumento significativo do pH no grupo 10% de levedura. As mudanças bioquímicas e microbiológicas que ocorrem nos tecidos do pescado após a morte, dependem significativamente dos fatores que afetam a concentração de substratos e metabólitos nos tecidos do pescado vivo, atividade das enzimas endógenas, contaminação microbiana e condições da captura (SIKORSKI, 1994). Assim, é possível que um maior aporte de nutrientes a partir da levedura, em especial proteínas e lipídeos, pode ter propiciado alterações na composição corporal do camarão vivo e isso facilitou o início de alterações bioquímicas pós abate como por exemplo um aumento da ação de enzimas tissulares

ou ação de microrganismos levando a elevação do pH muscular no grupo 10% de levedura (VONGSAWASDI, NOOMHORM, 2000).

5.1.4. Análise de proteína carbonilada

Assim como os lipídeos, as proteínas da carne também são passíveis de processos de oxidação e formação de produtos indesejáveis que alteram a qualidade do pescado (OGAWA, MAIA, 1999). O tipo de dieta fornecida aos animais pode influenciar na composição lipídica e proteica da carne e desta forma deixá-la mais ou menos propensa à oxidação. Na tabela 6 estão os valores obtidos de proteína carbonilada para a carne do camarão.

Tabela 6. Níveis de proteína carbonilada na carne de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta.

| Variáveis | Tratamentos | | | |
|---|----------------|----------------|-----------------------------|----------------|
| | Controle | 3% | 5% | 10% |
| Proteína Carbonilada (nmol/mg prot) | 39,360 ± 6,231 | 43,936 ± 5,926 | 35,596 ± 4,795 ^S | 43,479 ± 8,086 |

Dados apresentados como média ± desvio padrão. ^Sp<0,05 significativo em relação aos grupos 3 e 10%.

Para a análise de proteína carbonilada não houve diferença significativa dos tratamentos em relação ao grupo controle. Por outro lado, foi observado diminuição dos níveis no grupo com 5% de biomassa, sendo um resultado significativo comparado aos grupos 3 e 10%. Com base na literatura, os resultados deste trabalho indicam que a inclusão de levedura na dieta possui pouca influência em relação aos níveis de oxidação dos componentes proteicos da carne, sugerindo que sua utilização não acarreta prejuízos à qualidade da carne fresca do camarão de água doce.

5.2. ALTERAÇÕES DURANTE O ARMAZENAMENTO CONGELADO DA CARÇAÇA

Para a obtenção de um produto de qualidade, o camarão deve passar por um rigoroso processo, visto que erros desde o manejo, captura, venda e armazenamento podem provocar danos à carne, devido a sua alta perecibilidade. É necessário evitar que o animal passe por um nível de estresse elevado antes de morrer pois se ele estiver estressado as reservas de glicogênio

irão diminuir rapidamente, com queda acentuada de ATP no músculo, provocando enrijecimento da carne. Isso acarretará diminuição da capacidade de retenção de água e baixa acidez da carne, essa reação provoca aumento do pH com consequente aumento da proliferação microbiana, resultando em maior deterioração da carne (FORTUNA, FRANCO, 2013).

Além do manejo e captura do animal, as condições de armazenamento devem ser levadas em consideração a fim de evitar alterações indesejáveis na carne. Um armazenamento incorreto em temperaturas inadequadas pode impedir a comercialização do produto, devido às alterações microbiológicas, enzimáticas, físicas ou químicas que passam a ocorrer em temperaturas elevadas. A fim de reduzir o risco dessas alterações é necessário o congelamento com poucas flutuações de temperatura. (SIKORSKI, 1994).

Durante o armazenamento congelado do camarão podem ocorrer diversas alterações provocadas pela atividade de enzimas endógenas e contaminação microbiana que podem provocar mudança na cor do alimento, ocorrendo desbotamento, sublimação e cristalização do gelo, oxidação de lipídeos e desnaturação de proteínas (VONGSAWASDI, NOOMHORM, 2000).

O congelamento irá minimizar os efeitos oxidativos, mas em carnes com composição lipídica insaturada como o camarão há maior probabilidade de ocorrer a oxidação mesmo sob baixas temperaturas. Isso se deve a auto-oxidação que ocorre devido a carne ser rica em ácidos graxos poliinsaturados, liberando derivados carbonílicos, podendo tornar a carne rançosa, além de diminuir a qualidade da carne, pode provocar riscos a saúde, devido ao teor de peróxidos. Para avaliar o grau de oxidação de lipídeos o índice de ácido tiobarbitúrico (TBARS) é o mais indicado (JIN et al., 2018)

Com o passar dos meses de congelamento podem ocorrer a diminuição do frescor dos pescados, para avaliar essa diminuição de frescor é recomendado a realização da quantificação de bases voláteis totais (N-BVT), o aumento do valor encontrado dessas bases indica que o pescado está em processo deteriorativo (SOARES, GONÇALVES, 2012).

É necessário inspecionar a qualidade da carne do animal durante o armazenamento a fim de garantir a saúde dos consumidores, reduzir perdas do produto, oferecendo condições para a aceitabilidade do camarão, promovendo a segurança que o consumidor precisa, além disso, armazenar de forma correta o alimento permitirá um consumo em maior tempo possível, algo essencial para que o produto seja comercializado em locais distantes da sua produção.

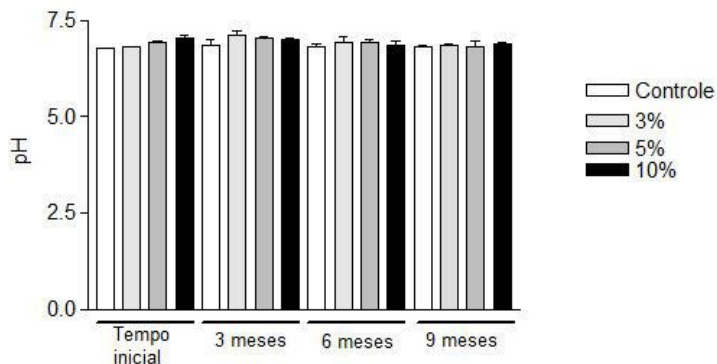
5.2.1. pH

O pH interfere na qualidade do alimento armazenado, sendo responsável direto pela deterioração do alimento. Sua determinação auxilia na observação da velocidade de multiplicação de microrganismos sendo que alterações no pH ao longo do armazenamento condicionam o substrato à ação bacteriana (SILVA, 2000).

O pH não apresentou alteração significativa durante os meses de armazenamento (Figura 3). Queiroga et al., (2014) avaliou o efeito do congelamento por 90 dias na carne de camarão *Litopenaus vannamei* e observou aumento do pH com o passar do tempo, o pH inicial pós abate era de 6,95 (que é semelhante com o resultado obtido neste estudo) aumentando para 7,93 aos 39 dias e para 7,85 aos 74 dias de armazenamento.

O aumento no pH ocorre basicamente devido a ação de microrganismos que degradam a carne, como não houve alteração do pH nos nove meses e há estudos com alteração do pH em camarão congelado em período de tempo muito menor do que este estudo (KIRSCHNIK, VIEGAS, 2004), sugere-se que a biomassa utilizada apresentou proteção contra a deterioração da carne.

Figura 3. Valores de pH nos tempos inicial, 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura. Dados apresentados como média \pm desvio padrão.



5.2.2 TBARS

Na tabela 7 está disposto os níveis de peroxidação lipídica no tempo inicial em todos os tratamentos.

Tabela 7. Níveis de peroxidação lipídica no tempo inicial na carne de camarões suplementados com diferentes concentrações de biomassa de levedura na dieta.

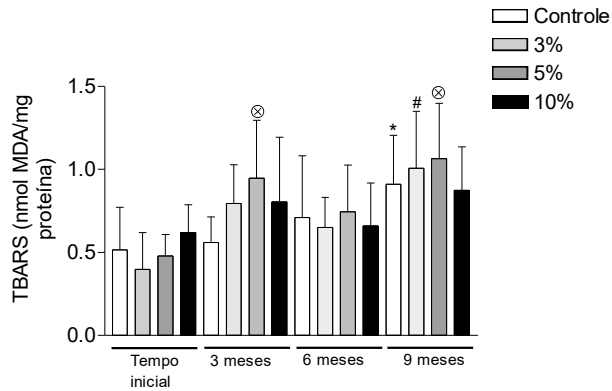
| Variáveis | Tratamentos | | | |
|---------------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------------|
| | Controle | 3% | 5% | 10% |
| TBARS (nmol MDA/mg) | 0,514 ± 0,257 | 0,432 ± 0,207 | 0,478 ± 0,130 | 0,793 ± 0,303* [#] |

Dados apresentados como média ± desvio padrão. *p<0,05 significativo em relação ao grupo controle; [#]p<0,05 significativo em relação aos grupos 3 e 5%;

Neste estudo, ocorreu diferença significativa para a análise de TBARS na suplementação com 10% de biomassa comparado ao controle e aos grupos 3 e 5%. O aumento de TBARS nesse grupo pode ter sido influenciado por maior quantidade de lipídeos no grupo 10% observado na Tabela 3 de composição química. Os valores de referência para a oxidação de lipídeos são bastante variáveis, mas de maneira geral considera-se que valores abaixo de 3 mg de malondialdeído/kg de pescado sejam os limites de aceitabilidade, os valores obtidos neste estudo foram abaixo desse valor, estando dentro dos limites de aceitabilidade (CADUN et al., 2005).

Na figura 4 estão dispostos os valores de peroxidação lipídica nos diferentes tempos de armazenamento. No armazenamento por 3 meses houve diferença estatística do grupo 5% comparado ao 5% do tempo inicial, ocorrendo aumento dos valores encontrados. Aos 9 meses de armazenamento ocorreu aumento significativo dos valores obtidos comparados ao tempo inicial nos grupos controle, 3% e 5%.

Figura 4. Níveis de peroxidação lipídica nos tempos inicial, 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura.



*p<0,05 significativo em relação ao grupo controle tempo inicial

p<0,05 significativo em relação ao grupo 3% do tempo inicial

⊗ p<0,05 significativo em relação ao grupo 5% do tempo inicial

As condições de armazenamento de animais aquáticos podem influenciar nos níveis de peroxidação lipídica, ocorrendo maior peroxidação quando o animal está armazenado em temperaturas mais altas, com maiores condições para proliferação de microrganismos e tempo de armazenamento prolongado (CUI et al., 2013). O tempo de armazenamento prolongado proporciona diminuição de antioxidantes naturais que retardam a oxidação lipídica levando à maior oxidação e deterioração da carne (TAKEUNGWONGTRAKUL, BENJAKUL, H-KITTIKUN, 2012).

Zareghashti et al., (2018) avaliaram a qualidade da carne do camarão *Macrobrachium nipponense* congelado a -20 °C por 6 meses, observando que com o aumento do período de armazenamento ocorreu aumento do valor de TBARS, não obtendo diferença significativa entre o primeiro e o terceiro mês de armazenamento, somente a partir do 6º mês.

Estudos indicam que ocorre baixa oxidação do camarão ao longo do tempo, isso pode ser devido ao baixo conteúdo lipídico encontrado no camarão. Queironga et al., (2014) avaliou a peroxidação lipídica de camarão *Litopenaus vannamei* armazenado por 90 dias a -18 °C, não encontrando aumento significativo de TBARS nos 3 meses de armazenamento. Valores baixos também foram encontrados no estudo de Jin et al., (2018) que avaliou o TBARS do camarão congelado a -18 °C, o valor inicial encontrado foi de 0,45 mg MDA/kg ocorrendo aumento significativo nos valores encontrados apenas após 120 dias passando para 0,85 mg MDA/kg.

Além disso, o baixo valor de TBARS encontrado neste estudo pode estar relacionado com as condições em que o camarão foi armazenado, sem flutuações de temperatura e acondicionado em embalagens de polietileno, evitando a proliferação de microrganismos e oxidação da carne (ZAREHGASHTI et al., 2018).

5.2.3. Bases Voláteis

Outro parâmetro importante avaliado em termos de conservação de pescados são as bases voláteis sendo que o valor de nitrogênio básico volátil total (N-BVT) é utilizado para expressar o conteúdo de bases voláteis e aminas derivados da descarboxilação microbiana de aminoácidos (BRASIL, 2014b), para esta análise são contabilizados compostos com baixo peso molecular que são formados durante o processo deteriorativo, sendo estes a trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA) e amônia. Quanto maior a deterioração do pescado com o passar do tempo, maior será o teor desses compostos presentes na amostra (HOWGATE, 2010).

A TMA é produzida sob ação de bactérias, sendo responsável pelo odor característico do estado de deterioração, a DMA é produzida por enzimas autolíticas no armazenamento e a amônia é produzida no início da degradação por desaminação de aminoácidos (OGAWA, MAIA, 1999).

Na tabela 8 e posteriormente na figura 5 estão os valores obtidos de bases voláteis em todos os tempos do ensaio de armazenamento.

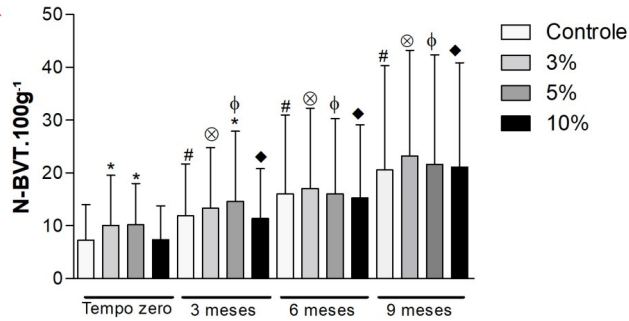
Tabela 8. Conteúdo de bases voláteis no tempo inicial e após 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura.

| Variáveis | Tratamentos | | | |
|---------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | Controle | 3% | 5% | 10% |
| N-BVT. 100g ⁻¹ | | | | |
| Tempo inicial | 14,023±0,534 | 19,563±0,536# | 18,04±2,374# | 13,776±0,915 |
| 3 meses | 21,733±2,099# | 24,833±1,785 ⊗ | 27,896±1,397*φ | 20,803±1,964 ♦ |
| 6 meses | 30,98±1,066# | 32,286±1,845 ⊗ | 30,306±1,845φ | 29,113±1,425 ♦ |
| 9 meses | 40,31±0,783# | 43,246±3,238 ⊗ | 42,35±0,850φ | 40,853±1,456 ♦ |

Dados apresentados como média ± desvio padrão. *p<0,05 significativo em relação ao respectivo grupo controle; # p<0,05 significativo em relação ao grupo controle tempo inicial; ⊗ p<0,05 significativo em relação ao grupo 3% entre os tempos inicial, 3, 6 e 9 meses; φ p<0,05 significativo em relação ao grupo 5% entre os tempos inicial, 3, 6 e 9 meses; ♦ p<0,05 significativo em relação ao grupo 10% entre os tempos inicial, 3, 6 e 9 meses.

Em relação ao conteúdo de bases voláteis totais (N-BVT) no tempo inicial, observou-se um aumento significativo nos grupos 3 e 5% de biomassa comparados ao grupo controle. Os resultados obtidos estão de acordo com outros trabalhos com *M. rosenbergii* fresco que relatam valores de N-BVT variando entre 16,61 a 18,65 mg N/100g (LEITÃO, RIOS, 2000; BAKAR et al., 2008; BEGUM et al., 2012; SIMÕES et al., 2014).

Figura 5. Conteúdo de bases voláteis no tempo inicial e após 3, 6 e 9 meses de armazenamento da carne de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura.



*p<0,05 significativo em relação ao respectivo grupo controle

p<0,05 significativo em relação ao grupo controle tempo inicial

⊗ p<0,05 significativo em relação ao grupo 3% entre os tempos inicial, 3, 6 e 9 meses

φ p<0,05 significativo em relação ao grupo 5% entre os tempos inicial, 3, 6 e 9 meses

♦ p<0,05 significativo em relação ao grupo 10% entre os tempos inicial, 3, 6 e 9 meses

No tempo zero e até 3 meses de armazenamento a carne ainda estava dentro do recomendado para o consumo, que é quando o resultado de N-BVT encontra-se abaixo de 30 mg.100⁻¹g. Segundo Ogawa, Maia (1999) para pescados em geral valores de 5 a 10 mg.100⁻¹g são considerados em excelente estado de frescor; de 15 a 25 mg.100⁻¹g animais com frescor razoável. Até o valor de 30 mg.100⁻¹g a carne é considerada aceita sensorialmente, com baixa concentração de microrganismos. No início do armazenamento em gelo os valores encontrados ainda estão baixos, aumentando rapidamente com a deterioração do produto (HUSS, 1988).

Após o 6º mês os valores ultrapassaram esta recomendação de N-BVT que segundo BRASIL (2014b) a partir desse resultado ocorre o início do processo de putrefação. Quando

estes valores atingem $50 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ o produto já está em estado avançado de deterioração. Neste estudo não chegou a atingir este valor, chegando a valores de $43,24 \pm 3,23 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ ao final dos 9 meses de armazenamento.

Os animais de água doce apresentam valores mais baixos de N-BVT comparados aos marinhos, pois estes possuem menor quantidade de N- óxido de trimetilamina (OTMA) comparada a animais de água salgada, que por ação de bactérias forma a TMA, com isso, o tempo necessário para que os animais de água doce atinjam o limite é maior (BERAQUET, LINDO, 1985).

Durante o armazenamento, ocorre a proliferação de bactérias, essas bactérias degradam aminoácidos, promovendo o aumento de amins biogênicas que são bases voláteis de baixo peso molecular. Para ocorrer aumento considerável dessas amins é necessário proliferação intensa de microorganismos e alta concentração de proteínas com disponibilidade de aminoácidos, além de condições favoráveis no ambiente, como temperatura acima da recomendada para congelamento (CUNHA et al., 2012; RABIE et al., 2009).

Alguns estudos apresentam valores superiores ao encontrado neste trabalho como, por exemplo, Azam et al., (2013) que avaliaram os níveis de N-BVT no armazenamento congelado em freezer a -20°C de camarão *M. rosenbergii* por 0, 4, 8 e 12 semanas, inicialmente obtiveram valores de $20,57 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$, na 4ª semana atingiu $23,65 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$, na 8ª semana $26,32 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ e na 12ª semana $31,91 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$, valor atingido apenas no sexto mês neste estudo; e Kirschnik, Viegas (2004) que avaliaram as alterações na qualidade da carne do camarão *M. rosenbergii* durante estocagem em gelo por 0, 2, 4, 7 e 10 dias, obtendo valores de $10,83 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ aos 0 dias, $14,74 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ aos 2 dias, $19,21 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ aos 4 dias, $26,18 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ aos 7 dias e $27,10 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ aos 10 dias, valor que só foi atingido neste estudo após 3 meses de armazenamento.

As variações dos teores de bases voláteis nos diferentes estudos podem estar relacionados à alguns fatores como as condições de armazenamento do animal e embalagem utilizada (ZAREHGASHTI et al., 2018). Ainda, podem influenciar a alimentação fornecida durante o cultivo, os métodos de captura, abate do animal e o estresse associado (SOARES, GONÇALVES, 2012), bem como o teor de antioxidantes naturais presentes na carne (BARON et al., 2007; ZHANG et al., 2013).

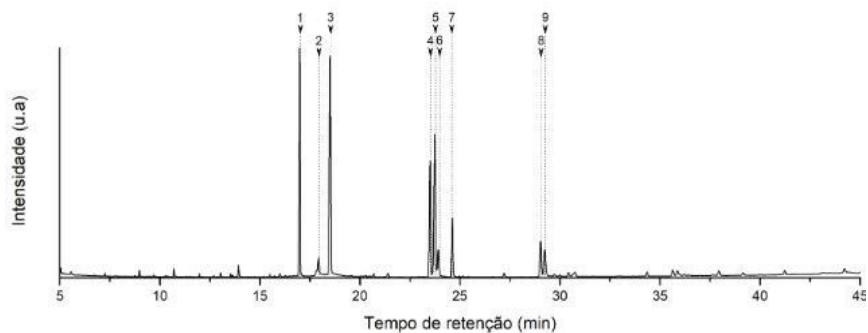
A alimentação ofertada ao animal pode ter refletido nos valores de bases voláteis neste estudo, como observado no tratamento com 10% de biomassa, em todos os meses de armazenamento este grupo apresentou valores mais baixos comparados aos outros grupos, a levedura pode ter apresentado efeito protetivo a carne neste grupo.

5.2.4. Perfil de Ácidos graxos

Quimicamente os ácidos graxos são classificados como ácidos carboxílicos e apresentam cadeia carbônica longa, não ramificada com número par de átomos de carbono. Além disso, podem apresentar ligações duplas ao longo da cadeia o que permite classificá-los como saturados (AGS)(sem ligações duplas) e insaturados (AGI). Os ácidos graxos insaturados são ainda subdivididos nas categorias monoinsaturados (AGMI – uma dupla ligação) ou poliinsaturados (AGPI – mais de duas duplas ligações) (NELSON, COX, 2014).

Segundo Ogawa, Maia (1999), a maioria dos ácidos graxos existentes no pescado contém 14 a 22 átomos de carbono, podendo ser saturados ou insaturados – mono ou poliinsaturados. Especificamente, os lipídios de pescado contêm ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da família $\omega 3$ (AGPI $\omega 3$), sendo a principal reserva os fosfolipídios e não os lipídios neutros. Por isso, observa-se que em espécies que contêm menor teor de lipídios, há uma tendência de apresentarem maior proporção de AGPI $\omega 3$ (OGAWA, MAIA, 1999). A composição em ácidos graxos varia de acordo com a espécie do animal, hábito alimentar, estação do ano, temperatura da água, dieta, habitat e estágio de maturação. Considerando estes aspectos, a figura 6 apresenta o cromatograma do controle no tempo inicial e a tabela 9 apresenta o perfil de ácidos graxos no tempo inicial do camarão *M. rosenbergii* suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura.

Figura 6. Cromatograma do grupo controle no tempo inicial com o tempo de retenção dos compostos.



Compostos: 1-Composto não identificado; 2-Ácido 9-hexadecenoico ; 3-Ácido hexadecanoico ; 4-Ácido 9,12 octadecadienoico; 5-Ácido 9-octadecenoico ; 6- Ácido 9-octadecenoico ; 7-Ácido octadecanoico ; 8- Ácido araquidônico; 9-Ácido cis 5,8,11,14,17 eicosapentaenoico.

Podemos observar pelo cromatograma que os compostos que apresentaram maior pico no grupo controle no tempo inicial foram ácido hexadecanoico (C16:0), ácido 9,12 octadecadienoico (18:2 ω 6), ácido 9-octadecenoico (18:1 cis9 ω 9) e ácido octadecanoico (C18:0).

No cromatograma, não foi possível identificar o pico 1 pois não havia padrão característico para esta região no mix utilizado. Considerando que o camarão *M. rosenbergii* apresenta níveis elevados do ácido alfa-linolênico (C18:3 ω 3) (BRAGAGNOLO, RODRIGUEZ-AMAYA, 2001) e que este composto foi o único não quantificado neste estudo, pode-se supor que o pico não identificado no cromatograma seja referente à este ácido graxo.

Além do alfa-linolênico, esta espécie apresenta quantidades consideráveis de ácido eicosapentaenoico (C20:5 ω 3), docosahexaenoico (C22:6 ω 3) e ácido araquidônico (C20:4 ω 6). Apresenta boa concentração de ômega 3 (AGPI ω 3) tendo uma quantidade mais expressiva de ω 3 que ω 6 (BRAGAGNOLO, RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Dentre os ácidos graxos saturados apresenta concentração considerável de ácido palmítico (C16:0) e ácido esteárico (C18:0) (PORTELLA, SANT'ANA, VALENTI, 2013).

Há semelhanças entre espécies de camarão de água doce quanto aos ácidos graxos, outras espécies também apresentam quantidade considerável de ácido palmítico, oléico, linolênico, EPA, DHA e araquidônico. Furuya et al., (2006) avaliaram o perfil de ácidos graxos do *M. amazonicum* considerando saturados, monoinsaturados e poliinsaturados. Eles obtiveram maior concentração de ácido palmítico dentre os ácidos graxos saturados (de 29,8% de ácidos graxos saturados, o ácido palmítico representa 18,2% deste somatório), para os monoinsaturados, o mais encontrado foi oléico (9,4% de 24,0% do somatório de monoinsaturados) e vacênico (6,6% de 24,0%) e entre os poliinsaturados, os mais abundantes foram EPA (13,9% de 46,8% do somatório de poliinsaturados), linolênico (9,5% de 46,8%) e DHA (6,5% de 46,8%). Já Moura, Cavalheiro, Bora (2013) avaliaram o teor de ácidos graxos em camarão *L. vannamei* cultivados em água doce, encontrando consideravelmente o ácido palmítico, esteárico, heptadecanoico, oleico, linoleico, araquidônico e docosahexanoico. Bragagnolo, Rodriguez-Amaya (2001) avaliaram o teor de ácidos graxos no camarão *M. rosenbergii* obtendo percentual de 31% para ácidos graxos saturados, 23% para monoinsaturados e 43% para poliinsaturados, tendo uma quantidade considerável de

poliinsaturados que são benéficos para a saúde.

Tabela 9. Perfil de ácidos graxos no tempo inicial na carcaça fresca de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura.

| Compostos | LOD (µg/g) | 0% | 3% | 5% | 10% |
|--|---------------|--------------|---------------|----------------|----------------|
| Ácidos graxos saturados (AGS) | | | | | |
| Ácido hexanóico (Capróico) C6:0 | 4 | 11,51 ± 1,06 | 4,95 ± 2,58* | 5,41 ± 0,44* | 6,04 ± 0,66* |
| Ácido octanóico (Caprílico) C8:0 | 2 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido decanóico (Cáprico) C10:0 | 3 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido undecanóico (Hendecanóico) C11:0 | 1 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido dodecanóico (Láurico) C12:0 | 0,7 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido tetradecanóico (Mirístico) C14:0 | 0,6 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido pentadecanóico C15:0 | 0,3 | 1,57 ± 0,40 | 2,17 ± 0,04 | 0,93 ± 0,79* | < LOD |
| Ácido hexadecanóico (Palmitico) C16:0 | 0,6 | 34,96 ± 0,41 | 68,50 ± 2,14* | 26,44 ± 2,22*# | 3,17 ± 0,34*#S |
| Ácido heptadecanóico C17:0 | 0,3 | 2,00 ± 0,05# | 4,13 ± 0,03* | 1,30 ± 0,21*# | < LOD |
| Ácido octadecanóico (Ácido Esteárico) C18:0 | 0,2 | 15,76 ± 0,72 | 32,70 ± 3,19* | 11,00 ± 0,80*# | 1,24 ± 0,24*#S |
| Ácido eicosanóico (Araquídico) C20:0 | 0,4 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido heneicosanóico C21:0 | 0,6 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido docosanóico (Behênico) C22:0 | 0,4 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácidos graxos Monoinsaturados (AGMI) | | | | | |
| Miristoleato de metilo (Miristoleico) C14:1 | 0,07 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido 9-hexadecenóico (Palmitoleico) C16:1 cis-9 ω6 | 0,3 | 9,56 ± 0,34 | 8,33 ± 0,13* | 6,09 ± 0,82*# | 4,30 ± 1,69*#S |

| | | | | | |
|---|-----|--------------|----------------|----------------|----------------|
| Ácido cis-10-heptadecenóico C17:1 | 0,4 | 1,76 ± 0,19 | 2,01 ± 0,39 | 1,56 ± 0,24 | 1,61 ± 0,05 |
| Ácido 9-octadecenóico (Oleico) C18:1 cis-9 ω9 | 0,7 | 27,73 ± 0,79 | 53,20 ± 3,59* | 18,46 ± 2,23*# | 2,63 ± 0,98*#§ |
| Ácido 9- octadecenóico (Eláidico) C18:1 trans-9 ω3 | 0,2 | 9,89 ± 0,58 | 16,65 ± 0,58* | 6,47 ± 1,16*# | 1,76 ± 1,07*§ |
| Ácidos graxos polinsaturados (AGPI) | | | | | |
| Ácido Gama-linolênico C18:3 ω6 | 0,3 | 0,64 ± 0,04 | 1,04 ± 0,00* | 0,43 ± 0,22 | < LOD |
| Ácido 9,12 octadecadienóico (Linoleico) C18:2 ω6 | 0,6 | 71,96 ± 0,97 | 175,51 ± 6,82* | 56,91 ± 4,05*# | 5,80 ± 0,47*#§ |
| Ácido Araquidônico C20:4 ω6 | 0,1 | 41,63 ± 0,27 | 67,92 ± 11,11* | 30,36 ± 1,60*# | 2,52 ± 0,38*#§ |
| Ácido cis 5,8,11,14,17 eicosapentaenóico (EPA) C20:5 ω3 | 0,1 | 30,43 ± 1,14 | 49,76 ± 8,04* | 24,66 ± 1,71*# | 1,90 ± 0,47*#§ |
| Ácido cis 11,14- eicosadienóico C20:2 ω6 | 0,2 | 4,83 ± 0,31 | 9,23 ± 1,23* | 4,19 ± 0,79# | < LOD |
| Ácido 4,7,10,13,16,19 docosahexaenóico (DHA) C22:6 ω3 | 0,8 | <LOD | 21,44 ± 3,31* | 6,71 ± 2,55# | 4,00 ± 0,22# |
| Ácido cis 13,16 docosadienóico C22:2 ω6 | 0,3 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| Ácido 13- Docosanóico C22:2 ω6 | 0,7 | 5,01 ± 0,46 | 5,85 ± 1,13 | 4,21 ± 0,09*# | 2,48 ± 0,48*#§ |

Dados apresentados como média ± desvio padrão, em µg/g

LOD: Limite mínimo de detecção, calculado como sendo 3 vezes o desvio padrão (n = 10) para um padrão de ésteres de ácidos graxos na concentração de 0,1 µg g⁻¹

*p<0,05 significativo em relação ao grupo controle, # p<0,05 significativo em relação ao grupo 3%; § p<0,05 significativo em relação ao grupo 3 e 5%;

De maneira geral, em todos os tratamentos os ácidos graxos que apresentaram maior concentração foram: Ácido Palmítico (C16:0), Ácido Palmítoleico (C16:1), Ácido Esteárico (C18:0), Ácido Oleico (C18:1 cis-9 ω3), Ácido linoleico (C18:2 ω6), Ácido Araquidônico (C20:4 ω6) e EPA (C20:5 ω3), sendo observado aumento de ω6 que ω3.

Podemos observar que alguns ácidos graxos apresentaram aumento na concentração

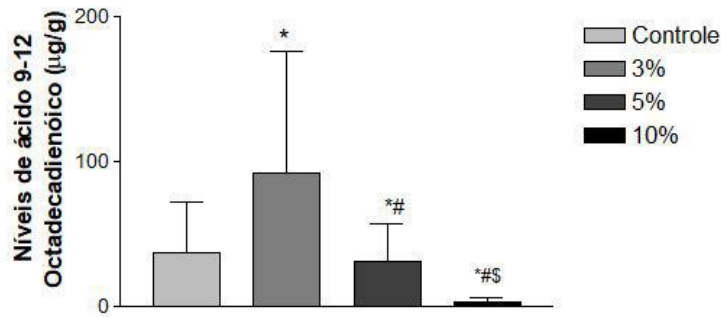
com adição de 3% de biomassa, entre eles o Ácido pentadecanóico (C15:0), Ácido palmítico (C16:0), Ácido heptadecanóico (C17:0), Ácido Esteárico (C18:0), Ácido Oleico (18:1 cis-9 ω 9), Ácido Eláidico (C18:1 trans-9 ω 3), Ácido Gama-linolênico (C18:3 ω 6), Ácido Linoleico (C18:2 ω 6), Ácido Araquidônico (C20:4 ω 6), EPA (C20:5 ω 3), Ácido cis 11,14- eicosadienóico (C20:2 ω 6) e DHA (C22:6 ω 3).

Dentre esses ácidos graxos, observa-se aumento considerável de ácido esteárico no tratamento com 3% de biomassa, este composto apresentou concentração de 32,7 $\mu\text{g/g}$, o dobro do encontrado no controle (15,7 $\mu\text{g/g}$). Sabe-se que a levedura tem a capacidade de produzir este composto, o que pode ter refletido no aumento da concentração do ácido graxo com adição de 3% de biomassa (GONÇALVES, COLEN, TAKAHASHI, 2014).

Além desse ácido, a levedura tem a capacidade de produzir ácidos oleico, palmítico e linoleico, o que influencia na concentração de ácidos graxos da carne do animal, dentre esses ácidos, atenção especial deve ser dada ao ácido linoleico que teve aumento considerável na concentração no tratamento com 3% de biomassa (figura 7) apresentando 175,51 $\mu\text{g/g}$, mais que o dobro do valor obtido no controle (71,96 $\mu\text{g/g}$). A presença desse ácido é benéfica pois apresenta efeito antioxidante, como pode ser observado na análise de TBARS no tempo inicial, onde o grupo 3% apresentou valor mais baixo de peroxidação lipídica comparado aos outros grupos (XU et al., 2020).

Esse aumento considerável pode ser devido a *Y. lipolytica* possuir a capacidade de acumular grandes quantidades de ácido linoleico, somente este ácido graxo representa mais de 50% dos ácidos graxos acumulados pela levedura (GONÇALVES, COLEN, TAKAHASHI, 2014). Souza et al., (2019) que produziu a biomassa utilizada na ração dos animais, observou aumento na concentração do ácido linoleico na biomassa comparada a casca da mandioca *in natura*, obtendo na casca 7,3% e na biomassa 19,2% deste ácido, o que pode ter refletido no aumento significativo do ácido linoleico em animais suplementados com biomassa.

Figura 7. Concentração de ácido 9-12 Octadecadienóico (ácido linoleico) na carcaça fresca de camarão suplementado com diferentes concentrações de biomassa de levedura.



* $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo 3%; \$ $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo 5%;

Além do acúmulo de ácido linoleico, a levedura também tem a capacidade de sintetizar o ácido docosahexaenóico (C22:6 ω 3) durante a fermentação. Este fato pode ter influenciado o resultado deste estudo, visto que no grupo controle o valor obtido para este ácido graxo foi abaixo do limite mínimo de detecção ($0,8 \mu\text{g/g}$), já no tratamento com 3% de biomassa foi obtido $21,4 \mu\text{g/g}$ desse composto. A produção desse ácido graxo é benéfica para a qualidade da carne do camarão, uma vez que este composto tem capacidade antioxidante e antiinflamatória (TOCHER et al., 2019).

A levedura é benéfica para o aumento da concentração destes compostos na carne dos animais, como também demonstrado por Hatlen et al. (2012), que suplementaram *Y. lipolytica* na ração de salmão, obtendo aumento considerável do ácido linoleico (animais alimentados com ração convencional com farinha de peixe apresentaram 1,6% de ácido linoleico e animais suplementados com a levedura apresentaram aumento deste ácido para 22,9%) e DHA (animais com ração convencional apresentaram 2,9% e os que receberam suplementação 30,1%).

Além disso, a levedura *Y. lipolytica* apresenta quantidade considerável de ácidos graxos, como o ácido hexadecanóico, octadecanóico e oleico, podendo ter refletido no aumento da concentração destes compostos na carne dos animais suplementados com biomassa (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2018; PATSIOS et al., 2020).

A adição da levedura na ração de animais aquáticos apresenta vantagens para a saúde do animal, aumentando o ganho de peso corporal pois há melhora da taxa de conversão alimentar, estimula os mecanismos antioxidantes e o sistema imunológico do animal, além de agir como probiótico, influenciando na microflora do animal, tornando os animais mais resistentes (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2018; AYIUKI et al., 2020; HISANO et al., 2008).

O aumento dos ácidos graxos pode ser devido a indução da síntese de ácidos graxos e triglicerídeos durante a fase de transição da levedura e repressão da síntese de ácidos nucleicos e de proteína, fato observado na análise de composição química onde ocorreu aumento do teor lipídico com adição da levedura, sem aumento da composição proteica na carne do animal, ou seja, a levedura auxiliou no aumento do teor de lipídeos e ácidos graxos e reduziu a síntese de proteína no animal (BEOPOLUS et al., 2009).

Sabe-se que os microorganismos oleaginosos, como as leveduras possuem a capacidade de acumular significativa quantidade de lipídeos de reserva de energia quando em condições adequadas de cultivo, disponibilizando ácidos graxos, em especial poliinsaturados. Os ácidos graxos com destaque produzidos pela levedura são: Ácido Mirístico, Ácido Palmítico, Ácido Esteárico, Ácido oleico, Ácido Linoleico, Ácido linolênico, Ácido Eicosapentaenóico, Ácido Docosaheptaenóico e Ácido Araquidônico. Todos estes ácidos graxos (com exceção do ácido mirístico que apresentou valores abaixo do limite mínimo de detecção) apresentaram aumento com a suplementação da biomassa (CARSANBA, PAPANIKOLAOU, ERTEN, 2018).

A maioria dos ácidos graxos apresentaram aumento na concentração do controle para o tratamento com 3% de biomassa (com exceção do ácido hexanóico, palmitoleico e DPA), demonstrando que uma adição de 3% de biomassa na ração é benéfica para o animal, já em animais suplementados com 5 e 10% houve diminuição significativa de todos os compostos que apresentaram aumento no tratamento com 3%, demonstrando que valores acima de 5% podem ocasionar prejuízos à qualidade nutricional da carne do camarão, com redução da concentração de compostos (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2018).

Isso pode ser devido à levedura possuir alguns fatores prejudiciais como o nitrogênio não proteico. A ingestão excessiva de nitrogênio não proteico pode aumentar os níveis de uréia e ácido úrico sendo que uma quantidade excessiva pode provocar efeitos tóxicos e distúrbios metabólicos no animal, o que pode reduzir a eficiência alimentar e causar danos na composição corporal do animal (WATANABE, VIEGAS, GONÇALVES, 2010).

Na tabela 10 estão dispostos os valores encontrados de ésteres metílicos de 16 compostos que apresentaram valores acima do limite mínimo de detecção (LOD) na análise da carcaça fresca.

Tabela 10. Concentração de ésteres de ácidos graxos nos 4 tempos de armazenamento (Tempo inicial, 3,6 e 9 meses)

| Compostos | | Tempo Inicial | 3 meses | 6 meses | 9 meses |
|--------------------------------------|------------|-----------------|-----------------|--------------------|-------------------|
| Ácidos graxos saturados (AGS) | | | | | |
| Ácido hexanóico (Capróico) | 0% | 11,51 ± 1,06 | <LOD ⊗ | 17,28 ± 0,50 φΔ | 6,07 ± 0,01 ♦Ω |
| | 3% | 4,95 ± 2,58* | 4,04 ± 0,91 | 4,00 ± 0,74 * | 5,48 ± 0,30 |
| | 5% | 5,41 ± 0,44* | 4,09 ± 1,94 | <LOD **φ | 4,57 ± 0,93 |
| | 10% | 6,04 ± 0,66* | 6,18 ± 1,45 | 10,60 ± 0,78 *\$φΔ | 3,77 ± 0,56 Ω |
| Ácido pentadecanóico | 0% | 1,57 ± 0,40 | 2,83 ± 0,55 | 3,62 ± 0,32 φ | 1,18 ± 0,19 Ω |
| | 3% | 2,17 ± 0,04 | 1,27 ± 1,36 | 2,13 ± 0,41Δ | 1,30 ± 0,49 Ω |
| | 5% | 0,93 ± 0,79# | 2,13 ± 0,41 | 3,21 ± 0,19 φ | 1,09 ± 0,05 Ω |
| | 10% | < LOD | 2,73 ± 0,59 ⊗ | 3,29 ± 0,63 φ | 1,14 ± 0,35 □Ω |
| Ácido hexadecanóico (Palmítico) | 0% | 34,96 ± 0,41 | 95,45±27,70 ⊗ | 106,10 ± 5,69 φ | 34,65 ± 1,32 □Ω |
| | 3% | 68,50 ± 2,14 * | 68,24 ± 6,83 | 86,84 ± 3,82 | 30,52 ± 2,64 ♦□Ω |
| | 5% | 26,44 ± 2,22* # | 56,14 ± 2,20 ⊗ | 88,03±0,73 φΔ | 32,96±1,47 □Ω |
| | 10% | 3,17 ± 0,34 *\$ | 77,53 ± 1,46 ⊗ | 89,15 ± 8,36 φ | 27,26 ± 0,65 *♦□Ω |
| Ácido heptadecanóico | 0% | 2,00 ± 0,05 | 4,81 ± 1,50 ⊗ | 5,28 ± 0,41 φ | 2,27±0,20 □Ω |
| | 3% | 4,13 ± 0,03 * | 2,72 ± 1,32 * | 4,96 ± 0,54 Δ | 1,93±0,12 ♦Ω |
| | 5% | 1,30 ± 0,21*# | 3,47 ± 0,69 ⊗ | 4,87 ± 0,21 φ | 1,90±0,11 Ω |
| | 10% | < LOD | 4,58 ± 0,29 #⊗ | 4,97 ± 0,57 φ | 1,87±0,25 □Ω |
| | 0% | 15,76 ± 0,72 | 44,90 ± 13,89 ⊗ | 60,34 ± 17,55 φΔ | 19,00 ± 1,27 □Ω |

| | | | | | |
|---|-----|-----------------|----------------|------------------|------------------|
| Ácido octadecanóico (Ácido Estearico) C18:0 | 3% | 32,70 ± 3,19* | 30,95 ± 4,11* | 40,30 ± 1,62 * | 14,38 ± 0,13* Ω |
| | 5% | 11,00 ± 0,80*# | 25,43 ± 0,38* | 41,48 ± 1,34 *φΔ | 18,83 ± 0,34 Ω |
| LOD: 0,2ug/g | 10% | 1,24 ± 0,24 *\$ | 42,16 ± 1,63 ⊗ | 39,12 ± 2,30 *φ | 14,71 ± 1,68* □Ω |

Ácidos grasos Monoinsaturados (AGMI)

| | | | | | |
|---|-----|-----------------|--------------------|------------------|------------------|
| Ácido 9-octadecenoico (Z) (Oleico) C18:1 cis-9 ω9 | 0% | 27,73 ± 0,79 | 40,41 ± 22,9 | 83,15 ± 0,85 φΔ | 27,61 ± 0,83 Ω |
| | 3% | 53,20 ± 3,59 * | 49,45 ± 5,84 | 63,96 ± 3,39* | 23,46±1,47* ♦□Ω |
| | 5% | 18,46 ± 2,23*# | 41,34 ± 0,18 ⊗ | 65,45 ± 0,08 *φΔ | 26,55 ± 0,26 Ω |
| LOD: 0,7ug/g | 10% | 2,63 ± 0,98 *\$ | 63,95 ± 1,81 *⊗ | 65,40 ± 4,26 *φ | 20,61 ± 0,59 *□Ω |
| Ácido 9-octadecenoico (Elaídico) C18:1 trans-9 ω9 | 0% | 9,89 ± 0,58 | 24,58 ± 5,45 ⊗ | 25,37 ± 0,68 φ | 10,07 ± 0,85 □Ω |
| | 3% | 16,65 ± 0,58 * | 17,69 ± 1,69 * | 21,37 ± 0,49 * | 8,63 ± 0,73 ♦□Ω |
| | 5% | 6,47 ± 1,16*# | 14,38 ± 0,78 *⊗ | 23,11 ± 0,68 *φΔ | 9,49 ± 0,68 □Ω |
| LOD: 0,2ug/g | 10% | 1,76 ± 1,07 *\$ | 21,97 ± 1,81 ⊗ | 24,88 ± 0,11 #φ | 8,61 ± 0,86 ♦□Ω |
| Ácido 9-hexadecenoico (Palmitoleico) C16:1 cis-9 ω7 | 0% | 9,56 ± 0,34 | 14,93 ± 2,63⊗ | 15,59 ± 3,15 φ | 5,19 ± 0,24 □Ω |
| | 3% | 8,33 ± 0,13 | 6,40 ± 2,44 * | 14,25 ± 1,17 Δ | 4,44 ± 0,92 Ω |
| | 5% | 6,09 ± 0,82 * | 81,17 ± 0,86 *#⊗ | 10,55 ± 0,69 Δ | 5,31 ± 0,64 □Ω |
| LOD: 0,3ug/g | 10% | 4,30 ± 1,69*# | 74,55 ± 3,73 *\$ ⊗ | 16,22 ± 1,51 φΔ | 4,28 ± 0,39 □Ω |

| | | | | | |
|---|------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | 0% | 1,76 ± 0,19 | 2,21 ± 0,62 | 4,76 ± 1,62 φΔ | 1,37 ± 0,19 Ω |
| Ácido cis-10-heptadecenoico C17:1 | 3% | 2,01 ± 0,39 | 2,09 ± 0,40 | 2,68 ± 0,32 * | 1,08 ± 0,07 Ω |
| | 5% | 1,56 ± 0,24 | 1,99 ± 0,19 | 2,72 ± 0,08 *φ | 1,06 ± 0,06 Ω |
| LOD: 0,4ug/g | 10% | 1,61 ± 0,05 | 2,21 ± 0,16 | 2,81 ± 0,30 *φ | 1,03 ± 0,16 Ω |
| Ácidos graxos polinsaturados (AGPI) | | | | | |
| Ácido Gama-linolênico C18:3 ω6 | 0% | 0,64 ± 0,04 | 0,94 ± 0,40 | 1,67 ± 0,21 φΔ | 0,64 ± 0,075 Ω |
| | 3% | 1,04 ± 0,00* | 0,68 ± 0,44 | 1,25 ± 0,19 | 0,32 ± 0,11 ♦Ω |
| | 5% | 0,43 ± 0,22# | 0,93 ± 0,16 | 1,19 ± 0,10*φ | 0,48 ± 0,19 Ω |
| LOD: 0,3ug/g | 10% | < LOD | 1,17 ± 0,13 ⊗ | 1,33 ± 0,16 φ | 0,31 ± 0,12 □Ω |
| Ácido 9,12 octadecadienoico (Linoleico) 18:2 ω6 | 0% | 71,96 ± 0,97 | 110,13 ± 54,47 | 226,12 ± 3,62 φΔ | 87,49 ± 2,84 Ω |
| | 3% | 175,51 ± 6,82 * | 147,14 ± 12,01 | 189,64 ± 3,93 | 68,19 ± 7,41* ♦□Ω |
| | 5% | 56,91 ± 4,05*# | 126,45 ± 4,45 ⊗ | 198,99 ± 3,81 φΔ | 84,31 ± 2,73 Ω |
| LOD: 0,6ug/g | 10% | 5,80 ± 0,47 *\$ | 196,38 ± 4,37* ⊗ | 183,18 ± 18,63* φ | 67,53 ± 1,77* □Ω |
| Ácido Araquidônico C20:4 ω6 | 0% | 41,63 ± 0,27 | 80,55 ± 17,18 ⊗ | 96,40 ± 0,88 φ | 33,20 ± 0,59 □Ω |
| | 3% | 67,92 ± 11,11 * | 64,46 ± 11,15 | 81,89 ± 4,77* φ | 26,22 ± 2,67 ♦□Ω |
| | 5% | 30,36 ± 1,60# | 50,99 ± 0,68 * | 79,20 ± 1,59 *φΔ | 24,82 ± 2,54 □Ω |
| LOD: 0,1ug/g | 10% | 2,52 ± 0,38 *\$ | 68,54 ± 2,49 ⊗ | 83,19 ± 1,43 *φ | 22,45 ± 3,20* □Ω |

| | | | | | |
|-------------------|-----|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| Ácido cis | 0% | 30,43 ± 1,14 | 66,27 ± 15,62 ⊗ | 73,39 ± 1,81 φ | 29,94±0,64 □Ω |
| 5,8,11,14,17 | 3% | 49,76 ± 8,04* | 56,80 ± 14,07 | 75,65 ± 2,81 | 25,93 ± 2,22 □Ω |
| eicosapentaenóico | 5% | 24,66 ± 1,71# | 40,26 ± 1,70 * | 62,61 ± 1,41*# φΔ | 24,06± 2,41 Ω |
| (EPA) C20:5 ω3 | 10% | 1,90 ± 0,47 *\$ | 65,26 ± 3,76 ⊗ | 72,56 ± 1,36 φ | 22,99 ± 2,11□Ω |
| LOD: 0,1ug/g | | | | | |
| Ácido cis 11,14- | 0% | 4,83 ± 0,31 | 11,56 ± 2,23 ⊗ | 13,70 ± 1,91 φ | 5,03 ± 0,33 □Ω |
| eicosadienóico | 3% | 9,23 ± 1,23* | 8,93±0,97 | 11,79 ± 1,26 | 3,66 ± 0,60 ◆□Ω |
| C20:2 ω6 | 5% | 4,19 ± 0,79# | 8,13 ± 1,29 ⊗ | 12,07 ± 0,27 φΔ | 4,31±0,72 □Ω |
| LOD: 0,2ug/g | 10% | < LOD | 11,68 ± 1,10 ⊗ | 10,99 ± 0,12 φ | 3,41±0,67 ◆□Ω |
| | | | | | |
| Ácido | 0% | 10,60 ± 2,99 | 19,57 ± 1,83 ⊗ | 23,62 ± 0,37 φ | 10,74±0,95 □Ω |
| 4,7,10,13,16,19 | 3% | 21,44 ± 3,31* | 18,83 ± 1,45 | 23,56±1,86 | 7,93 ± 1,3 ◆□Ω |
| docosahexaenóico | 5% | 6,71 ± 2,55# | 14,84 ± 1,79 ⊗ | 21,56 ± 0,96 φΔ | 7,11 ± 2,83 □Ω |
| (DHA) C22:6 ω3 | 10% | 4,00 ± 0,22# | 22,62 ± 1,83 ⊗ | 23,30 ± 0,46 φ | 6,90 ± 1,62 □Ω |
| LOD: 0,8ug/g | | | | | |
| | | | | | |
| Ácido 13- | 0% | 5,01 ± 0,46 | 2,48 ± 0,68 ⊗ | 4,62 ± 0,43 | 2,30 ± 0,66 ◆ |
| Docosanóico | 3% | 5,85 ± 1,13 | 3,65 ± 1,63 | 6,36 ± 1,40Δ | 1,27 ± 0,35◆□Ω |
| C22:2 ω6 | 5% | 4,21 ± 0,09 | 2,44 ± 0,36 | 5,38 ± 0,44Δ | 1,40 ± 0,24◆□Ω |
| LOD: 0,7ug/g | 10% | 2,48 ± 0,48 *# | 4,17 ± 1,14 | 4,19 ± 0,57 | 1,15 ± 0,38 □Ω |

Dados apresentados como média \pm desvio padrão.

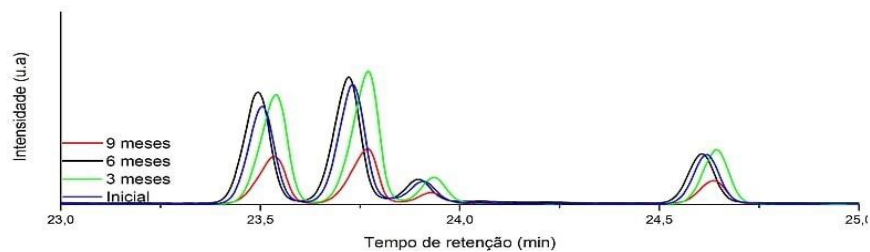
LOD: Limite mínimo de detecção, calculado como sendo 3 vezes o desvio padrão ($n = 10$) para um padrão de ésteres de ácidos graxos na concentração de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$

Na coluna: * $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$ significativo em relação ao grupo 3%; $^s p < 0,05$ significativo em relação ao grupo 3 e 5%

Na linha: $\otimes p < 0,05$ significativo entre os tempos inicial e 3 meses; $\phi p < 0,05$ significativo entre os tempos inicial e 6 meses; $\blacklozenge p < 0,05$ significativo entre os tempos inicial e 9 meses; $\Delta p < 0,05$ significativo entre os tempos 3 e 6 meses; $\square p < 0,05$ significativo entre os tempos 3 e 9 meses; $\Omega p < 0,05$ significativo entre os tempos 6 e 9 meses.

No tempo zero, foi observado maior concentração de Ácido Hexadecanóico, Ácido Heptadecanóico, Ácido Octadecanóico, Ácido Oleico, Ácido Elaidico, Ácido Gama-linolênico, Ácido 9,12 octadecadienoico, Ácido araquidônico, Ácido cis 5,8,11,14,17 eicosapentaenóico, Ácido 11,14 eicosadienóico e DHA ($p < 0,05$) em animais suplementados com 3% de biomassa comparados ao controle. Para todos estes compostos citados acima houve queda na concentração na suplementação com 5% de biomassa, sendo uma queda significativa em animais suplementados com 10% de biomassa ($p < 0,05$). Ainda, estes mesmos compostos apresentaram aumento de ésteres no armazenamento por 3 meses, diminuindo a concentração no armazenamento de 6 e 9 meses. A figura 8 apresenta o cromatograma do ácido 9,12 octadecadienóico (Tempo de retenção: 23528) e Ácido 9-octadecenóico (Tempo de retenção: 23779) nos 4 tempos de armazenamento.

Figura 8. Cromatograma do Ácido 9,12 octadecadienóico e Ácido 9-octadecenóico nos tempos inicial, 3,6 e 9 meses de armazenamento.



O aumento da concentração dos compostos no armazenamento por 3 meses pode ter ocorrido devido a hidrólise dos triglicerídeos (TAKEUNGWONGTRAKUL, BENJAKUL, H-KITTIKUN, 2012). Os aminoácidos cetogênicos são degradados a acetyl-coA ou acetoacetato e convertidos em ácidos graxos ou corpos cetônicos, o que faz com que haja aumento da concentração de ácidos graxos e síntese de lipídeos, quando todo o aminoácido livre é degradado inicia o processo de degradação de lipídeos, nesse ponto inicia a queda da concentração de compostos observada nos outros meses, isso pode ser devido a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados gerando peróxidos, hidroperóxidos e compostos secundários que promovem as características de ranço, influenciando na cor, aroma e sabor do alimento (BEOPOULUS et al., 2009). Esta hipótese é reforçada pelo resultado observado na avaliação do TBARS, onde houve aumento expressivo de peróxidos aos nove meses de armazenamento,

justamente o período em que houve maior redução do teor de ácidos graxos na carne (OGAWA, MAIA, 1999). E também no aumento da formação de bases voláteis principalmente no 9º mês de armazenamento, devido principalmente a degradação de aminoácidos (HEMATYAR et al., 2019; NAZEMROAYA, SAHARI, REZAEI, 2009).

Queda na concentração de ácidos graxos foram observados por Hatlen et al., (2012) que analisaram o conteúdo de ácidos graxos de salmão do Atlântico alimentados com biomassa de *Y. lipolytica* na concentração de 10%, 20% e 30% em substituição ao farelo de peixe e armazenados por 57 e 95 dias. Inicialmente encontraram 4,4% de ácidos graxos totais, após 57 dias de armazenamento, este valor passou para 8,9%, diminuindo para 6% aos 95 dias de armazenamento. A porcentagem de ácidos graxos poliinsaturados diminuiu nos primeiros 57 dias, ao mesmo tempo em que houve aumento de monoinsaturados, com aumento considerável de EPA, DHA e DPA.

Sabe-se que animais de água doce possuem enzimas com capacidade de biossintetizar ácidos graxos em correspondente de cadeia mais longa, fato que ocorre com o ácido alfa-linolênico que tem a capacidade de ser convertido em EPA, podendo originar a partir deste o DHA, o que pode ter auxiliado também no aumento de EPA e DHA neste estudo (RIBEIRO et al., 2012).

O armazenamento pode alterar o perfil de ácidos graxos dependendo da composição encontrada na carne. Quando esta é congelada podem ocorrer algumas alterações físico-químicas como alterações auto-oxidativas e hidrolíticas nos lipídeos e mudanças estruturais e funcionais devido a alterações na proteína muscular (NAZEMROAYA, SAHARI, REZAEI, 2009), isto irá depender principalmente do método empregado no congelamento, como também, da temperatura utilizada (ZYMON et al., 2007).

Baron et al., (2007) avaliaram a oxidação lipídica e proteica em truta arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) armazenado congelado em -20 °C, -30 °C e -80 °C por treze meses, obtendo aumento da concentração de ácidos graxos poliinsaturados em peixes armazenados a -20 °C e -30 °C e não observou aumento em peixes armazenados a -80 °C, esse aumento pode ter relação com alguma atividade enzimática que continuou a ocorrer nestas temperaturas.

Aumento na concentração de ácidos graxos após armazenamento foi observada por Takeungwongtrakul, Benjakul, H-Kittikun (2012) que estudaram o efeito do armazenamento em gelo de camarões *L. vannamei* armazenados em sacos de polietileno por 0, 2, 4 e 6 dias. Antes das análises, foram separadas na carcaça o cefalotórax e hepatopâncreas. Eles observaram aumento dos ácidos graxos no armazenamento em gelo sendo que no primeiro dia de armazenamento encontraram 2,68% de ácidos graxos no cefalotórax do animal e 8,71% no

hepatopâncreas, após 6 dias de armazenamento este valor aumentou para 9,11% no cefalotórax e 32,39% no hepatopâncreas. Ainda, foi observado uma redução do conteúdo de triglicerídeos nesse período, sugerindo que tenha ocorrido hidrólise dos triglicerídeos liberando ácidos graxos livres nos tecidos durante o armazenamento, principalmente sob ação da lipase ou fosfolipase.

6. CONCLUSÃO

A suplementação de biomassa apresentou efeito na composição corporal do camarão com aumento do teor de lipídeos e ácidos graxos, no entanto não houve alterações do perfil proteico.

O aumento do teor de ácidos graxos observado nos animais suplementados com 3% e 5% de biomassa representa uma vantagem em termos de qualidade nutricional do produto.

A suplementação com biomassa não interferiu na qualidade e conservação da carne do camarão no ensaio de armazenamento, sendo verificada a deterioração normal do produto ao longo do tempo, sendo observado menor teor de bases voláteis e TBARS em animais suplementados com 10% de biomassa, demonstrando que nesses animais a biomassa pode ter apresentado efeito protetivo na carne.

De maneira geral, a biomassa fermentada pode ser utilizada na ração animal sem danos à composição corporal e à qualidade da carne do animal, apresentando bom potencial como fonte alternativa de nutrientes bem como de redução de custos durante o ciclo produtivo do camarão *M. Rosenbergii*.

REFERÊNCIAS

- ABCC- Associação Brasileira de Criadores de Camarão. Levantamento da infraestrutura produtiva e dos aspectos tecnológicos, econômicos, sociais e ambientais da carcinicultura marinha no Brasil em 2011. **Revista da ABCC**, Rio Grande do Norte-RN, [s.n.], 2013. Disponível em: < <https://abccam.com.br/site/wp-content/uploads/2013/12/LEVANTAMENTO-DA-INFRAESTRUTURA-PRODUTIVA>>. Acesso em: 12/05/2020
- ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, A.R. et al. In vitro digestibility of *Yarrowia lipolytica* yeast and growth performance in Whiteleg Shrimp *Litopenaus vannamei*. **Journal of Fisheries and aquatic sciences**, v.18, [s.n.], p.395-404, 2018.
- ANUPAMA, P. R. Value added food: Single cell protein. **Biotechnology Advances**, v. 18, n.6, p. 459-479, 2000.
- ASAIKKUTTI, A.; BHAVAN, P. S.; VIMALA, K. Effects of different levels of dietary folic acid on the growth performance, muscle composition, immune response and antioxidant capacity of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**. Tamil Nadu, India, v. 464, [s.n.], p.136-144, 2016.
- AYIKU, S. et al. Effects of dietary yeast culture on shrimp growth, immune response, intestinal health and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Fish e Shellfish Immunology**, v.112, [s.n.], p.286-295, 2020.
- AZAM, A.K.M. et al. Quality and Safety aspects of fresh and frozen Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), Bangladesh, **American Journal of Food Science and Technology**, v.1, n.4, p.77-81, 2013.
- BAILEY, M.E.; FIEGER, E.A.; NOVAK, A.F. Objective test applicable to quality studies of ice stored shrimp. **Food Research**, v.21, [s.n.], p.611-620, 1956.
- BARON, C. et al. Protein and lipid oxidation during frozen storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v.55, n.20, p.8118-8125, 2017.
- BEGUM, M. et al. Quality assessment of shrimp (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879) during storage in ice. **Bangladesh Journal of Science Ind Research**, v. 47, n.1, p. 93-98, 2012.
- BEOPOULOS, A. et al. *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. **Progress in lipid Research**, v.48, [s.n.], p.375-387, 2009.
- BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas ‘post mortem’ em pescado, São Paulo, **Boletim ITAL**, v.22, [s.n.], p.169-192, 1985.

BERGE, G.M. et al. Physical treatment of high EPA *Yarrowia lipolytica* biomass increases the availability of n-3 highly unsaturated fatty acids when fed to Atlantic salmon. **Aquatic Nutrition**, v.19, [s.n], p.110-121, 2013.

BERKEL, B.M. et al. Conservação de peixes e carnes. **Fundação Agromisa**, p.97, 2005.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian. **Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos oficiais para análise de Alimentos de origem animal. **Secretaria de Defesa Agropecuária: MAPA**, Brasília, 2017a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº9.013, de 29 de março de 2017, regulamenta a Lei nº1.283 de 18 de dezembro de 1950 e a Lei nº7.889, de 23 de novembro de 1989 sobre Inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, mar. 2017b.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação da atividade de água (Aw) de produtos de origem animal. **Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO: MAPA**, Brasília, 2014a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação de bases voláteis totais em pescados por acidimetria. **Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO: MAPA**, Brasília, 2014b.

BRAGAGNOLO, N. RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Total lipid, cholesterol, and fatty acids of farmed freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), and Wild Marine Shrimp (*Penaeus brasiliensis*, *Penaeus schimitti*, *Xiphopenaeus kroyeri*), **Journal of food Composition and Analyses**, v.14, n.4, p.359-369, 2001.

BROWN, J. H.; NEW, M. B.; ISMAEL, D. Biology. In: NEW, M. B. et al. (Ed). **Freshwater prawns: biology and farming**. New Delhi, India, p. 18-39. 2010.

CADUN, A. CAKLI, S.KISLA, D. A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. **Food Chemistry**, v.90, [s.n], p.53-59, 2005.

CARSANBA, E; PAPANIKOLAOU, S.; ERTEN, H. Production of oils and fats by oleaginous microorganisms with an emphasis given to the potential of the nonconventional yeast *Yarrowia lipolytica*. **Critical reviews in Biotechnology**, v.38, n.8, p.1230-1243, 2018.

CAVALCANTI, L. B. Histórico. In: VALENTI, W. C. (Ed.). **Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões**. São Paulo: FAPESP, [s.n.], p. 17-20, 1998.

CHENG, J. et al. Fermentative hydrogen and methane cogeneration from cassava residues: effect of pretreatment on structural characterization and fermentation performance. **Bioresource Technology**, v. 179, [s.n.], p. 407-413, 2015.

COÊLHO, J.D. Produção de mandioca – Raiz, farinha e fécula. **Caderno Setorial ETENE**, v.3, n.44, 2018.

CORTEZ NETTO, J.P. et al. Formulation, microbiological analyses, centesimal composition and acceptability of breaded catfish (*Rhamdia quelen*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.2, p.181-187, 2010.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Análise mensal: Mandioca – Raiz, farinha e fécula**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. Mar.2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-mandioca>>. Acesso em: 30/05/2020

CUI, W. et al. Alleviation of cadmium toxicity in *Medicago sativa* by hydrogen-rich water. **Journal Hazard Mater**, v.260, [s.n.], p.715-724, 2013.

CUNHA, F.L. et al. Determinação e monitoramento de amins biogênicas por cromatografia líquida de alta eficiência em file de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.3, p.275-282, 2013.

D'ABRAMO, L. R.; NEW, M. B. Nutrition, Feeds and Feeding. In: NEW, M. B. et al. (Ed). **Freshwater prawns: biology and farming**. Wiley-Blackwell, Oxford, England, [s.n.], p. 560, 2010.

D'ABRAMO, L. R. Nutritional Requirements of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Comparisons with Species of Penaeid Shrimp. **Reviews in Fisheries Science**, v. 6, [s.n.], p. 153-163, 1998.

DE GRAVE, S.; FRANSEN, C. H. J. M. **Carideorum catalogus (Crustacea: Decapoda)**. Zool. Med. Leiden, [s.n.], p. 85, 2011.

FAO, FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture, Sustainability in Action**. Rome: FAO, 2020.

FAO. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Estado mundial de la pesca y la acuicultura**. Rome: FAO, 2018.

FAO - FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2012**. Rome: FAO, 2012.

FEDERICI, G; SHAW, B.J; HANDY, R.D. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oreochromis mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. **Aquatic Toxicology**, v.84, n.4, p. 415-430, 2007.

FORTUNA, L.F. FRANCO, M.R. Controle microbiológico do pescado refrigerado: uma revisão. **Editora Temática**, v.27, [s.n], 2013.

FURUYA, W.M.et al. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, [s.n], p.1143-1149, 2001.

FURUYA, W.M. et al. Composição centesimal e perfil de ácidos graxos do camarão-d'água doce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p. 1577-1580, 2006.

GONÇALVES, F.A.G. COLEN, G. TAKAHASHI, J.A. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. **Journal The Scientific World**.v. 2014, [s.n], 2014.

GONÇALVES, L. U; CARVALHO, M; VIEGAS, E. M. M. Utilização de levedura íntegra e seus derivados em dietas para juvenis de tilápias do Nilo. **Ciência Rural**, Santa Maria- RS, v. 40, n. 5, p. 1173-1179, 2010.

GUO, J. et al. Use of high-protein brewer's yeast products in practical diets for the Pacific white shrimp *Litopenaus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v.25, n.3 p.680-690, 2019.

GLENCROSS, B. ARNOLD, S. IRVIN, S. Bioactive factors in microbial biomass have the capacity to offset reductions in the level of protein in the diet of black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, V.446, n.1, p.74-79, 2015.

HATLEN, B. et al. Growth performance, feed utilization and fatty acid deposition in Atlantic Salmon, *Salmo Salar L.*, fed graded levels of high-lipid/high-EPA *Yarrowia lipolytica* biomass. **Aquaculture**, v. 39, [s.n.], p. 364-365, 2012.

HAUPTMAN, B. S. et al. Evaluation of grain distillers dried yeast as a fish meal substitute in practical-type diets of juvenile rainbow trout, *Oreochromis mykiss*. **Aquaculture**, v. 432, [s.n.], p. 7-14, 2014.

HEMATYAR, N. et al. Relationship between lipid and protein oxidation in fish, **Aquaculture Research**, v.50, n.5, p.1393-1403, 2019.

- HISANO, H. et al. Digestibilidade aparente de rações contendo levedura integral, levedura autolisada e parede celular pela tilápia do Nilo. **Instituto de Pesca**, v.34, n.2, p.281-287, 2008.
- HOWGATE, P. A. Critical Review of Total Volatile Bases and Trimethylamine as Indices of Freshness of Fish. Part 1: Determination. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, West Sussex, v. 9, n. 1, p. 29-57, 2010.
- HUA, K. et al. The future of Aquatic protein: Implications for protein Sources in Aquaculture Diets. **One Earth**. v 1.n.3.p.316-329, 2019.
- HUSS, H. H. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. **FAO Fisheries Technical Paper**. Roma, 202p. 1999.
- IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Diretoria de pesquisas, Coordenação da Agropecuária, **Pesquisa da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 46, p.1-8, 2018
- INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives. **Blackwell Scientific Publications**, 7th Edition; Method 2.301; Report of IUPAC Working Group WG 2/87; 1987
- IZQUIERDO, M. S.; TANDLER, A.; SALHI, M. Influence of dietary polar lipids quantity and quality on ingestion and assimilation of labeled fatty acids by larval gilthead seabream. **Aquaculture Nutrition**, v. 7, [s.n.], p. 153-160, 2001.
- JIN, L. et al. Changes in quality attributes of marine-trawling shrimp (*Solenocera classicornis*) during storage under different deep-frozen temperatures. **Journal of Food Science and Technology**. V.55, n.8, p.2890-2898, 2018.
- KIRSCHNIK, P.G.; VIEGAS, E.M.M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, [s.n.], p.407-412, 2004.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, L.D.; COX, M. M. Estrutura e Catálise - Aminoácidos, Peptídeos e Proteína. In: LEHNINGER, A.L.; NELSON, L.D.; COX, M.M. (Eds.). **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier. [s.n.], p. 1232, 2006.
- LEITÃO, M.F.F.; RIOS, D.P. Microbiological and chemical changes in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored under refrigeration. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, [s.n.], p.178-183, 2000.
- LEVINE, R.L. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins **Methods in Enzymology**, v.185, [s.n.], p.464-478, 1990.

- LINDQUIST, et al. Irradiation of *Yarrowia lipolytica* NRRL YB-567 creating novel strains with enhanced ammonia and oil production on protein and carbohydrate substrates. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 99, [s.n.], p. 9723-9743, 2015.
- LIU, H.; JI, X.; HUANG, H. Biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica*: Past, present and future. **Biotechnology Advance**, v. 33, n. 8, p. 1522-1546, 2015
- LUNA, G.A.L. Cambios quimicos y microbiologicos en la decomposicion de camarones (*Penaeus brasiliensis*). Control de calidad para muestras del mercado. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.3, [s.n.], p.381-400, 1971.
- MADZAK, C.; GAILLARDIN, C.; BECKERICH, J. Heterologous protein expression and secretion in the non-conventional yeast *Yarrowia lipolytica*: a review. **Journal of Biotechnology**, v. 109, [s.n.], p. 63-81, 2004.
- MAIRESSE, G. et al. Effects of geographic source, rearing system, and season on the nutritional quality of wild and farmed *Perca fluviatilis*. **Lipids**, v.41, [s.n.], p.221-229, 2006.
- McCOID, V.; MIGET, R.; FINNE, G. Effect of environmental salinity on the free amino acid composition and concentration in Penaeid shrimp. **Journal of Food Science**, v. 49, [s.n.], p. 327-330, 1984.
- MCFARLAND, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. In: Campbell, H.D et al. **Methods in immunology**. New York: Benjamin, p.435-437, 1970.
- MOHAN, K. Effect of dietary *Ganoderma lucidum* polysaccharides on biological and physiological responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergi*. **Aquaculture**, v. 16, [s.n.], 2016.
- MOURA, A.F.P. et al. Qualidade química e microbiológica de camarão-rosa comercializado em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, [s.n.], p. 1-10, 2003.
- MOURA, L.B.CAVALHEIRO, J.M.O. BORA, P.S. Lipid profile, fatty acid composition and cholesterol content in shrimp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. V.8, n.3, p.197-201, 2013.
- MORALES, E. M. et al. Effects of solid-state fermentation and the potential use of cassava - by-products as fermented food. **Waste and biomass valorization**, n.11, [s.n.], p. 1289-1299, 2018.
- MOREIRA, A.B. et al. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian Brycon freshwater fishes. **Journal Food Composition analysis**, v.14, [s.n.], p.565-574, 2001.

- MURALISANKAR, T. et al. Effects of dietary zinc on the growth, digestive enzyme activities, muscle biochemical compositions, and antioxidant status of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v. 448, [s.n.], p. 98-104, 2015.
- MUKHOPADHYAY, P. K. et al. Applied Nutrition in Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, Culture. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 13, [s.n.], p. 317-340, 2013.
- NAZEMROAYA, S, SAHARI, M.A, REZAEI, M,. Effect of frozen storage on fatty acid composition and changes in lipid content of *Scomberomus commersoni* and *Carcharhinus dussumieri*, **Journal of Applied Ichthyology**, v.25, n.1, p.91-95, 2009.
- NEW, M. B. History and global status of freshwater prawn farming. *In*: NEW, M.B.; VALENTI, W.C. (Ed.) **Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii***. Oxford, Blackwell Science, [s.n], 2000.
- NEW, M. B.; KUTTY, M.N. Commercial freshwater prawn farming and enhancement around the world. *In*: NEW, M. B. et al. (Ed). **Freshwater prawns: biology and farming**. Wiley-Blackwell, Oxford, England, 560 p., 2010.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- NINOW, J. et al. Alternatives for adding value for the fish processing wastes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n.6, p.669-677, 2009.
- OKPALA, C.O.R. The Physicochemical Changes of Farm-Raised Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as Influenced by Iced Storage. **Food and Nutrition Sciences**, v. 6, [s.n.], p. 906-922, 2015.
- OGAWA, M.MAIA, E.L. Manual da Pesca: Ciência e Tecnologia de Pescado. São Paulo, Varela, v.1, p.430, 1999.
- OGAWA, M. et al. Resíduos do beneficiamento do camarão cultivado: obtenção de pigmentos carotenóides. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.333-337, 2007
- ORMOND, J. G. P. et al. **A carcinicultura brasileira**. BNDES Setorial. Rio de Janeiro, n. 19, p. 91-118, 2004.
- PATSIOS, S.I. et al. Sustainable animal feed protein through the cultivation of *Yarrowia lipolytica* on Agro-Industrial wastes and by-products. **Sustainability**, v.12, n.4, P.1398, 2020.
- PEREIRA, D.M. et al. Amino acids, fatty acids and sterols profile of some marine organisms from Portuguese waters. **Food Chemistry**, v.141, [s.n.], p.2412-2417, 2013.

PIKE, I. JACKSON, A. Fish oil: production and use now and in the future. **Lipid Technology**, v.22, n.3, p.59-61, 2010.

PORTELLA, C. G.; SANT'ANA, L. S; VALENTI, W. C. Composição química e teor de ácidos graxos em camarões de água doce cultivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 1115-1118, 2013.

PRASAD, L. et al. Use of Brewer's Yeast *Saccharomyces cerevisiae* as Growth Promoter in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii de Man*) Post Larvae. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 13, [s.n], p. 447-452, 2013.

QUEIRONGA, I.M.B.N. et al. Sensory quality of frozen shrimp *Litopenaus vannamei*. **Semina Ciências Agrárias**, v.35, n.4, p.1801-1812, 2014.

QIU, X.; DAVIS, D. A. Evaluation of dried fermented biomass as a feed ingredient in plant-based practical diets for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 383-391, 2017.

RABIE, M, et al. Changes in free amino acids and biogenic amines of Egyptian salted-fermented fish (Fesekkh) during ripening and storage. **Food Chemistry**, v.115, [s.n], p.635-638, 2009.

RAJOKA, M. et al. Production and characterization of a highly active cellobiase from *Aspergillus niger* grown in solid state fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 9, p. 991-998, 2006.

REBOUÇAS, L.O.S, et al. Qualidade física e sensorial do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em água doce. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.16, [s.n], p.473-479, 2017.

RIBEIRO, E. P; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo, 196 p, 2007.

RIBEIRO, P.A.P. et al. **Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce**, 2012. Disponível em: <<https://vet.ufmg.br/ARQUIVOS/EDITORIA/20131002140549.pdf>> Acesso em: 25/06/2020.

RIBEIRO, P. A. P.; LOGATO, P. V. R. **Criação de Camarões de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*)**, 2012. Disponível em: <<http://www.forumamordepeixe.com.br/download/Criacaocamaroes.pdf>> Acesso em: 15/03/2019.

RICHARD, L. et al. Availability of essential amino acids, nutrient utilization and growth in juvenile black tiger shrimp, *Penaus Monodon*, following fishmeal replacement by plant protein. **Aquaculture**, [s.n.], DOI: <[10.1016/j.aquaculture.2011.09.032](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.032)> p. 109-116, 2011.

- RODRIGUES, J. B. R.; ZIMMERMANN, S. Cultivo de camarões de água doce. *In: Aquicultura: Experiências Brasileiras*. Florianópolis - SC, [s.n.], p. 145-198, 2004.
- ROSA, M. F. et al. Valorização de resíduos de agroindústria. *In: Simpósio internacional sobre gerenciamento de resíduos agropecuários e agroindustriais*: Palestras. Foz do Iguaçu – PR, p. 98 –105, 2011.
- SAAD, S.A.; HABASHY, M.M.; SHARSHAR, M.K. Growth response of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man), to diets having different levels of Biogen®. *World Applied Sciences Journal*. v.6, [s.n.], p.550-556, 2009.
- SADOK, S.; ABDELMOULAH, A.; EL ABED, A. Combined Effect of Sepia Soaking and Temperature on the Shelf Life of Peeled Shrimp *Penaeus kerathurus*. *Food Chemistry*, v. 88, [s.n.], p. 115-122, 2004.
- SAMPAIO, S. R. et al. Camarões de águas continentais (Crustacea, Caridea) da Bacia do Atlântico oriental paranaense, com chave de identificação tabular. *Acta Biológica Paranaense*, v. 38, [s.n.], p. 11-34, 2009.
- SANCHEZ, A. S. et al. Waste bio-refineries for the cassava starch industry: new trends and review of alternatives. *Renewable and Sustainable energy reviews*, v. 73, [s.n.], p. 1265-1275, 2017.
- SANTOS. et al. **Deteção de lipase por cepa de *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus***. In: CONICBIO / CONBIO / SIMCBIO, Recife - PE. Resumos Expandidos. Recife, v. 2, p. 1–11, 2013.
- SANTOS, F.L. et al. Efeito do fornecimento de ração complementada com semente de linhaça sobre os macronutrientes e colesterol em tecidos de camarões da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, [s.n.], p.851-855, 2007.
- SEENIVASAN, C.; BHAVAN, P.S.; RADHAKRISHNAN, S. Effect of probiotics (Binifit™) on survival, growth, biochemical constituents and energy budget of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *Elixir Aquaculture*, v. 41, [s.n.], p. 5919-5927, 2011.
- SHAMSHAD, S.I. et al. Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures. *Journal of Food Science*, v.55, [s.n.], p.1201-1205, 1990.
- SIGMA-ALDRICH, EUA, **F.A.M.E. Mix**, C4-C24, 100mg neat, product id 18919-1AMP
SIMOES, J.S. et al. influence of packaging permeability on its shelf life. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2014 DOI: 10.1080/10498850.2013.826769
- SIKORSKI, Z.E. Tecnologia de los productos del mal. Acirbia, Espanha, p.330, 1994.

SILVA, J.A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

SIQUEIRA, T. V. Aquicultura: A nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. **Boletim Regional, urbano e ambiental**, v.17, [s.n], p.53-60, 2017.

SLADE, L. LEVINE, H. REID, D.S. Beyond water activity: Revent advances based on an alternative approach to the assesment of food quality and safety, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.30, [s.n], p.115-360, 1991.

SOARES, K.M.P.; GONÇALVES, A.A. Qualidade e segurança do Pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.71, n.1, 2012.

SOOKYNG, D.; DAVIS, A. D. Pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed high levels of soybean meal in various combinations. **Aquaculture**, v. 319, [s.n.], p. 141-149, 2011.

SOUZA, F.A.et al. Use of agro-industrial waste for the production of microbial lipids by *Yarrowia lipolytica* qu69. **Brazilian Journal of Development**, v.5, n.7, p.8801-8810, 2019.

TACON, A.G.J; METIAN, M. Feed mathers: Satisfying the feed demand of aquaculture. **Reviews in Fisheries Science e Aquaculture**, v.23, n.1, p.1-10, 2015.

TAKAHASHI, M.; GONÇALO, S. A. **Cultura da Mandioca**. Ed. Olímpica: Paranavaí, p. 116, 2005.

TAKEUNGWONGTRAKUL, S. BENJAKUL, S. H-KITTIKUN, A. Lipids from cephalothorax and hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaus vannamei*): Compositions and deterioration as affected by iced storage. **Food Chemistry**, v.134, [s.n]. p.2066-2074, 2012.

TERRAZAS-VIERRO, M. et al. Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus Vannamei*. **Aquaculture**, v. 308, [s.n.], p. 166-173, 2010.

TIMOTHEÉ, H.J.A. et al. The effects of dietary yeast hydrolysate on growth, hematology, antioxidant enzyme activities and non-specific immunity of juvenile nile tilápia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v.101, [s.n], p.168-175, 2020.

TOCHER, D.R. et al. Omega-3 long-Chain polyunsaturated Fatty acids, EPA and DHA: Bridging the gap between supply and demand. **Nutrients**, v.11, n.89, p.1-20, 2019

VALENTI, W. C. **Carcinicultura de água doce no Brasil: mitos, realidade e perspectivas**.

In: X Simpósio Brasileiro de Aquicultura, Recife – PE, p. 199-206, 1998.

VALENTI, W. C. Criação de camarões em águas interiores. **Boletim Técnico do CAUNESP**. Jaboticabal: FUNEP, n .2, p.81, 1996.

VALENTI, W. C.; MALASSEN, M.; BARROS, H. P. Sistema de recirculação e rotina de manejo para larvicultura de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* em pequena escala. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 35, [s.n.], p. 141-151, 2009.

VALENTI, W. C. Situação atual, perspectivas e novas tecnologias para produção de camarão de água doce. In. **Simpósio Brasileiro de Aquicultura**, Goiânia, [s.n.], p. 99-106, 2002.

VONGSAWASDI, P.; NOOMHORM, A. Effects of handling methods on quality changes of giant freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 9, n. 3, p. 57-71, 2000.

XU, Q.Q. et al., Effects of parental dietary linoleic acid on growth performance, antioxidant capacity, and lipid metabolism in domestic pigeons (*Columba livia*), **Poultry Science**, v.99, n.3, p.1471-1482, 2020.

WATANABE, A.L.VIEGAS, E.M.M. GONÇALVES, L.U. Levels of yeast and its by-products on pacu juveniles feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, 2010.

WATANABE, T.; KIRON, V. Prospects in larval fish dietetics. **Aquaculture**, v. 124, [s.n.], p. 223-251, 1994.

WOUTERS, R. et al. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation. **Aquaculture**, v. 198, [s.n.], p. 307–323, 2001.

YAN, J. et al. Engineering *Yarrowia lipolytica* to simultaneously produce lipase and single cell protein from agro-industrial wastes for feed. **Scientific Reports**, v.8, [s.n.], p.758, 2018.

YANG, Q. et al. Effect of replacing fish meal with extruded soybean meal on growth, feed utilization and apparent nutrient digestibility of juvenile White shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Ocean University of China**, v.14, n.5, p.865-872, 2015.

ZAREHGASHTI, G.H. et al. The quality changes of frozen and dried tiny shrimp (*Macrobrachium nipponense*) meat during six months storage. **Journal of Nutrition and Health Sciences**, v.5, n.2, 2018.

ZENEBO, O. PASCUET, N.S. TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 5ªed. São Paulo, 2008.

ZHANG, J. et al. Effect of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene

expression in Pacific white shrimp *L. vannamei*, **Aquaculture Nutrition**, v.19, n.6, p.917-927, 2013.

ZIMMERMANN, S. Manejo de Alimentos e Alimentação dos Camarões. *In*: VALENTI, W C. **Carcinicultura de Água Doce: Tecnologia para a Produção de Camarões**. IBAMA/FAPESP, Brasília, DF, [s.n.], p. 239-267, 1998.

ZINJARDE, S.S. Food related applications of *Yarrowia lipolytica*. **Food Chemistry**, v.152, [s.n.], p.1-10, 2014.

ZYMON, M et al. Effect of freezing and frozen storage on fatty acid profile of calves' meat, **Polish Journal of food and nutrition sciences**, v.57, n.4, p.647-650, 2007.