



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Antônio de Oliveira Vieira

**Influência de combo microbiano na caracterização do farelo de arroz  
fermentado**

Florianópolis

2024

Antônio de Oliveira Vieira

**Influência de combo microbiano na caracterização do farelo de arroz  
fermentado**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura

Orientador: Prof. José Luiz Pedreira Mouriño, Dr.  
Coorientadora: Profa. Scheila Anelise Pereira Dutra, Dra.

Florianópolis

2024

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.  
Dados inseridos pelo próprio autor.

Vieira, Antônio de Oliveira

Influência de combo microbiano na caracterização do farelo de arroz fermentado / Antônio de Oliveira Vieira ; orientador, José Luiz Pedreira Mouriño, coorientadora, Scheila Anelise Pereira Dutra, 2024.

61 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. produto. 3. fermentação sólida. 4. bactérias ácido lácticas. 5. nutrientes. I. Mouriño, José Luiz Pedreira . II. Dutra, Scheila Anelise Pereira . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Antônio de Oliveira Vieira

**Influência de combo microbiano na caracterização do farelo de arroz  
fermentado**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado, em 31 de outubro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. José Luiz Pedreira Mouriño, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Luis Otávio Brito da Silva, Dr.  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Thiago El Hadi Perez Fabregat, Dr.  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em aquicultura.

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Prof. José Luiz Pedreira Mouriño, Dr.  
Orientador

Florianópolis, 2024.

Dedico este trabalho a minha família, composta por meus pais Zeno e Bianca, e ao meu irmão gêmeo Abdon.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por tudo e por tanto, pelas graças recebidas na minha vida, pela minha família, trabalho, saúde e amigos que me fortaleceram por toda essa caminhada.

Agradeço ao meu orientador José Luiz Pedreira Mouriño, pela oportunidade de contribuir para com a Universidade Federal de Santa Catarina e deixar um legado que vem desde a Graduação na mesma.

Agradeço a minha coorientadora Scheila Anelise Pereira Dutra, por todo auxílio e direcionamento do trabalho proposto.

Agradeço aos colegas e técnicos do Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS) e Laboratório de Bioprocessos (LBP-LABCAL) pelo companheirismo e profissionalismo.

Agradeço em especial aos amigos Caio e Adriano, por me fortalecerem em momentos difíceis e me apoiarem sem exceções.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“O que me apaixona na vida é poder colaborar para uma obra, para uma realidade mais durável do que eu. É nesse espírito e visão que procuro me aperfeiçoar e dominar um pouco mais as coisas”. (Teilhard de Chardin)

## RESUMO

Na aquicultura a busca por estratégias para a inclusão de ingredientes vegetais em dietas estão sendo investigadas. O farelo de arroz (FA) pode ser uma alternativa viável, após o enriqueci por meio da fermentação. Porém, é essencial o desenvolvimento adequado dos métodos fermentativos e seleção de cepas microbianas probióticas. O objetivo deste estudo foi avaliar a fermentação do FA (*Oryza sativa*) por um combo microbiano (CM). No ensaio I, ocorreu a seleção de bactérias ácidos lácticas (BAL) na fermentação do FA individualmente, por 48h a 36°C. Os critérios avaliados foram pH, contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e teste de antagonismo. O CM foi composto por: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*. No ensaio II, ocorreu a fermentação do FA em dois grupos: o CM e o controle de fermentação natural (CFN), sem adição de microrganismos probióticos, por 48h a 36°C. Foi avaliado o pH, contagens de UFC das (BAL), das bactérias heterotróficas totais (BHT) e leveduras totais (LT). E caracterização do FA fermentado pelo CM (FACM) em relação ao FA *in natura* (FAIN). No grupo FACM ( $4,12 \pm 0,04$ ) houve uma queda de 24% do pH comparado ao CFN ( $5,42 \pm 0,28$ ). Na UFC das BAL ocorreu um aumento ( $p < 0,05$ ) com a maior contagem obtida em 24h e 48h com o CM ( $9,52 \pm 0,07$ ) em relação ao CFN ( $7,24 \pm 0,15$ ), um incremento de 23,95%. Para BHT, o FACM após 48h apresentou incremento de 17% ( $8,46 \pm 0,31$ ) em relação ao CFN ( $7,07 \pm 0,11$ ). Para LT os resultados foram similares as BAL, com maior UFC  $g^{-1}$  após 48h FACM ou CFN. O FACM apresentou maior concentração de leveduras em comparação ao CFN. Na caracterização do FACM apresentou alteração significativas na composição físico-química, nos macronutrientes e nos micronutrientes. Houve aumento de 40% e 6%, na fibra bruta (FB) e proteína bruta (PB), respectivamente. Além disso, observou-se redução de 2,66% no conteúdo de extrato etéreo (EE), 1,91% na matéria mineral (MM), 3,1% de fosfato, 3,1% de fosforo e 4,48% de potássio. E aumento do conteúdo de sódio, ferro e cálcio, em 43,03%, 74,58% e 60,77%, respectivamente, no FACM em relação ao FAIN. Nos aminoácidos essenciais incremento significativo em: 15,4% de Triptofano, 10,25% de Valina, 9,5% de Leucina, 8,6% de Lisina, 6,9% Fenilalanina e 5,9% para Isoleucina. E redução significativa de 5,77% de Arginina. Para os aminoácidos não essenciais houve aumento significativo em: 10,6% para Glicina, 9,8% para Alanina, 9,1% para Prolina, 7,36% para Ácido aspártico, 6,25% para Serina e 6,19% para o Ácido glutâmico. Além disso, nesse mesmo produto do FACM, o teor de proteína bruta aumentou significativamente em 8,83%, e a soma total de aminoácidos em 6,88% em relação ao FAIN. Na microscopia eletrônica de varredura (MEV), houve alterações na porosidade, microestrutura, aumento da fragmentação das partículas, visualização da estrutura cristalina de cálcio e presença dos probióticos das famílias Lactobacillaceae, Saccharomycetaceae e Bacillaceae. Portanto, a fermentação pelo CM promoveu qualidade desejáveis ao FA para formulação de dietas e possibilita a reutilização desse coproduto rico em nutrientes e valor biológico.

**Palavras-chave:** Aquicultura; coproduto; bactérias ácido lácticas; fermentação sólida; nutrientes.



## ABSTRACT

In aquaculture, the search for innovative strategies to improve the inclusion of ingredients in diets is being investigated. Rice bran (RBM) is a viable alternative and can be enriched through fermentation. However, proper development of fermentation methods and selection of probiotic microbial strains is essential. The aim of this study was to evaluate the fermentation of FA (*Oryza sativa*) by a microbial combo (CM). In trial I, the selection of lactic acid bacteria (LAB) took place in the fermentation of FA individually, for 48 hours at 36°C. The criteria evaluated were pH, colony-forming unit (CFU) count and antagonism test. The CM was composed of: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. In trial II, FA was fermented in two groups: CM and a control with natural fermentation (CFN), for 48 hours at 36°C. The pH, CFU counts of (BAL), total heterotrophic bacteria (BHT) and total yeasts (LT) were assessed. The FA fermented by CM (FACM) was also characterized in relation to the FA in natura (FAIN). In the FACM group (4.12±0.04) there was a 24% drop in pH compared to CFN (5.42±0.28). There was an increase in BAL CFU ( $p < 0.05$ ) with the highest count obtained at 24h and 48h with CM (9.52±0.07) compared to CFN (7.24±0.15), an increase of 23.95%. For BHT, the FACM after 48 hours showed an increase of 17% (8.46±0.31) compared to the CFN (7.07±0.11). For LT, the results were similar to BAL, with higher CFU g<sup>-1</sup> after 48h in FACM or CFN. FACM had a higher concentration of yeasts compared to CFN. The characterization of FACM showed significant changes in its physicochemical composition, macronutrients and micronutrients. There was a 40% and 6% increase in crude fiber (CF) and crude protein (CP), respectively. In addition, there was a 2.66% reduction in the content of ether extract (EE), 1.91% in mineral matter (MM), 3.1% in phosphate, 3.1% in phosphorus and 4.48% in potassium. Sodium, iron and calcium content increased by 43.03%, 74.58% and 60.77% respectively in FACM compared to FAIN. In terms of essential amino acids, there was a significant increase of 15.4% in Tryptophan, 10.25% in Valine, 9.5% in Leucine, 8.6% in Lysine, 6.9% in Phenylalanine and 5.9% in Isoleucine. And a significant reduction of 5.77% in Arginine. For the non-essential amino acids, there was a significant increase of: 10.6% for Glycine, 9.8% for Alanine, 9.1% for Proline, 7.36% for Aspartic Acid, 6.25% for Serine and 6.19% for Glutamic Acid. In addition, in this same FACM product, the crude protein content increased significantly by 8.83% and the total sum of amino acids by 6.88% compared to FAIN. Scanning electron microscopy (SEM) showed changes in porosity, microstructure, increased particle fragmentation, visualization of the crystalline calcium structure and the presence of probiotics from the Lactobacillaceae, Saccharomycetaceae and Bacillaceae families. Therefore, fermentation by CM promoted desirable quality to FA for formulating diets and makes it possible to reuse this coproduct, which is rich in nutrients and biological value.

**Keywords:** Aquaculture; coproduct; lactic acid bacteria; solid fermentation; nutrients.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos da fermentação microbiana em diversos substratos, condições de cultivo, microrganismos, alvos e respostas. ....	18
Tabela 2. Cepas de bactérias e levedura utilizadas no experimento. ....	29
Tabela 3. Composição centesimal do farelo de arroz sem processo fermentativo ( <i>in natura</i> ) e do farelo de arroz fermentado com o combo microbiano na base seca. ....	41
Tabela 4. Perfil de aminoácidos totais e proteína bruta do farelo de arroz sem processo fermentativo ( <i>in natura</i> ) e do farelo integral de arroz fermentado pelo combo microbiano. ....	42

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema representativo do farelo vegetal fermentado. ....	19
Figura 2.	Valores de pH do produto da fermentação do farelo de arroz pelas bactérias ácido lácticas individualmente. ....	34
Figura 3.	Contagens de unidades formadoras de colônia do produto da fermentação do farelo de arroz pelas bactérias ácido lácticas individualmente. ....	35
Figura 4.	Teste de antagonismo por estrias entre as cepas bactérias ácido lácticas	36
Figura 5.	Valores de pH do produto da fermentação do farelo de arroz natural (controle) e da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo de (0, 24 e 48 horas). ....	37
Figura 6.	Contagem de bactérias ácido lácticas (BAL) do produto da fermentação do farelo de arroz natural (controle) e da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo de (0, 24, 48 horas). ....	38
Figura 7.	Contagem de bactérias heterotróficas totais (BHT) do produto fermentação do farelo de arroz natural (controle) ou da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo (0, 24, 48 horas). ....	39
Figura 8.	Contagem de leveduras totais do produto da fermentação do farelo de arroz natural (controle) ou da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo (0, 24, 48 horas). ....	40
Figura 9.	Imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) do farelo de arroz sem processo fermentativo ( <i>in natura</i> ) e do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano. ....	43

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1.	AQUICULTURA.....	13
1.2.	DESAFIOS E CUSTO DE PRODUÇÃO .....	13
1.3.	NUTRIÇÃO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS .....	14
1.4.	FARELO VEGETAL NA AQUICULTURA .....	15
1.5.	FARELO DE ARROZ NA AQUICULTURA .....	16
1.6.	FERMENTAÇÃO NA AQUICULTURA.....	17
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	21
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>3.</b>	<b>ESTRUTURA DO TRABALHO</b> .....	<b>22</b>
<b>4.</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>23</b>
4.1.	INTRODUÇÃO .....	26
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	28
4.2.1.	<b>Matéria-prima</b> .....	28
4.2.2.	<b>Microrganismos</b> .....	28
4.2.3.	<b>Seleção de bactérias ácido lácticas</b> .....	29
4.2.4.	<b>Teste de antagonismo</b> .....	30
4.2.5.	<b>Desenho experimental da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano</b> .....	30
4.2.6.	<b>Contagem microbiológica</b> .....	31
4.2.7.	<b>composição centesimal</b> .....	31
4.2.8.	<b>Aminoácidos totais e triptofano</b> .....	32
4.2.9.	<b>Ácido fítico</b> .....	32
4.2.10.	<b>Microscopia eletrônica de varredura</b> .....	32
4.2.11.	<b>Análise estatística</b> .....	33
4.3.	RESULTADOS .....	33
4.3.1.	<b>Seleção de microrganismos (bal)</b> .....	33
4.3.2.	<b>Teste de antagonismo in vitro</b> .....	35
4.3.3.	<b>Fermentação do combo microbiano e fermentação natural</b> .....	36
4.3.4.	<b>Caracterização do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano e farelo de arroz sem processo fermentativo (in natura)</b> .....	40

4.4.	DISCUSSÃO .....	44
4.5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
	REFERÊNCIAS .....	49
	<b>REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....</b>	<b>52</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. AQUICULTURA

O desenvolvimento de tecnologias aliado ao aperfeiçoamento dos sistemas de produção impulsiona o crescimento da aquicultura. Desta forma, a sustentabilidade precisa ser aplicada juntamente a criação de organismos aquáticos, essa união, é denominada “revolução azul” (ARAUJO et al., 2022; BOYD et al., 2020; BOYD; MCNEVIN; DAVIS, 2022; MANSOUR et al., 2022; TEWARI et al., 2022)

Nesse sentido, a aquicultura é o setor de produção animal que mais se destaca, pois está alinhado com os objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS), produzindo alimentos a partir de sistemas produtivos mais ambientalmente amigáveis (THILSTED et al., 2016); gerando empregos diretos e indiretos; bem como desenvolvendo aspectos socioeconômicos, conservação ambiental e alimentação segura de alto valor nutricional (FAO, 2022).

No que diz respeito ao volume de produção e movimentação econômica, a produção mundial da aquicultura no ano de 2020 atingiu 87,5 milhões de toneladas, com valor estimado em \$281,5 bilhões (FAO, 2022). No Brasil, a produção da aquicultura destaca-se os setores da piscicultura com 558,9 mil toneladas e receita de R\$ 4,7 bilhões e a carcinicultura com 78,6 mil toneladas e receita de R\$ 1,6 bilhões ambos para o ano de 2021(MIOTTO et al., 2022).

Essa expressividade da produção aquícola está intimamente relacionada ao aumento populacional, que impulsiona a crescente demanda por alimentos. E isso tem se tornado um desafio para os setores de produção de alimentos (FAO, 2021). Mesmo que a aquicultura seja uma das principais alternativas e seu crescimento esteja alinhado com princípios da sustentabilidade e bem-estar animal; ocorre o aumento da demanda de insumos e matérias primas. Sendo estes, alguns dos principais desafios para reduzir custos de produção e aumentar a eficiência produtiva (MITRA, 2021).

### 1.2. DESAFIOS E CUSTO DE PRODUÇÃO

A *feed-based aquaculture*, ou seja, aquicultura baseada na oferta de alimentos formulados aos organismos cultivados, representa cerca de 70% da produção mundial e pode atingir em até 70% dos custos operacionais. Portanto, o manejo incorreto e

alimentação excessiva causam aumento de matéria orgânica, deterioração da qualidade da água e quebra o equilíbrio do ambiente. Esses fatores reduzem a imunidade dos organismos aquáticos favorecendo o surto de enfermidades e mortalidade, gerando perdas econômicas significativas ao setor (CHATVIJITKUL et al., 2017; HODAR et al., 2020; TACON; METIAN, 2015)

Além disso, com o crescente aumento dos custos e há também uma crescente demanda de novos ingredientes para formulação de dietas aos organismos cultiváveis. Assim, torna-se necessária a busca por ingredientes mais baratos, de fácil acesso, sustentáveis economicamente e ambientalmente para substituir os insumos comumente empregados em formulações de rações (COLOMBO; TURCHINI, 2021; GLENCROSS et al., 2020).

### 1.3. NUTRIÇÃO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS

Os nutrientes contidos nas rações devem suprir os requerimentos exigidos pela espécie cultivada. Isso permite um ótimo desempenho produtivo e redução de desperdícios. A qualidade do alimento está diretamente ligada as matérias primas (insumos) na sua composição (MASAGOUNDER et al., 2016; YURU et al., 2020).

Atualmente, a farinha e o óleo de peixe são os principais ingredientes utilizados na formulação de alimentos para organismos aquáticos. No entanto, a redução da disponibilidade desses insumos para produção de rações, aumento dos custos de aquisição, bem como, o impacto ambiental da pesca gerado na sua obtenção, são pontos negativos para o setor (BOYD; MCNEVIN, 2015; HODAR et al., 2020; TACON; METIAN, 2015)

A farinha e óleo de peixe são excelentes fontes de proteínas, lipídios, aminoácidos essenciais, fósforo, cálcio, outros minerais, vitaminas e ácidos graxos essenciais ômega-3, tais como, ácido docosahexaenoico (DHA) e ácido eicosapentaenoico (EPA). Estas características permitem atender o perfil nutricional, aproximado aos requerimentos da maioria das espécies cultivadas (BOYD; MCNEVIN, 2015; HODAR et al., 2020; JOBLING, 2012; TACON; METIAN; HASAN, 2009).

É notável a dificuldade de aquisição destes insumos, o que ressalta a importância de pesquisas em busca de ingredientes alternativos. Esses, devem possuir características semelhantes ao perfil nutricional, palatabilidade,

digestibilidade, disponibilidade e preço dos ingredientes convencionais (HODAR et al., 2020).

#### 1.4. FARELO VEGETAL NA AQUICULTURA

As matérias primas de origem vegetal, são uma alternativa viável ao uso de farinha e óleo de peixe para algumas espécies da aquicultura (KOKOU; FOUNTOULAKI, 2018). Podem ser aplicadas tanto na inclusão em formulações de dietas, como, em técnicas de manejo de fertilização orgânica dos cultivos (SILVA; CAMPOS; CORREIA, 2008; TESSER et al., 2019).

Nesse cenário a inclusão de ingredientes vegetais em dietas vem se tornando uma realidade (HODAR et al., 2020). Estes podem reduzir os efeitos negativos da pesca, a exemplo da substituição em até 75% de farinha de peixe por farelo de soja, sem comprometer a performance zootécnica (SOARES et al., 2015; TILMAN; CLARK, 2014). Adicionalmente, a inclusão de ingredientes oriundos de cereais, legumes, concentrado proteico vegetal, aditivos alimentares, óleos e farelos vegetais, não afetaram o desempenho e possibilitam a redução de custos na alimentação (FRECCIA et al., 2019; RAMESH et al., 2022; SUÁREZ et al., 2009).

Dentre os ingredientes vegetais, o farelo vegetal é um *by-product feedstuff* (BPF), ou seja, um coproduto alimentar, adquirido após colheita ou processamento de um produto (FADEL, 1999), tais como, as sementes de oleaginosas, legumes e grãos de cereais (GATLIN et al., 2007). Em geral, esses farelos vegetais são constituídos por proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais (RAMACHANDRA KOLGI; U. B., 2022). No entanto apresentam algumas deficiências, como a baixa palatabilidade, perfil de aminoácidos desbalanceado e presença de fatores antinutricionais (FAN) (DAWOOD; KOSHIO, 2020).

Os FAN são compostos que servem para proteção das plantas contra possíveis predadores, porém, quando presentes na dieta promovem a redução ou impedem a utilização e/ou absorção de certos nutrientes (DAWOOD; KOSHIO, 2020); (RAMACHANDRA KOLGI; U. B., 2022). Dentre os FAN, destacam-se: saponinas, taninos, ácido fítico, lectinas, inibidores de protease e amilase. Os FAN promovem efeitos negativos no cultivo de organismos aquáticos, com a redução da ingestão do alimento, perdas no desempenho zootécnico e aumento da produção de fezes (KOKOU; FOUNTOULAKI, 2018; KROGDAHL; M. KORTNER; W. HARDY, 2022; SAMTIYA; ALUKO; DHEWA, 2020).



Sendo assim, há uma necessidade de desenvolver ingredientes alternativos para as rações, com base no uso mais eficiente dos recursos naturais disponíveis, aproveitando-se de BPF e tornando-os ingredientes altamente nutritivos para alimentação aquática (ALBREKTSEN et al., 2022). Uma forma de aprimorar a qualidade dessas matérias primas é o emprego de técnicas de fermentação, por exemplo. Com isso pode-se reduzir custos nas fábricas de dietas para animais e dar maior sustentabilidade na atividade (SPAGGIARI et al., 2021).

### 1.5. FARELO DE ARROZ NA AQUICULTURA

O arroz (*Oryza sativa L.*) é um dos cereais mais cultivado e grão consumido no mundo (CHINMA et al., 2015; GUL et al., 2015). O Brasil representa cerca de 43% da produção de arroz da América Latina. Destaca-se como o maior produtor em área colhida do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), chegando a 11,7 milhões de toneladas (DA SILVA; WANDER; MAGRI FERREIRA, 2019). No entanto, o farelo de arroz é um coproduto obtido durante o processamento do arroz (STEIN et al., 2015).

Atualmente, uma das destinações do farelo de arroz é como ingrediente na alimentação animal (WEBBER et al., 2014). Possui uma composição química altamente nutritiva, contendo de 12-17% de proteína, 13 a 23% de lipídios, 34 a 54% de carboidratos, 6 a 14% de fibras e 8 a 18% de cinzas. Além de ser naturalmente rico em antioxidantes, como o tocoferol, tocotrienol e oryzanol (GODBER; WELLS, 1994; SAUNDERS, 1985). Assim como, é considerado uma fonte prébiotica, contém frações de fibras compostas por celulose, lignina e hemicelulose. Entretanto, reduzem a digestibilidade e biodisponibilidade de nutrientes em virtude dos FAN (ELLEUCH et al., 2011; KATAOKA et al., 2007; KATINA et al., 2012).

A inclusão do farelo de arroz em dietas para as espécies aquícolas varia de acordo com cada espécie cultivada. Chegando a 3,8%, 8,2% e em até 15,7%, para o Camarão branco-do-Pacífico, Tilápia do Nilo e Carpa comum, respectivamente (VAN RIEL et al., 2023). Sendo assim, reaproveitar ou transformar este coproduto em formas mais funcionais para, ração animal, é uma alternativa sustentável para gestão de resíduos agrícolas (KARI et al., 2023).

Dentre as alternativas para melhorar o farelo de arroz destaca-se a utilização da fermentação sólida (do inglês *Solid State Fermentation* - SSF), bem como, o emprego de uma combinação de diversos microrganismos probióticos (do inglês *Multi Strain Probiotics* - MSP) (KWOJI et al., 2021; SAYED et al., 2022).

## 1.6. FERMENTAÇÃO NA AQUICULTURA

A fermentação é um processo natural pelo qual os microrganismos estabilizam a matéria orgânica via anaerobiose, sendo praticado pela humanidade há milhares de anos (CIANI; COMITINI; MANNAZZU, 2018). Possui aplicações em: produção de bebidas, alimentos e/ou coprodutos, conservação dos alimentos e elevação da qualidade nutricional de produtos (CIANI; COMITINI; MANNAZZU, 2018; MAICAS, 2020; MARÍA MARTÍNEZ-ESPINOSA, 2020).

O crescimento dos microrganismos é influenciado pelo conteúdo nutricional do substrato, pH, potencial redox, água livre, temperatura e umidade relativa (GHNIMI; GUIZANI, 2018). Durante o processo fermentativo, ácidos orgânicos, açúcares e aminoácidos são liberados, oriundos da excreção de enzimas extracelulares dos próprios microrganismos, por exemplo, ácido láctico das bactérias ácidas lácticas (ADMASSIE, 2018; CIANI; COMITINI; MANNAZZU, 2018). Dentre as diversas enzimas excretadas pelos microrganismos, aprecia-se a fitase, responsável por degradar o fitato ou ácido fítico, presente na maioria dos vegetais (SAMTIYA; ALUKO; DHEWA, 2020).

Uma variedade de microrganismos pode promover a fermentação, dentre eles, as leveduras (*Saccharomyces sp.*), bactérias (*Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*) e fungos (*Rhizopus sp.* e *Neurospora sp.*) (Tabela 1). Dependendo do substrato ofertado, tipo de fermentação e dos microrganismos envolvidos nos processos, podem haver a produção de diversas substância e metabólitos(NIBA et al., 2009)

Tabela 1. Efeitos da fermentação microbiana em diversos substratos, condições de cultivo, microrganismos, alvos e respostas.

Produto	Fermentação (água:substrato)	Microrganismos	Alvo	Resposta	Referência
FA	37°C (24h) 7:1	<i>Saccharomyces boulardii</i> (6x10 <sup>5</sup> UFC/mL)	<i>Homo Sapiens</i>	↑ Lise da parede celular vegetal e disponibilidade de micronutrientes	RYAN et al., 2011
FA	28-30°C (24h) 2:1	<i>Bacillus Subtilis</i> (2x10 <sup>11</sup> UFC/g <sup>-1</sup> )	<i>Penaeus vannamei</i>	↑ <i>Bacillus sp.</i> , bactérias benéficas, QA; ↓ Vibrio, TAN, NO <sub>2</sub>	ABDEL-TAWWAB et al., 2022
FA	35°C (72h) 2:1	<i>Bacillus e Lysinibacillus</i> (2,7 x 10 <sup>9</sup> UFC/mL <sup>-1</sup> )	<i>Penaeus vannamei</i>	↑ PF, GP, bactérias benéficas, reservas lipídicas no hepatopâncreas; ↓ Bactérias patogênicas	LIÑAN-VIDRIALES et al., 2021
FA	37°C (3h) 1,2:1	Leveduras e <i>Lactobacillus sp</i>	Amido de arroz	↑ Digestibilidade e biodisponibilidade do amido	TU et al., 2021
FA e FT	28-30°C (24h) 2:1	<i>Bacillus coagulans</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	↑ QA, PF, GP, EP, protease, lipase e amilase, concentração de hemoglobina, antioxidantes, SCFA; ↓ TAN, pH, FCA, OD	ABIRI et al., 2022
FA	37°C (48h) 2:1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Lactobacillus plantarum</i> (10 <sup>8</sup> UFC/mL)	Farelo de arroz	↑ Conteúdo proteico, fibras, minerais, proteína solúvel; ↓ 40% de ácido fítico	SAYED et al., 2022
FA	30°C (48h)	<i>Lactobacillus plantarum</i> (10 <sup>7</sup> UFC/mL)	Farelo de arroz	↑ atividade antimicrobiana, crescimento microbiano de BAL, qualidade organolépticas; ↓ 53% de ácido fítico	MOON; CHANG, 2021
FAD	30°C (72h)	<i>Rhizopus oryzae</i> (4x10 <sup>6</sup> UFC/g)	<i>Mugil liza</i>	↑ PB, EE, cinzas, FB, CFT; ↓ ELN; Inclusão na dieta de até 100g/kg de FAF	DE MELLO AYRES et al., 2022
MRS	37°C (24h)	<i>Lactobacillus plantarum</i> (1 x 10 <sup>9</sup> UFC/mL <sup>-1</sup> )	<i>Penaeus vannamei</i>	↑ Desempenho, saúde, modulação da microbiota gastrointestinal	ZHENG et al., 2020
Ração comercial	35°C (24h) 0,5:1	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Bacillus safensis</i> (10 <sup>8</sup> UFC/g <sup>-1</sup> )	<i>Penaeus vannamei</i>	↑ PF, GP, CP, CA, AEA, protease, lipase, amilase e digestão pela microflora intestinal; ↓ FCA	ZHANG et al., 2021

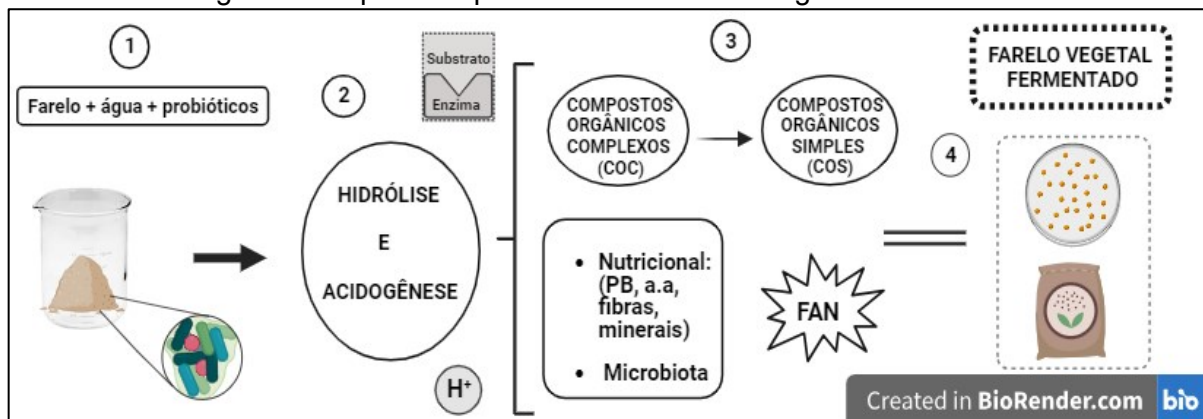
BAL: Bactéria ácido láctica, FA: Farelo de arroz, FAD: Farelo de arroz desengordurado, FAF: Farelo de arroz fermentado, FT: Farelo de trigo, TAN: Amônia total, NO<sub>2</sub>: Nitrito, OD: Oxigênio dissolvido, QA: Qualidade de água, FCA: Fator de conversão alimentar, PF: Peso final, GP: Ganho de peso, EP: Eficiência proteica, CP: Comprimento final, CA: Capacidade antioxidante, AEA: Atividade de enzimas antioxidantes, SCFA: Ácidos graxos de cadeia curta, GA: Gordura abdominal, PB: Proteína bruta, LB: Lipídio bruto, EE: Extrato etéreo, FB: Fibra bruta, CFT: Compostos fenólicos totais, ELN: Extrato livre de nitrogênio.

O processo fermentativo pode ocorrer tanto em meio líquido quanto sólido, mantendo o mínimo de água necessária para os processos metabólicos. Acontece em

batelada, batelada-alimentada e contínua (GHOSH; BHATTACHARYA; MUKHOPADHYAY, 2018). A fermentação líquida é caracterizada por um meio com cerca de 95% de água livre, onde ocorre interação de duas fases: líquida e gasosa. Formam uma solução homogênea, com baixo conteúdo de nutrientes solúveis em água. Tem como característica a troca de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida, onde ocorre o desenvolvimento dos microrganismos (KUILA; SHARMA, 2018).

Já a fermentação sólida, a água livre no meio é baixa, com proporções entre 40-80%, ocorre interação de três fases: sólida, líquida e gasosa. Apresentam uma solução heterogênea, com alto conteúdo de nutrientes em água insolúvel. Os microrganismos desenvolvem-se na superfície sólida, cuja, transferência de oxigênio, calor, e nutrientes são limitadas. Denomina-se como produto final de alta concentração de nutrientes (KUILA; SHARMA, 2018).

Figura 1. Esquema representativo do farelo vegetal fermentado.



Legenda: COC – Compostos orgânicos complexos; COS – Compostos orgânicos simples; PB – Proteína bruta; a.a. – Aminoácidos; FAN – Fatores antinutricionais

Fonte: elaborado pelo autor

O processo fermentativo promove a transformação de compostos orgânicos complexos (COC), como carboidratos, proteínas e lipídios, por bactérias fermentativas ou acidogênicas, em compostos orgânicos simples (COS), tais como, açúcares, aminoácidos e peptídeos, por meio da digestão microbiana anaeróbia (Figura 1). Essa conversão de COC para COS ocorre por meio da hidrólise e fermentação, com liberação de ácidos orgânicos, além de prótons de hidrogênio (H<sup>+</sup>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (DE LEMOS CHERNICHARO, 2016).

Além disso, pode haver mudanças na composição nutricional e bioquímica do substrato, aumento de antioxidantes, produção de peptídeos, propriedades organolépticas e aumento de microrganismos benéficos (probióticos), bem como de

suas atividades antimicrobianas. No entanto, a quantidade e qualidade de comunidades microbianas em alimentos fermentados varia de acordo com o processo produtivo e das condições de armazenamento do mesmo (SHARMA et al., 2020).

Adicionalmente, a fermentação é um processo biotecnológico capaz de modificar a biodisponibilidade, o conteúdo nutricional, degradar antinutrientes e toxinas presentes no substrato, aumentar a vida útil, fornecer aromas e cheiros, produzir vitaminas, substâncias antibióticas e melhorar a digestibilidade de matérias primas (ADMASSIE, 2018; DAI et al., 2019; ERKMEN; BOZOGLU, 2016; GARRIDO-GALAND et al., 2021; RYAN et al., 2011). Nesse sentido, pode-se incluir o farelo de arroz fermentado na aquicultura para melhorar o desempenho de organismos aquáticos (Tabela 1) (LIÑAN-VIDRIALES et al., 2021).

A exemplo disso, sabe-se que a fermentação sólida do farelo de arroz aumenta a produção de compostos fenólicos, atividade antioxidante, conteúdo proteico, gordura e cinzas desse substrato. Além de reduzir a concentração de carboidratos e fibras (LELAMURNI ABD RAZAK et al., 2015; SUKMA; JOS; SUMARDIONO, 2018). Adicionalmente, a fermentação do farelo de arroz promove a ruptura da parede celular vegetal, com decorrente aumento da biodisponibilidade de micronutrientes, facilitando a absorção do mesmo (RYAN et al., 2011). Tais alterações organolépticas, nutricionais e aumento da digestibilidade de nutrientes (DOS et al., 2010; MOON; CHANG, 2021) podem contribuir tanto para uma melhor nutrição, quanto para otimizar os índices zootécnicos dos animais alimentados com esse ingrediente (DE MELLO AYRES et al., 2022; SURIANTI et al., 2021).

Em estudo realizado com engorda de juvenis de tainha *Mugil liza* a inclusão de farelo de arroz fermentado (FAF), em até 10% da dieta, não comprometeu o desempenho zootécnico. Constatou-se também uma alteração na composição centesimal da carcaça, redução de lipídios e aumento do conteúdo de cinzas (DE MELLO AYRES et al., 2022). Já na engorda de juvenis de tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* a inclusão de FAF, em até 20%, demonstrou melhores resultados para sobrevivência e fator de conversão alimentar (SURIANTI et al., 2021).

Em ensaio de manejo de fertilização orgânica com o emprego do farelo vegetal de alfafa fermentada com óleo de peixe, melão e vitaminas aplicados em viveiros escavados, observou-se benefícios ao cultivo do camarão marinho *Penaeus vannamei*. Com o aumento e consumo da produtividade natural, redução do fator de conversão alimentar (FCA), maior ganho de peso, crescimento específico, biomassa

e peso final dos camarões, quando confrontados com somente alimentação formulada sem a aplicação da fertilização orgânica (PORCHAS-CORNEJO et al., 2012).

Com o crescimento de estratégias terapêuticas para alimentação, fica evidente o benefício do consumo de alimentos fermentados, pois aprimoram as propriedades nutricionais e estimulam a produção de compostos bioativos capazes de prevenir ou reverter processos patogênicos associados com doença (DO PRADO et al., 2022). A fermentação é, portanto, uma forma de melhorar a qualidade nutricional, digestibilidade e palatabilidade de farelos vegetais (FLORES-MIRANDA et al., 2015; HASSAAN; SOLTAN; ABDEL-MOEZ, 2015; SUN et al., 2015; ZHANG et al., 2017).

Nesse cenário, o objetivo do trabalho foi investigar o efeito da fermentação sólida do farelo de arroz, a partir da fermentação natural e do emprego do combo microbiano, observando-se parâmetro físico-químico (pH), alterações na comunidade bacteriana, crescimento microbiano, composição centesimal, perfil de aminoácidos totais, ácido fítico do substrato e validar o produto da fermentação como potencial ingrediente alternativo para a aquicultura.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a influência de combo microbiano na fermentação do farelo de arroz

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Selecionar bactérias ácido lácticas que possuem potencial fermentativo em farelo de arroz e determinar o combo microbiano a ser utilizado na fermentação do farelo de arroz;
- Verificar o crescimento microrganismos submetidos a fermentação do farelo de arroz verificando parâmetros físicos (pH) e biológico (crescimento em meio de cultura);
- Avaliar a composição centesimal, aminoácidos totais, triptofano e ácido fítico do farelo integral de arroz antes e depois da fermentação.

### **3. ESTRUTURA DO TRABALHO**

O desenvolvimento deste trabalho está apresentado na forma de artigo científico que será submetido a publicação na revista *Aquaculture*.

#### 4. ARTIGO CIENTÍFICO

### **Uma nova estratégia para estudar a fermentação em estado sólido do farelo de arroz com probióticos de múltiplas cepas para nutrição na aquicultura**

Vieira, A.O.<sup>1</sup>; Palmieri, A.F.<sup>1</sup>; Farias, C.F.S.<sup>1</sup>; Dutra, S.A.P.<sup>2</sup>; Lindner, J.D.<sup>3</sup>; De Marco, I.<sup>3</sup>; Mouriño, J.L.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), Universidade Federal de Santa Catarina, Rua dos Coroas 503, 88061-600, Barra da Lagoa, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

<sup>3</sup>Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.



## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de um combo microbiano (CM) na fermentação do farelo de arroz (FA). No ensaio I, ocorreu a seleção de bactérias ácido lácticas (BAL) na fermentação do FA individualmente, por 48h a 36°C. Os critérios avaliados foram pH, contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e teste de antagonismo. O CM foi composto por: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*. No ensaio II, ocorreu a fermentação do FA em dois grupos: o CM e o controle de fermentação natural (CFN), sem adição de microrganismos probióticos, por 48h a 36°C. Foi avaliado o pH, contagens de UFC das (BAL), das bactérias heterotróficas totais (BHT) e leveduras totais (LT). E caracterização do FA fermentado pelo CM (FACM) em relação ao FA *in natura* (FAIN). No grupo FACM ( $4,12 \pm 0,04$ ) houve uma queda de 24% do pH comparado ao CFN ( $5,42 \pm 0,28$ ). Na UFC das BAL ocorreu um aumento ( $p < 0,05$ ) com a maior contagem obtida em 24h e 48h com o CM ( $9,52 \pm 0,07$ ) em relação ao CFN ( $7,24 \pm 0,15$ ), um incremento de 23,95%. Para BHT, o FACM após 48h apresentou incremento de 17% ( $8,46 \pm 0,31$ ) em relação ao CFN ( $7,07 \pm 0,11$ ). Para LT os resultados foram similares as BAL, com maior UFC  $g^{-1}$  após 48h FACM ou CFN. O FACM apresentou maior concentração de leveduras em comparação ao CFN. Na caracterização do FACM apresentou alterações significativas na composição físico-química, nos macronutrientes e nos micronutrientes. Houve aumento de 40% e 6%, na fibra bruta (FB) e proteína bruta (PB), respectivamente. Além disso, observou-se redução de 2,66% no conteúdo de extrato etéreo (EE), 1,91% na matéria mineral (MM), 3,1% de fosfato, 3,1% de fósforo e 4,48% de potássio. E aumento do conteúdo de sódio, ferro e cálcio, em 43,03%, 74,58% e 60,77%, respectivamente, no FACM em relação ao FAIN. Nos aminoácidos essenciais incremento significativo em: 15,4% de Triptofano, 10,25% de Valina, 9,5% de Leucina, 8,6% de Lisina, 6,9% Fenilalanina e 5,9% para Isoleucina. E redução significativa de 5,77% de Arginina. Para os aminoácidos não essenciais houve aumento significativo em: 10,6% para Glicina, 9,8% para Alanina, 9,1% para Prolina, 7,36% para Ácido aspártico, 6,25% para Serina e 6,19% para o Ácido glutâmico. Além disso, nesse mesmo produto do FACM, o teor de proteína bruta aumentou significativamente em 8,83%, e a soma total de aminoácidos em 6,88% em relação ao FAIN. Na microscopia eletrônica de varredura (MEV), houve alterações na porosidade, microestrutura, aumento da fragmentação das partículas, visualização da estrutura cristalina de cálcio e presença dos probióticos das famílias Lactobacillaceae, Saccharomycetaceae e Bacillaceae. Portanto, a fermentação pelo CM promoveu qualidade desejáveis ao FA para formulação de dietas e possibilita a reutilização desse coproduto rico em nutrientes e valor biológico.

**Palavras-chave:** Aquicultura; coproduto; bactérias ácido lácticas; fermentação sólida; nutrientes.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of a microbial combo (MC) on the fermentation of rice bran (RBM). In trial I, lactic acid bacteria (LAB) were selected to ferment rice bran individually for 48 hours at 36°C. The criteria evaluated were pH, colony-forming unit (CFU) count and antagonism test. The CM was composed of: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. In trial II, FA was fermented in two groups: CM and the natural fermentation control (CFN), without the addition of probiotic microorganisms, for 48 hours at 36°C. The pH, CFU counts of (BAL), total heterotrophic bacteria (BHT) and total yeasts (LT) were assessed. The FA fermented by CM (FACM) was also characterized in relation to the FA *in natura* (FAIN). In the FACM group (4.12±0.04) there was a 24% drop in pH compared to CFN (5.42±0.28). There was an increase in BAL CFU ( $p < 0.05$ ) with the highest count obtained at 24h and 48h with CM (9.52±0.07) compared to CFN (7.24±0.15), an increase of 23.95%. For BHT, the FACM after 48 hours showed an increase of 17% (8.46±0.31) compared to the CFN (7.07±0.11). For LT, the results were similar to BAL, with higher CFU  $g^{-1}$  after 48h in FACM or CFN. FACM had a higher concentration of yeasts compared to CFN. The characterization of FACM showed significant changes in its physicochemical composition, macronutrients and micronutrients. There was a 40% and 6% increase in crude fiber (CF) and crude protein (CP), respectively. In addition, there was a 2.66% reduction in the content of ether extract (EE), 1.91% in mineral matter (MM), 3.1% in phosphate, 3.1% in phosphorus and 4.48% in potassium. Sodium, iron and calcium content increased by 43.03%, 74.58% and 60.77% respectively in FACM compared to FAIN. In terms of essential amino acids, there was a significant increase of 15.4% in Tryptophan, 10.25% in Valine, 9.5% in Leucine, 8.6% in Lysine, 6.9% in Phenylalanine and 5.9% in Isoleucine. And a significant reduction of 5.77% in Arginine. For the non-essential amino acids, there was a significant increase of: 10.6% for Glycine, 9.8% for Alanine, 9.1% for Proline, 7.36% for Aspartic Acid, 6.25% for Serine and 6.19% for Glutamic Acid. In addition, in this same FACM product, the crude protein content increased significantly by 8.83% and the total sum of amino acids by 6.88% compared to FAIN. Scanning electron microscopy (SEM) showed changes in porosity, microstructure, increased particle fragmentation, visualization of the crystalline calcium structure and the presence of probiotics from the Lactobacillaceae, Saccharomycetaceae and Bacillaceae families. Therefore, fermentation by CM promoted desirable quality to FA for diet formulation and allows the reuse of this coproduct, which is rich in nutrients and biological value.

**Keywords:** Aquaculture; coproduct; lactic acid bacteria; solid fermentation; nutrients.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

A aquicultura destaca-se como o setor de produção animal mais relevante, pois está alinhada com os objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS) (Troell et al., 2023). Por meio de sistemas produtivos mais ambientalmente amigáveis (Thilsted et al., 2016); gera empregos diretos e indiretos; além de desenvolver aspectos socioeconômicos, a conservação ambiental e a oferta de alimentos seguros de alto valor nutricional (FAO, 2022).

O aumento populacional mundial, a crescente demanda por insumos e a escassez de matérias primas para formulação de dietas de organismos aquáticos têm representado desafios significativos para a aquicultura (FAO, 2022). Diante disso, torna-se imperativo adotar estratégias visando a redução de custos de produção e aumento da eficiência produtiva dos cultivos (Mitra, 2021). Nesse contexto, faz-se necessário buscar ingredientes alternativos mais acessíveis, economicamente sustentáveis e ambientalmente amigáveis para substituir os insumos convencionalmente empregados em formulações de rações (Colombo and Turchini, 2021; Glencross et al., 2020).

A farinha e o óleo de peixe são os principais ingredientes utilizados como fonte primária de proteína e lipídios na formulação de alimentos para organismos aquáticos (Boyd and Mcnevin, 2015; Hodar et al., 2020; Jobling, 2012; Tacon et al., 2009). No entanto, a diminuição da disponibilidade desses insumos para produção de rações, o aumento dos custos de aquisição, e o impacto ambiental da pesca associado à sua obtenção, representam pontos negativos para o setor produtivo (Boyd and Mcnevin, 2015; Hodar et al., 2020; Tacon and Metian, 2015).

As matérias primas de origem vegetal, são uma alternativa viável ao uso de farinha e óleo de peixe para algumas espécies da aquicultura (Kokou and Fountoulaki, 2018). A inclusão de ingredientes vegetais em dietas vem se tornando uma realidade (Hodar et al., 2020). Dentre os ingredientes vegetais, o farelo vegetal é um *by-product feedstuff* (BPF), ou seja, um coproduto alimentar, adquirido após colheita ou processamento do produto (Fadel, 1999), tais como, as sementes de oleaginosas e grãos de cereais (Gatlin et al., 2007). Em geral, esses farelos vegetais são constituídos por proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais (Ramachandra Kolgi and U. B., 2022). No entanto, apresentam algumas deficiências, como a baixa palatabilidade,

perfil de aminoácidos desbalanceado e presença de fatores antinutricionais (FAN) (Dawood and Koshio, 2020).

Diversas pesquisas buscam desenvolver técnicas fermentativas de ingredientes alternativos para as rações, com base no uso mais eficiente dos recursos naturais disponíveis, aproveitando-se de BPF e tornando-os ingredientes altamente nutritivos para alimentação aquática (Albrektsen et al., 2022). Que implica-se em aplicar o preceitos da economia circular, reutilizar e aprimorar o ingrediente alimentar, além de reduzir custos nas fábricas de dietas para animais e dar maior sustentabilidade na atividade (Spaggiari et al., 2021).

A maior destinação do farelo de arroz é como ingrediente na alimentação animal (Webber et al., 2014). Possui uma composição química altamente nutritiva, contendo de 12-17% de proteína, 13 a 23% de lipídios, 34 a 54% de carboidratos, 6 a 14% de fibras e 8 a 18% de cinzas. Além de ser naturalmente rico em antioxidantes, como o tocoferol, tocotrienol, oryzanol e fonte prebiótica (Elleuch et al., 2011; Godber and Wells, 1994; Kataoka et al., 2007; Katina et al., 2012; Saunders, 1985). As inclusões de farelo de arroz variam entre 3,8%, 8,2% e em até 15,7%, para o Camarão branco-do-Pacífico, Tilápia do Nilo e Carpa comum, respectivamente (van Riel et al., 2023).

Dentre as alternativas para melhorar o farelo de arroz destaca-se a utilização da fermentação sólida (do inglês *Solid State Fermentation* - SSF), bem como, o emprego de uma combinação de diversos microrganismos probióticos (do inglês *Multi Strain Probiotics* - MSP) (Kwoji et al., 2021; Sayed et al., 2022). Em estudo realizado com engorda de juvenis de tainha *Mugil liza* a inclusão de farelo de arroz fermentado (FAF), em até 10% da dieta, não comprometeu o desempenho zootécnico. Constatou-se também uma alteração na composição centesimal da carcaça, redução de lipídios e aumento do conteúdo de cinzas (De Mello Ayres et al., 2022). Já na engorda de juvenis de tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* a inclusão de FAF, em até 20%, demonstrou melhores resultados para sobrevivência e fator de conversão alimentar (Surianti et al., 2021). A fermentação é, portanto, uma forma de melhorar a qualidade nutricional, digestibilidade, palatabilidade, produzir vitaminas, síntese de substâncias antibióticas e degradar toxinas de farelos vegetais (Flores-Miranda et al., 2015; Hassaan; Soltan; Abdel-moez, 2015; Sun et al., 2015; Zhang et al., 2017; Admassie, 2018; Dai et al., 2019; Erkmen; Bozoglu, 2016; Garrido-Galand et al., 2021; Ryan et al., 2011). A partir de pesquisas na aplicação de processos fermentativos do farelo de

arroz na aquicultura, surge a possibilidade como alternativa para nutrição na aquicultura, este estudo teve como objetivo avaliar a influencia de um combo microbiano na caracterização do farelo de arroz fermentado.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Matéria-prima

O farelo de arroz foi adquirido da empresa Sucesso Agroindustrial e Consultoria LTDA, com composição de: índice de acidez (máx) 3,08 mg NaOH g<sup>-1</sup>, índice de peróxido (máx) 5 meq 1000g<sup>-1</sup>, matéria mineral (máx) 104,3 g kg<sup>-1</sup>, umidade (máx) 94,82 g kg<sup>-1</sup>, fibra bruta (máx) 72,4 g kg<sup>-1</sup>, proteína bruta (mín) 114,7 g kg<sup>-1</sup> e extrato etéreo (mín) 251,6 g kg<sup>-1</sup>. Mantido armazenado em freezer (-20°C) até o momento da utilização. Para os testes com fermentação, o farelo de arroz foi autoclavado em 121°C por 15 minutos.

### 4.2.2. Microrganismos

Foram avaliadas setes cepas de bactérias ácido lácticas (BAL), sendo seis cepas BAL, obtidas do Laboratório de Tecnologia de Alimentos e Bioprocessos, e uma do Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS), da Universidade Federal de Santa Catarina (Tabela 1). As cepas identificadas como: *Lactobacillus plantarum* LBPUFSC 21, *Lactobacillus fermentum* LBPUFSC 17, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* LBPUFSC 015, *Lactobacillus paracasei* LBPUFSC 014, *Lactobacillus acidophilus* LBPUFSC 01a, *Lactobacillus rhamnosus* LBPUFSC 02b e a cepa de *Lactobacillus plantarum* B6. Foram mantidas congeladas no freezer a -20°C, em tubos tipo *ependorf* contendo glicerol (Quimibrás AS, Rio de Janeiro, Brasil) adicionado de caldo Man-Rogos-Sharpe (MRS, Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri, EUA).

Tabela 2: Cepas de bactérias e levedura utilizadas no experimento.

Microrganismo	Identificação	Origem	Classificação
<i>Lactobacillus plantarum</i>	LBPUFSC 21	Sourdough	Homo
<i>Lactobacillus fermentum</i>	LBPUFSC 17	Sourdough	Hetero
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>spp. bulgaricus</i>	LBPUFSC 15	Desconhecida	Hetero
<i>Lactobacillus paracasei</i>	LBPUFSC 14	Sourdough	Hetero
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	LBPUFSC 01a	Sourdough	Homo
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	LBPUFSC 02b	Sourdough	Hetero
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Cepa B6 (AQUOS-UFSC)	<i>Penaeus vannamei</i>	Homo
<i>Bacillus subtilis</i>	Produto comercial	Desconhecida	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Produto comercial	Desconhecida	

#### 4.2.3. Seleção de bactérias ácido lácticas

Para formação de um combo microbiano, foi tomado como estratégia a fermentação do farelo de arroz individualmente por cada cepa de BAL (Tabela 1). Sendo assim, foi utilizado um frasco de Becker de 500mL, contendo uma mistura de 1:1 de farelo de arroz integral e água destilada, previamente autoclavados a 121°C por 15 minutos.

Inicialmente as cepas de BAL foram ativadas duas vezes consecutivas em caldo MRS a 36°C por 24 h. Em seguida, as BAL foram centrifugadas a 4.500 × g por 5 min, lavadas duas vezes em solução de ringer (Oxoid) e ressuspendidas na mesma solução, obtendo uma concentração final de 1x10<sup>8</sup> UFC g<sup>-1</sup> (MENEZES et al., 2021).

Então para a fermentação, a proporção de água e substrato foi ajustada para 1:1 e adicionou-se as BAL com concentração de 1x10<sup>8</sup> UFC g<sup>-1</sup>. Sendo assim, foram incubadas em estufas bacteriológicas para fermentação a 36°C por 48 horas. As fermentações ocorreram em triplicata no sistema de batelada. Foram monitorados os parâmetros físico-químico de pH com auxílio de pHmetro HI 9126 Hanna ® e contagem microbiológica em placa de Petri contendo meio MRS ágar, nos tempos de 0, 12, 24 e 48 horas após o início da fermentação. As placas foram incubadas invertidas em 36°C por 48h. Desta forma, determinou-se as três BAL com padrões fermentativos de acidificação e crescimento microbiano mais expressivo em 48h de fermentação.

A determinação da concentração de microrganismos viáveis ocorreu por meio da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) por grama (g) de produto

fermentado (UFC g<sup>-1</sup>), em meio de cultura sólida MRS Ágar (de Man Rogosa & Sharpe) (MENEZES et al., 2021).

Para tal, foram coletadas amostras, pesadas e diluídas em sacos estéreis contendo água peptonada esterilizada, com cerca de 5g da amostra fermentada adicionada 45mL de água peptonada. Posteriormente, homogeneizadas em stomacher (Marconi, modelo MA 440/CF, SP, Brasil) por 1 minuto e 30 segundos com 53 bpm. A partir da primeira diluição 10<sup>-1</sup> é feita as diluições seriadas em tubos de ensaio contendo 9mL de solução peptonada estéril, em diluição de até 10<sup>-4</sup>. A partir disso, cada amostra foi semeada em triplicata, nas respectivas placas em superfície com cerca de 0,1 mL da amostra sob as respectivas diluições. As placas foram incubadas invertidas em jarra anaeróbica com sistema gerador Anaerocult (Merck, Darmstadt, Hesse, Alemanha) na estufa bacteriológica por 36°C por 48h. Após o período de incubação foi feita a contagem do UFC (BOMFIM BARBOSA, 2019; MENEZES et al., 2021).

#### **4.2.4. Teste de antagonismo**

O teste de antagonismos entre as cepas de BAL que iriam compor o combo, foi efetuada pela técnica de estrias cruzadas (AL-HUSSINI et al., 2019; MATOS CARVALHO, 2017). Para tal, adicionando-se cada cepa indicadora na posição central, sentido vertical, na superfície da placa de Petri em meio MRS ágar. Em seguida, foram feitas 6 inoculações com as diferentes cepas perpendiculares a primeira estria, mantendo uma distância de aproximadamente 0,5 cm. As placas foram incubadas em jarra anaeróbica com sistema gerador Anaerocult (Merck, Darmstadt, Hesse, Alemanha) na estufa bacteriológica, por 48h a 36°C. Após o tempo de cultivo, foi avaliado a presença ou não de halo inibitório.

#### **4.2.5. Desenho experimental da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano**

Para a fermentação sólida do farelo de arroz pelo combo microbiano, realizou a comparação de dois grupos experimentais, em triplicata conduzidos a 36°C por 48 horas em Becker de 3L, a saber:

1. Fermentação natural do substrato de farelo de arroz autoclavado, proporcionada pelos microrganismos presentes naturalmente no farelo;

2. Fermentação do substrato farelo de arroz autoclavado a partir de um combo de microrganismos.

O combo microbiano, foi composto por: três bactérias láticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus acidophilus*) contendo  $1 \times 10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ . As cepas de *Bacillus subtilis* do produto comercial da empresa Gabbia Biotecnologia® contendo  $1 \times 10^8$  UFC/ $\text{mL}^{-1}$  e *Saccharomyces cerevisiae* do produto comercial da empresa Fleischmann, contendo  $1 \times 10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ .

Assim uma mistura composta por farelo de arroz integral adicionado de água destilada na proporção de 1:1, foram homogeneizados ao combo microbiano ou não e incubados em estufa bacteriológica a  $36^\circ\text{C}$  por 48h (MENEZES et al., 2021).

Ao longo do processo fermentativo foram coletadas amostras dos fermentados para contagem das populações de bactérias láticas, bactérias heterotróficas (BHT) e leveduras totais. Além disso, foram coletadas amostras do farelo de arroz ao longo da fermentação natural ou a partir do combo microbiano para as análises físico-químicas de: pH, composição centesimal, aminoácidos totais, triptofano, ácido fítico, e microscopia eletrônica de varredura.

#### 4.2.6 Contagem microbiológica

Para crescimento das bactérias ácido láticas foi usado o meio MRS, incubadas a  $36^\circ\text{C}$  por 48h em jarra anaeróbia aerocult metodologia descrita por Menezes et al., (2021). Para crescimento de bactérias heterotróficas totais (BHT) foi utilizado o meio ágar BHI incubadas a  $30^\circ\text{C}$  por 72h (MONNERAT et al., 2020).

Para crescimento das leveduras foi utilizado o meio Yeast Peptone Dextrose Ágar (YEPD) com composição de: ágar  $15\text{g L}^{-1}$ , peptona bacteriológica  $20\text{g L}^{-1}$ , glicose  $20\text{g L}^{-1}$ , e extrato de levedura  $10\text{g L}^{-1}$ . As placas foram incubadas a  $30^\circ\text{C}$  por 72h (DA SILVA et al., 2021).

#### 4.2.7. Composição centesimal

A composição do farelo integral de arroz não fermentado e fermentado nos tempos 0h e 48h, a partir do combo microbiano foram obtidas pelo Laboratório de Análises (LABCAL), do Departamento de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), de acordo com as metodologias abaixo:



- a) Cálcio, extrato etéreo, fibra bruta, fósforo, proteína bruta, matéria seca, matéria mineral (CÔMPENDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2017)
- b) Ferro, potássio e sódio (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 2016)
- c) Fosfato (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### 4.2.8. Aminoácidos totais e triptofano

Para determinação de aminoácidos totais e triptofano, foram coletadas amostras do farelo de arroz não fermentado (*in natura*) e do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano (48h), após, congeladas em *freezer* sob temperatura de -20°C. Posteriormente, liofilizadas por 24h e depois armazenadas em sacos embalados a vácuo, condicionados em *freezer* a -20°C para posterior envio. As análises foram enviadas ao Laboratório CBO-SP, feitas com base nos métodos descritos pelos códigos: MA-001 R5 (CÔMPENDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2017) MA-009 R0 (B; SOTELO, 1980; HAGEN; FROST; AUGUSTIN, 1989; WHITE; HART; FRY, 1986).

#### 4.2.9. Ácido fítico

Para avaliar o teor de ácido fítico ou fitato, foram coletadas amostras do farelo de arroz não fermentado (*in natura*) e do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano (48h). As amostras após fermentação foram secas em estufa por 50°C durante 24h e congeladas em *freezer* a -20°C. O fitato foi extraído das amostras utilizando ácido clorídrico (HCl) diluído. Posteriormente o extrato foi diluído com água e aplicado em uma coluna trocadora de íons. O fitato foi então diluído em solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,7M e em seguida é adicionado um reagente de cor (reagente de Wade). O fósforo foi medido colorimetricamente utilizando um espectrofotômetro a 500nm (LATTA; ESKIN, 1980).

#### 4.2.10. Microscopia eletrônica de varredura

Para análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram coletadas amostras do farelo de arroz não fermentado (*in natura*) e do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano (48h). As amostras após fermentação foram liofilizadas por

24h e armazenadas em temperatura ambiente. Posteriormente, foi determinado o ponto crítico EM-DPC-030 (Leica, Heidelberg, Alemanha), colocando-os em suportes metálicos (*stubs*) com uma folha adesiva de carbono e revestidos com ouro para análise em MEV (JVM JSM 6390 LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japão, a 10 kV), realizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. Foram avaliadas a presença dos microrganismos e mudanças na microestrutura e porosidade do farelo de arroz fermentado (SU et al., 2022).

#### 4.2.11 Análise estatística

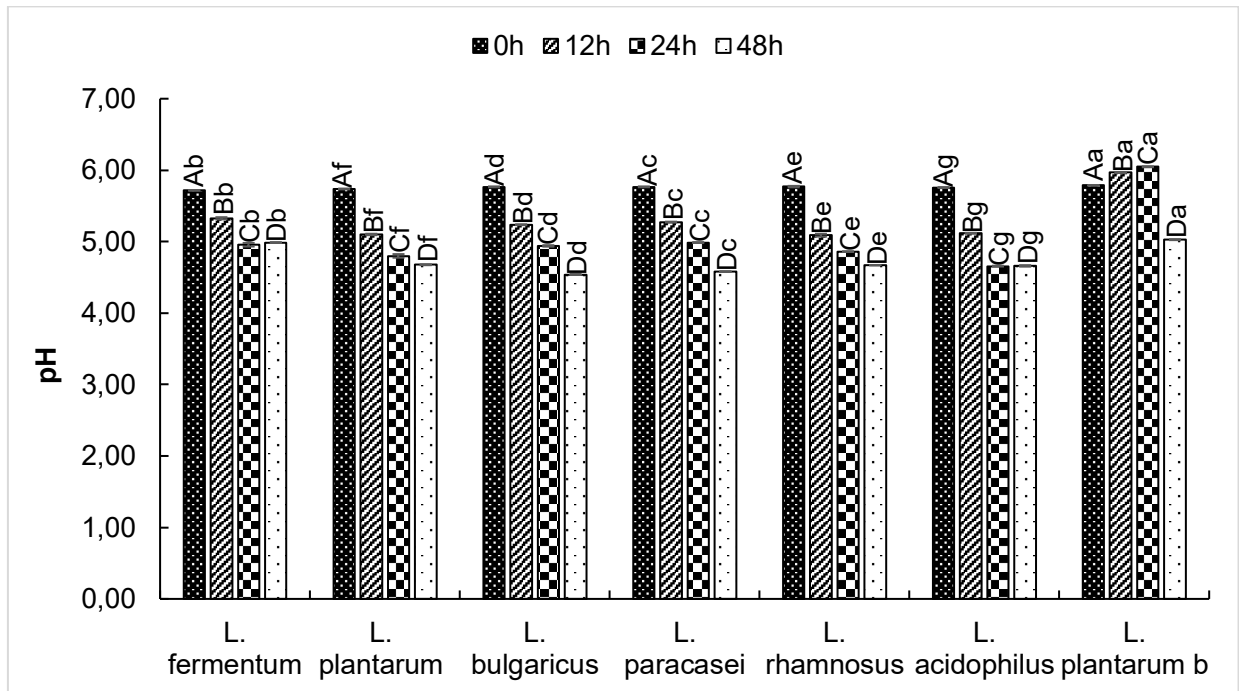
Todas as determinações foram realizadas em triplicatas e submetidos ao teste de Shapiro-Wilk e teste de Levene para verificar a normalidade e homoscedasticidades de variância, respectivamente. As variáveis de pH e contagens microbiológica foram submetidas a análise de variância ANOVA-two way, seguida de teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Já para os dados de composição centesimal, teor de ácido fítico e aminoácidos totais e triptofano, foram analisados através de análise de teste-T ( $p < 0,05$ ). Todos os testes foram realizados ao nível de significância de 5%, utilizando o software Statistica 10.0.

### 4.3. RESULTADOS

#### 4.3.1. Seleção de microrganismos (BAL)

Durante o processo de seleção das BAL, constatou-se que independentemente do tempo as BAL que mais promoveram a redução do pH na fermentação do substrato farelo de arroz foram, respectivamente, *Lactobacillus acidophilus* ( $5,05 \pm 0,52$ ), *Lactobacillus plantarum* ( $5,08 \pm 0,47$ ), *Lactobacillus rhamnosus* ( $5,10 \pm 0,48$ ), *Lactobacillus bulgaricus* ( $5,12 \pm 0,52$ ), *Lactobacillus paracasei* ( $5,15 \pm 0,5$ ), *Lactobacillus fermentum* ( $5,25 \pm 0,36$ ) e *Lactobacillus plantarum* "b" ( $5,71 \pm 0,47$ ) (Figura 2).

Figura 2: Valores de pH do produto da fermentação do farelo de arroz pelas bactérias ácido lácticas individualmente.

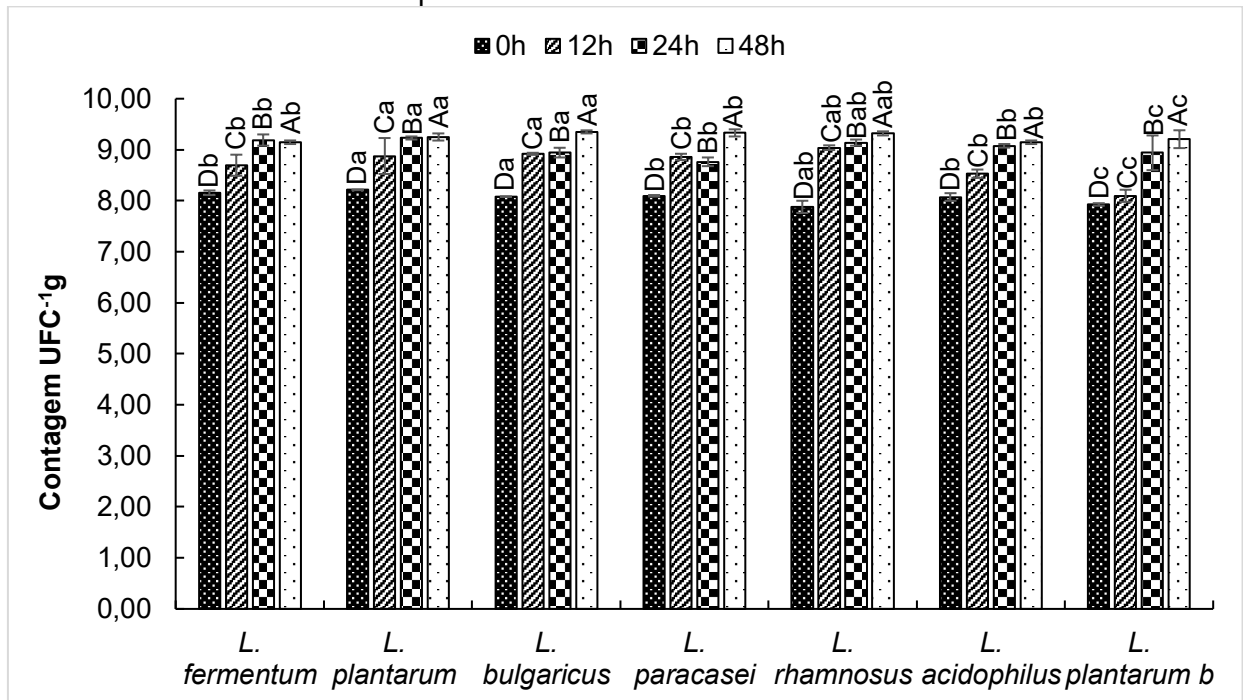


\*Os dados são apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas (A, D) representam diferença estatística entre o tempo ( $p=0,000$ )

Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre as cepas.

Além disso, independentemente do tempo as BAL que mais promoveram o crescimento de unidades formadoras de colônias em  $\log \text{UFC g}^{-1}$  na fermentação do farelo integral de arroz foram, respectivamente, *Lactobacillus plantarum* ( $8,95 \pm 0,48$ ), *Lactobacillus rhamnosus* ( $8,84 \pm 0,65$ ), *Lactobacillus bulgaricus* ( $8,82 \pm 0,53$ ), *Lactobacillus paracasei* ( $8,76 \pm 0,51$ ), *Lactobacillus fermentum* ( $8,75 \pm 0,48$ ), *Lactobacillus acidophilus* ( $8,71 \pm 0,5$ ) e *Lactobacillus plantarum* "b" ( $8,64 \pm 0,63$ ) (Figura 3).

Figura 3: Contagens de unidades formadoras de colônia do produto da fermentação do farelo de arroz pelas bactérias ácido lácticas individualmente.



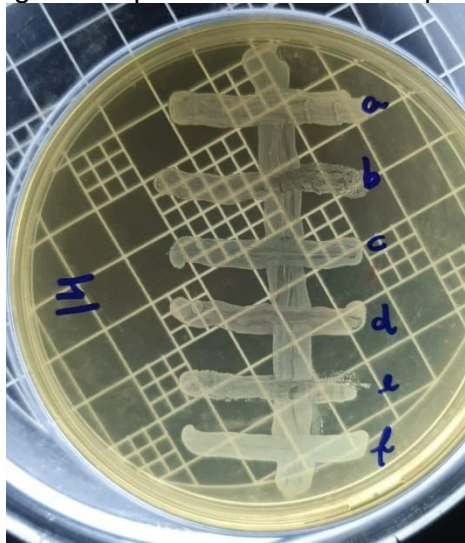
\*Os dados são apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas (A, D) representam diferença estatística entre o tempo ( $p < 0,05$ )

Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.2. Teste de antagonismo in vitro

Não houve formação de halo inibitório nas estrias, o que indica que não ocorreu o efeito de antagonismo entre as cepas de bactérias ácido lácticas. O antagonismo ou não entre as bactérias pode ser observado em placa de Petri, sendo classificadas como relações antagônicas quando há formação de um halo inibitório nas estrias, promovendo o impedimento do crescimento uma das outras cepa. Após o tempo de incubação das placas, não se constatou ocorrência de efeitos inibitórios entre as cepas de bactérias ácido lácticas, o que se possibilita a utilização conjunta de todas em um único produto (combo) (Figura 4).

Figura 4: Teste de antagonismo por estrias entre as cepas bacterias ácido lácticas



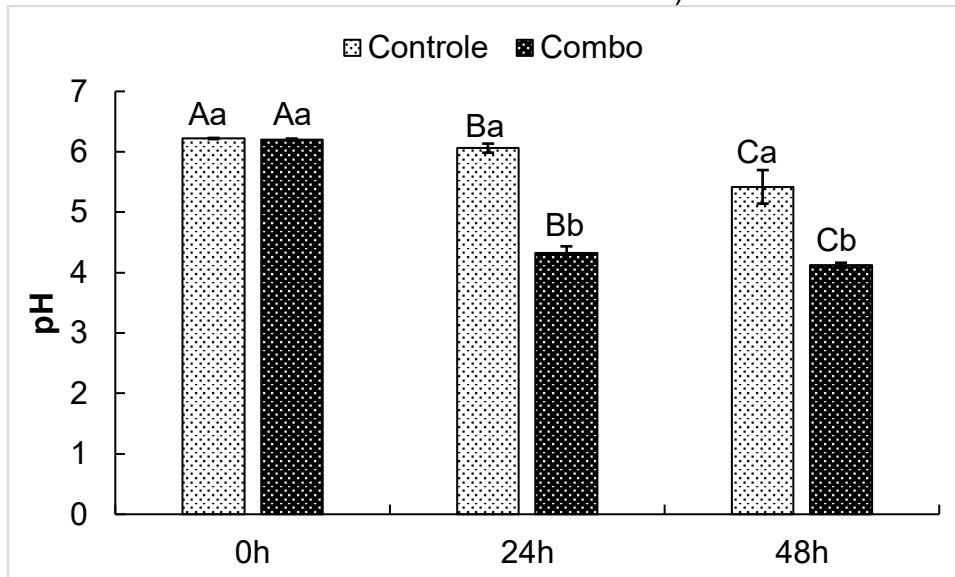
Fonte: do próprio autor

Portanto, de acordo com os testes de capacidade fermentativa e antagonismos entre as cepas de BAL, foram selecionadas as cepas *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus acidophilus*, para comporem o combo microbiano no processo fermentativo do farelo de arroz.

#### 4.3.3. Fermentação do combo microbiano e fermentação natural

O valor inicial de pH para ambos os tratamentos, fermentação natural do farelo de arroz (controle) e fermentação a partir do combo microbiano do farelo de arroz (combo), foi de  $(6,22 \pm 0,01)$  e  $(6,2 \pm 0,02)$ , respectivamente. O combo apresentou maior queda de pH, em relação ao controle após 48h  $(4,12 \pm 0,04)$  e 24h  $(4,33 \pm 0,1)$ , em relação aos valores de pH do grupo controle,  $(5,42 \pm 0,28)$  e  $(6,06 \pm 0,08)$ , respectivamente. Sendo assim, a fermentação do farelo de arroz pelo combo promoveu maior queda do pH cerca de, 24% mais acidez, em relação a fermentação natural do substrato de farelo de arroz, indicando, portanto, maior capacidade fermentativa (Figura 5).

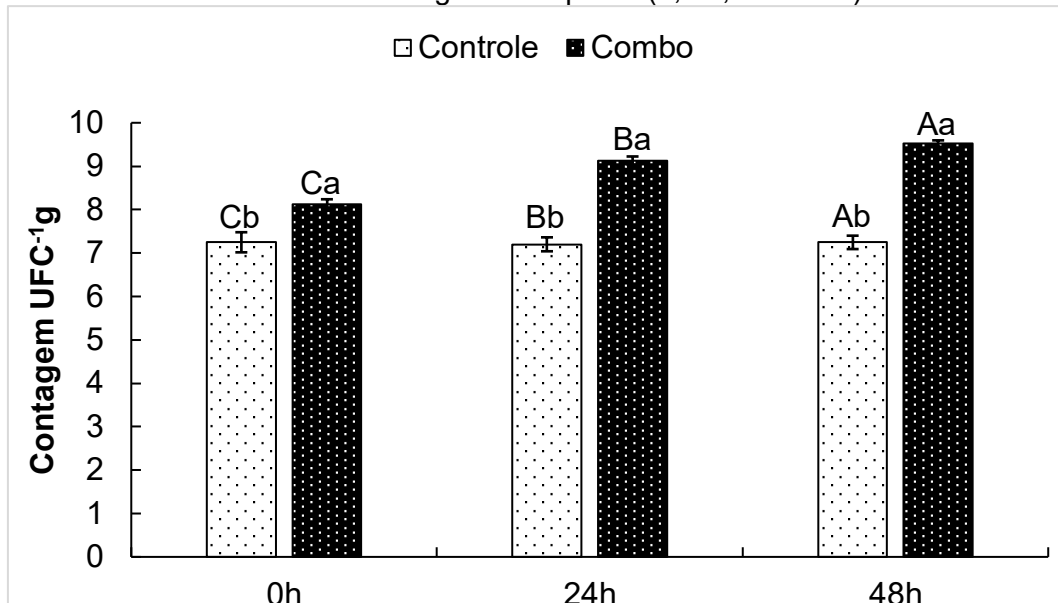
Figura 5: Valores de pH do produto da fermentação do farelo de arroz natural (controle) e da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo de (0, 24 e 48 horas).



\*Os dados são apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas (A, C) representam diferença estatística entre o tempo ( $p < 0,05$ )  
 Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Além disso, após o processo fermentativo do farelo de arroz por meios naturais (controle) ou pelo combo microbiano, observou-se um incremento de BAL independentemente do grupo ( $p < 0,05$ ). Entretanto, a fermentação do farelo de arroz conduzido pelo combo microbiano promoveu maior crescimento significativo desse grupo de microrganismos (BAL) em comparação ao controle. Assim como, a maior contagem de unidades formadoras de colônias em log UFC  $g^{-1}$ , foi obtida a partir de 24h e se manteve em 48h no farelo de arroz fermentado com o combo microbiano ( $9,52 \pm 0,07$ ) em relação ao controle ( $7,24 \pm 0,15$ ). Esse incremento de BAL foi de 23,95%, comparado ao controle, em 48h de fermentação do farelo de arroz (Figura 6).

Figura 6: Contagem de bactérias ácido lácticas (BAL) do produto da fermentação do farelo de arroz natural (controle) e da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo de (0, 24, 48 horas).

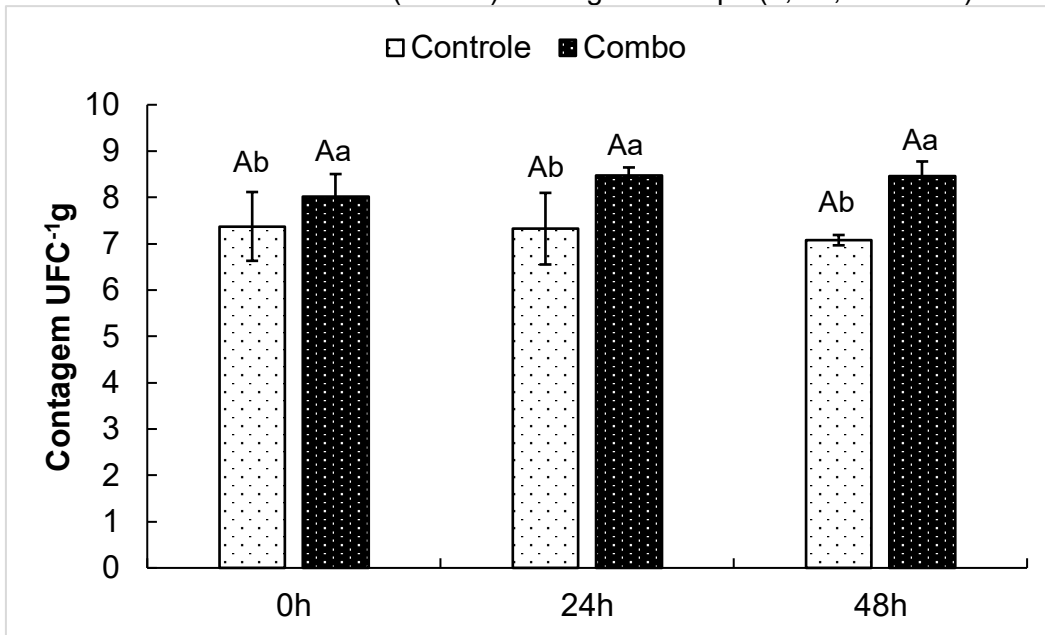


\*Os dados são apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas (A, C) representam diferença estatística entre o tempo ( $p < 0,05$ )

Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Não foi possível observar incremento das bactérias heterotróficas totais (BHT) ao longo do tempo, independentemente do grupo fermentador do farelo de arroz (natural ou combo). No entanto, independentemente do tempo de observação, o farelo de arroz fermentado com o combo microbiano apresentou maior número significativo de BHT em comparação a fermentação natural do farelo de arroz (controle). Por exemplo, após 48h de fermentação do substrato de farelo de arroz, o combo microbiano apresentou um incremento em log UFC g<sup>-1</sup>, de 17% de BHT (8,46 $\pm$ 0,31), em relação, ao controle (7,07 $\pm$ 0,11) (Figura 7).

Figura 7: Contagem de bactérias heterotróficas totais (BHT) do produto fermentação do farelo de arroz natural (controle) ou da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo (0, 24, 48 horas).

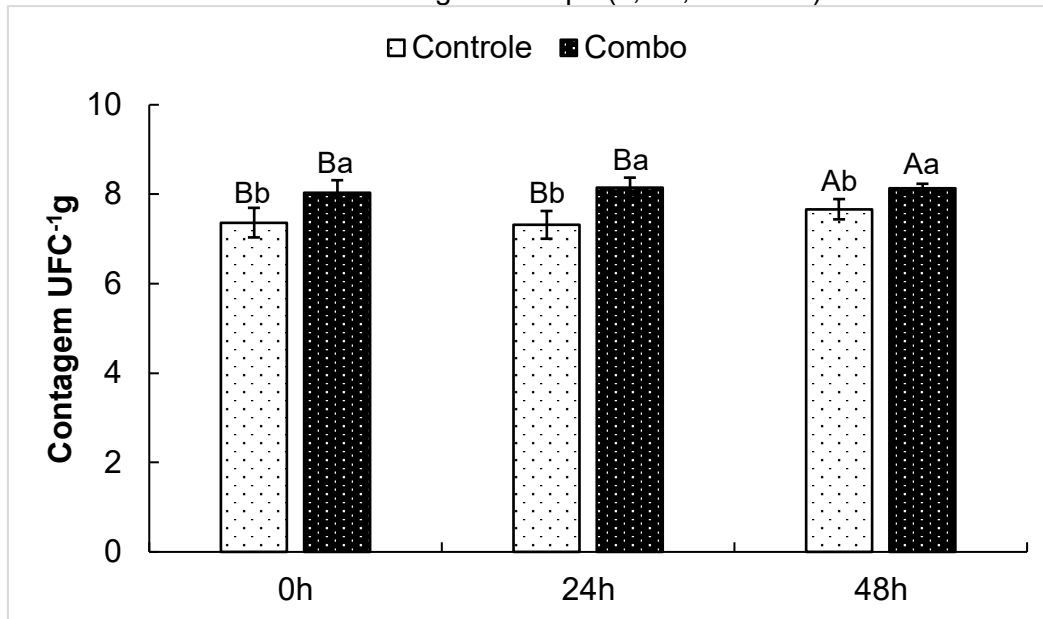


\*Os dados são apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas iguais (A, A) não representam diferença estatística entre o tempo ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Similarmente a contagem de BAL, a maior contagem de unidades formadoras de colônias (UFC g<sup>-1</sup>) de leveduras totais foi encontrada após 48h de fermentação independentemente do grupo fermentado do farelo de arroz (natural ou combo). Além disso, independentemente do tempo, o farelo de arroz fermentado com o combo microbiano apresentou sempre maior concentração significativa de leveduras em comparação a fermentação natural (controle) (Figura 8).



Figura 8: Contagem de leveduras totais do produto da fermentação do farelo de arroz natural (controle) e da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano (combo) ao longo do tempo (0, 24, 48 horas).



\*Os dados são apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. Letras maiúsculas (A, B) representam diferença estatística entre o tempo ( $p < 0,05$ )

Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.4. Caracterização do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano e farelo de arroz sem processo fermentativo (*in natura*)

O processo fermentativo do farelo de arroz através do emprego do combo microbiano provocou alterações significativas na composição físico-química, tanto dos macronutrientes quanto dos micronutrientes após as 48h de fermentação, em relação ao farelo de arroz não fermentado (*in natura*).

Com relação aos macronutrientes houve aumento de 40% e 6%, na fibra bruta e proteína bruta (PB), respectivamente, do farelo de arroz fermentado em relação ao substrato *in natura*. Além disso, observou-se redução de 2,66% no conteúdo de extrato etéreo (EE) e 1,91% da matéria mineral (MM) no farelo de arroz fermentado. Comparativamente ao farelo sem fermentar, o produto da fermentação do farelo de arroz a partir do combo microbiano promoveu redução dos níveis de fosfato, fósforo e potássio, com valores de 3,1%, 3,1% e 4,48%, respectivamente e aumento no conteúdo de sódio, ferro e cálcio, em 43,03%, 74,58% e 60,77%, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3: Composição centesimal do farelo de arroz sem processo fermentativo (*in natura*) e do farelo de arroz fermentado com o combo microbiano na base seca.

<b>Macronutriente (g 100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>FA</b>	<b>FAF</b>
Fibra bruta	15,42 ± 0,31 <sup>b</sup>	25,44 ± 0,38 <sup>a</sup>
Matéria mineral	13,57 ± 0,2 <sup>a</sup>	13,21 ± 0,19 <sup>b</sup>
Extrato etéreo	9,44 ± 0,03 <sup>a</sup>	9,26 ± 0,29 <sup>b</sup>
Proteína bruta	7,33 ± 0,01 <sup>b</sup>	7,8 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>Micronutriente (mg 100g<sup>-1</sup>)</b>		
Fosfato	2529,46 ± 42,99 <sup>a</sup>	2451,52 ± 18,89 <sup>b</sup>
Fosforo	1104,39 ± 18,78 <sup>a</sup>	1070,27 ± 8,27 <sup>b</sup>
Potássio	688,89 ± 0,17 <sup>a</sup>	658,02 ± 21,62 <sup>b</sup>
Sódio	16,43 ± 0,78 <sup>b</sup>	28,84 ± 0,97 <sup>a</sup>
Ferro	4,51 ± 0,06 <sup>b</sup>	17,74 ± 0,13 <sup>a</sup>
Cálcio	0,244 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,622 ± 0,016 <sup>a</sup>
<b>Antinutriente (g 100g<sup>-1</sup>)</b>		
Ácido fítico	1,85 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,89 ± 0,27 <sup>a</sup>

\*Os dados são apresentados em média ± desvio padrão. FA - Farelo de arroz (*in natura*); FAF – Farelo integral de arroz fermentado, letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ )

No que tange aos aminoácidos essenciais, constatou-se que o produto da fermentação do farelo de arroz com o combo microbiano promoveu incremento significativo em: 15,4 % para Triptofano, 10,25% para Valina, 9,5 % Leucina, 8,6% para Lisina, 6,9% Fenilalanina e 5,9% para Isoleucina. Já para Arginina, verificou-se uma redução significativa de 5,77% do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano em comparação ao farelo de arroz *in natura* (Tabela 4).

Similarmente ao resultado de alguns aminoácidos essenciais, os aminoácidos não essenciais do produto do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano também exibiram aumento significativo, especialmente em: 10,6% para Glicina, 9,8% para Alanina, 9,1% para Prolina, 7,36% para Ácido aspártico, 6,25% para Serina e 6,19% para o Ácido glutâmico. Além disso, nesse mesmo produto do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano, o teor de proteína bruta aumentou significativamente em 8,83%, e a soma total de aminoácidos em 6,88% em relação ao substrato *in natura* (FA) (Tabela 4).

Tabela 4: Perfil de aminoácidos totais e proteína bruta do farelo de arroz sem processo fermentativo (*in natura*) e do farelo integral de arroz fermentado pelo combo microbiano.

Aminoácidos (%)	FA	FAF
<i>Aminoácidos essenciais</i>		
Arginina	0,52 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fenilalanina	0,27 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,29 ± 0,01 <sup>a</sup>
Histidina	0,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,01 <sup>a</sup>
Isoleucina	0,19 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>a</sup>
Leucina	0,48 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>a</sup>
Lisina	0,32 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,35 ± 0,01 <sup>a</sup>
Metionina	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>
Valina	0,35 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,39 ± 0,01 <sup>a</sup>
Treonina	0,29 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,01 <sup>a</sup>
Triptofano	0,11 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>a</sup>
<i>Aminoácidos não essenciais</i>		
Ácido aspártico	0,63 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,68 ± 0,01 <sup>a</sup>
Ácido glutâmico	0,91 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,97 ± 0,01 <sup>a</sup>
Alanina	0,46 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>a</sup>
Cistina	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>
Glicina	0,42 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,47 ± 0,01 <sup>a</sup>
Hidroxiprolina	<0,01 <sup>a</sup>	<0,01 <sup>a</sup>
Prolina	0,30 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>a</sup>
Serina	0,30 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,32 ± 0,01 <sup>a</sup>
Taurina	<0,01 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>
Tirosina	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>
Soma total dos aminoácidos	6,09 <sup>b</sup>	6,54 <sup>a</sup>
Proteína bruta	7,44 ± 0,14 <sup>b</sup>	8,16 ± 0,03 <sup>a</sup>

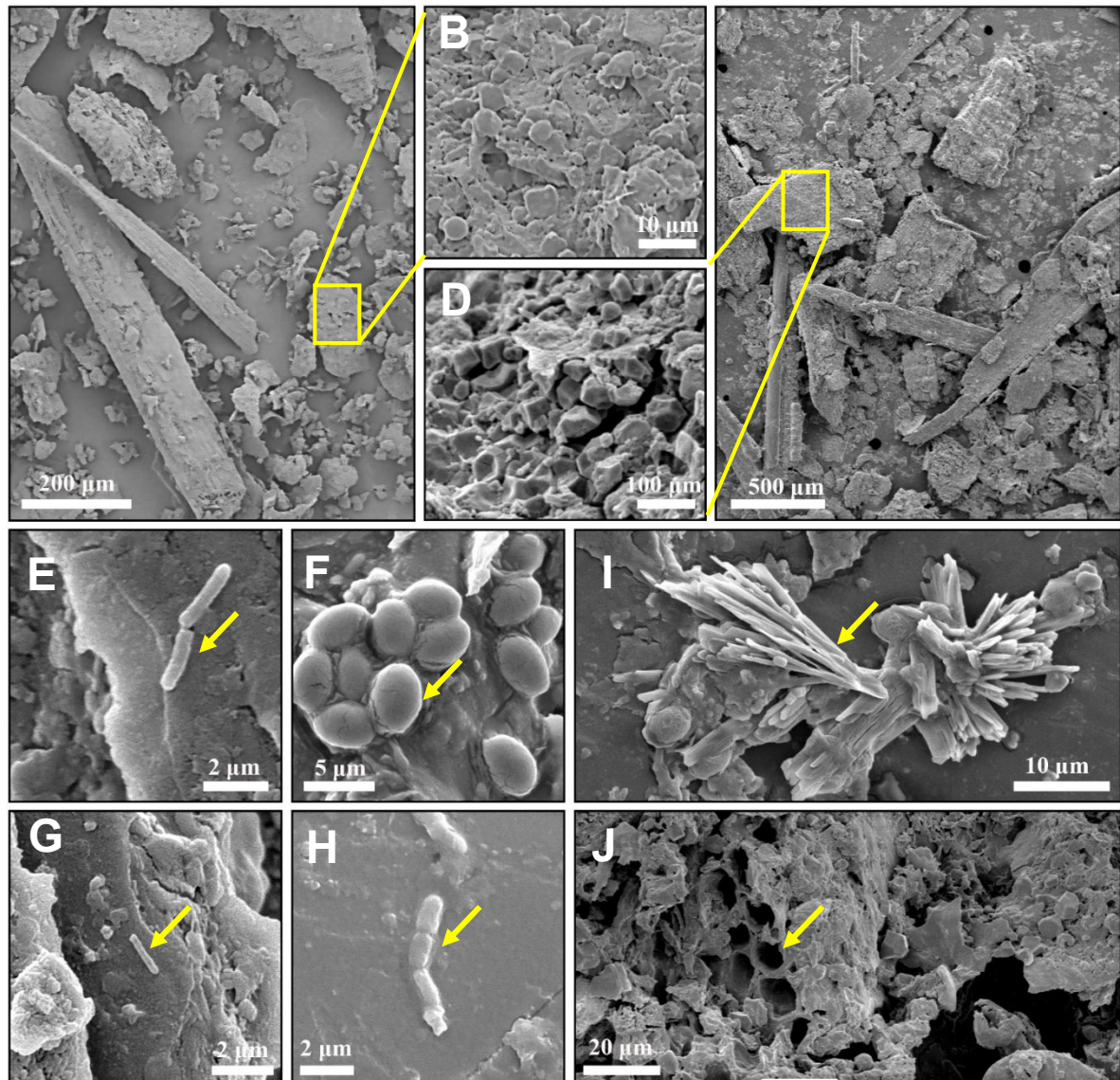
\*Os dados são apresentados em média ± desvio padrão. FA - Farelo de arroz *in natura*; FAF - Farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano. Letras minúsculas (a, b) representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

No que diz a respeito à morfologia a partir do MEV, o farelo de arroz sem fermentação (Fig.9, A e B) apresentou mudanças na sua porosidade, microestrutura e aumento da fragmentação das partículas após a fermentação pelo combo microbiano (Fig.9, C e D). Assim como, foi possível identificar a presença de microrganismos das famílias Lactobacillaceae, Saccharomycetaceae, Bacillaceae (Fig.9, E, F, G e H).

A fermentação promoveu o aumento do teor de cálcio e fibras no farelo de arroz fermentado (Tabela 3). Além disso, estes efeitos foram também possíveis de visualizar no MEV, onde observou-se a estrutura cristalina do mineral de cálcio (Fig.

9, I); e as estruturas das fibras presentes no farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano, com aspecto de “favo de mel” (Fig. 9, J).

Figura 9: Imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) do farelo de arroz sem processo fermentativo (*in natura*) e do farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano.



A – Farelo de arroz sem fermentação (*in natura*); B – Ampliação da figura A; C – Farelo integral de arroz fermentado; D – Ampliação da Figura C; E, H – Indivíduos da família *Lactobacillaceae*; F – Indivíduos da família *Saccharomycetaceae*; G – Individuo da família *Bacillaceae*; I – Cristais de cálcio no farelo de arroz fermentado J – Porosidade e fibras do farelo de arroz fermentado.

#### 4.4. DISCUSSÃO

O pH é um fator determinante no processo fermentativo, como evidenciado por Asunis et al., (2019). Sayed et al., (2023) relataram diminuição do pH no farelo de arroz fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus plantarum*, o que indica sucesso desse processo. O aumento da acidez do meio é reflexo da produção de ácidos orgânicos e dióxido de carbono. Esse achado corrobora com os resultados do presente trabalho, onde também se verificou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) do pH no produto da fermentação do farelo de arroz com o combo microbiano em comparação ao produto da fermentação natural do farelo de arroz. Para que a fermentação sólida seja bem sucedida, é essencial manter o pH dentro de uma faixa ótima, atendendo as exigências dos microrganismos e otimizando, assim, o processo fermentativo (CHILAKAMARRY et al., 2022). Nesse sentido, Shi et al., (2023) descrevem que o pH mais baixo pode ser mais favorável para a fermentação, pois inibe o crescimento de diversas bactérias patogênicas e aumenta a concentração bactérias probióticas. Portanto, a redução do pH favorece a manutenção dos microrganismos probióticos e redução dos microrganismos prejudiciais, tornando o substrato fermentativo uma matriz alimentar favorável e um veículo de entrega de organismos benéficos aos organismos aquáticos cultiváveis.

Adicionalmente, a contagem microbiológica de células viáveis (meio dependente) proporciona a quantificação do número de colônias em divisão/crescimento dos microrganismos presentes no produto do processo fermentativo (BEHERA et al., 2019). Nessa perspectiva, Moon e Chang, (2021) relataram aumento do número de UFC de *Lactobacillus plantarum* de 7 log UFC/mL<sup>-1</sup> para 9,78 log UFC/mL<sup>-1</sup>, no produto da fermentação do farelo de arroz a 30°C por 48h, o que representa o sucesso na utilização desse substrato como fonte de nutrientes e crescimento da população de bactérias ácido lácticas. Em conformidade a esses achados, os resultados do presente trabalho, também observou incremento significativo ( $p < 0,05$ ) nas contagens de UFC, tanto para BAL de 8 log UFC/mL<sup>-1</sup> para 9,52 log UFC/mL<sup>-1</sup>, quanto para BHT, no produto da fermentação do farelo de arroz com o combo microbiano, em relação ao grupo de fermentação natural do farelo de arroz. Esses fatos podem estar relacionado aos achados descritos por Thomas; Larroche e Pandey (2013) que destaca, o substrato na SSF é utilizado como fonte de

carbono, material de suporte e nutrientes essenciais fornecendo condições necessárias ao crescimento dos microrganismos.

A SSF pode modificar a presença de nutrientes no substrato fermentado (KUMITCH et al., 2020). Nesse sentido, Christ-Ribeiro et al., (2020) relataram alterações significativas no conteúdo dos macronutrientes (minerais, proteína, fibras e lipídios) no produto final da fermentação do farelo de arroz por *Saccharomyces cerevisiae* a 30°C por 6h. Fato esse semelhante aos dados encontrados no presente trabalho, onde o farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano incrementou os macronutrientes, proteína bruta (PB) e fibra bruta (FB), no entanto, diminui o extrato etéreo e matéria mineral, em comparação ao farelo de arroz *in natura*. Adicionalmente, Samtiya et al., (2021) relataram aumento da disponibilidade de micronutrientes do produto obtido após processos fermentativos de substratos de origem vegetal. Por exemplo, na fermentação do arroz por *Lactobacillus spicheri* DSM 15429 houve aumento do conteúdo de cálcio e potássio (CHIS et al., 2020). Assim como, na fermentação de arroz por *Lactobacillus plantarum* L7 foi registrado aumento da presença de sódio e ferro (GIRI et al., 2018). No presente trabalho, foi registrado aumento no conteúdo de sódio, ferro e cálcio, bem como, redução de fosfato, fósforo e potássio no combo microbiano. O aumento dos conteúdos de PB, FB e cálcio no produto da fermentação do combo microbiano aumentou a disponibilidade desses nutrientes, o que tem potencial de agregar valor à produção de organismos aquáticos. Diversas publicações relatam que, a utilização de ingredientes fermentados em inclusões parciais na alimentação melhoram o desempenho zootécnico, melhor aproveitamento dos nutrientes contidos nas rações, sobrevivência, modulação da microbiota intestinal, atividade enzimática digestiva e resistência a doenças, quando comparado a ingredientes não fermentados (DAWOOD; KOSHIO, 2020; LI et al., 2023a; ZHANG et al., 2021b, 2023). Além de que, a diminuição dos micronutrientes como o fósforo e fosfato, possibilitam um ingrediente mais amigável ao meio ambiente com menor potencial de poluição ambiental. Isto representa o efeito benéfico da fermentação do substrato de farelo de arroz, que promove aprimoramento de sua qualidade nutricional e potenciais usos.

Já no que tange aos fatores antinutricionais, o ácido fítico é um dos principais antinutrientes contido em alimentos de origem vegetal (POPOVA; MIHAYLOVA, 2019). É geralmente conhecido como *myo*-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakis dihidrogenofosfato, estando presente em vários níveis, de 0,1 até 6,0% (GUPTA;

GANGOLIYA; e SINGH, 2015). De acordo com Samtiya; Aluko e Dhewa, (2020) a sua presença, pode ser reduzida por diversas técnicas e métodos de processamento. A fermentação, também denominada, bioprocesso, é um dos métodos capaz de reduzir os níveis de ácido fítico (FAIZAL et al., 2023). A exemplo disso, a SSF do farelo arroz por *Lactobacillus plantarum*, foi capaz de reduzir o conteúdo de ácido fítico (MOON; e CHANG 2021). Assim como, a co-fermentação em SSF do substrato de farelo de arroz por *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus plantarum*, também mitiga o conteúdo de ácido fítico no produto fermentado (SAYED et al., 2022). No entanto, este efeito positivo na redução do conteúdo de ácido fítico por um processo fermentativo, não foi comprovado no presente trabalho ( $p > 0,05$ ). Segundo Pazla et al., (2023) a redução do fator antinutricional pode ser afetada por diversos fatores, dentre eles, a cepa bacteriana, dosagem de inóculo, tempo de fermentação e o tipo do substrato fermentativo. Nesse sentido, Pazla et al., (2021) relataram que a fermentação de margaridão (*Tithonia diversifolia*) por *Lactobacillus bulgaricus* no maior tempo conduzido em experimento de 120 horas, conferiu uma taxa de degradação de 64,81% do conteúdo de ácido fítico em comparação a 48 horas com taxa de degradação de 51,03%. Sendo assim, o um aumento significativo na taxa de degradação do conteúdo do antinutriente pode estar relacionado também ao tempo do processo fermentativo. Complementarmente, o baixo conteúdo de ácido fítico no substrato do farelo de arroz, utilizado no processo fermentativo investigado, pode não ter sido detectado pelos microrganismos, não havendo então, a liberação da enzima fitase.

O fornecimento adequado de proteínas e aminoácidos (AA) é essencial para o ótimo crescimento, desenvolvimento e sobrevivência dos animais cultivados (WU 2013a, 2013b). Os aminoácidos são a unidade básica da proteína Kimball; Jefferson (2006), formados por base nitrogenadas, classificados como AA essenciais e não essenciais (WU, 2013a). No entanto, os ingredientes de origem vegetal geralmente estão associados a um desequilíbrio no perfil de AA essenciais (TACON, 1995). Em estudo realizado com SSF empregando o combo microbiano composto de *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae*, promoveu aumento no conteúdo de AA totais no substrato de farelo de arroz fermentado (SU et al., 2022). O que respalda os resultados encontrados nesse trabalho, onde houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nos AA totais do grupo de farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano, comparado ao grupo de fermentação natural. Fato esse também descrito

por Li et al., (2023), onde a fermentação bacteriana promoveu incremento da composição dos AA livres e hidrólise das proteínas presentes no substrato fermentado. Em relação aos AA essenciais, a lisina e metionina são deficientes em alimentos de origem vegetal (GATLIN et al., 2007). No presente trabalho, constatou-se que a fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano foi capaz de aumentar significativamente os AA essenciais, como, lisina e triptofano, quando comparado ao produto da fermentação natural do farelo de arroz. Putra et al., (2022) verificaram que o produto da fermentação do farelo de arroz por *Aspergillus niger*, também apresentou aumento no conteúdo de lisina. Jannathulla et al., (2017) também descreveram aumento significativo do AA essencial triptofano do produto após processo fermentativo, o que corrobora com o presente trabalho. Sendo assim, a fermentação pelo combo microbiano é capaz de hidrolisar proteínas extraídas dos vegetais, modificando-as e tornando mais facilmente absorvidas e utilizáveis (YU, 2012). Estas proteínas ou peptídeos de menor tamanho molecular, possuem diversas funções fisiológicas, tais como, antioxidantes, redução da pressão sanguínea e melhorar a imunidade (LIU et al., 2016). Portanto, a fermentação do farelo vegetal pode promover diversos benefícios na transformação da matéria-prima, que posteriormente pode ser ofertado para alimentação de organismos aquáticos.

Além disso, o farelo de arroz é rico em fibras dietéticas, principalmente em celulose, hemicelulose, pectina, arabinosilano, lignina,  $\beta$ -glucano e ácidos fenólicos (HENDERSON et al., 2012), as quais podem ser visualizadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV). A MEV é geralmente empregada para investigar reações dinâmicas e atividades que alteram estruturas e superfícies (BARROO et al., (2020). A identificação de alterações estruturais na fibra solúvel dietética Chen et al., (2018), microestrutura Jia et al., (2019), porosidade Ren et al., (2021), estrutura cristalina de cálcio (Cooper; Brayford; Laycock, 2014; Fouad et al., 2018), leveduras He et al., (2021), *Bacillus* sp. e *Lactobacillus* sp. (SU et al., 2022). Nesse sentido, no presente trabalho, foi possível verificar as fibras com aspecto de “favo de mel”, relatado também por Chu et al., (2019), onde promoveu a fermentação do farelo de milho por *Bacillus natto*. As alterações na microestrutura causados pela SSF foram visualizadas também em: farinha de amendoim (*Arachis hypogaea*) por *Bacillus velezensis* LB-Y-1 e *Pediococcus acidilactici* LC-9-1 (LI et al., 2023) farinha de folha de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) por *Aspergillus niger*, *Candida Utilis* e *Bacillus subtilis* (SHI et al., 2021), no farelo de arroz desengordurado por *Trichoderma viride*



(JIA et al., 2019) e na farinha de trigo por *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophiles* (ZHAO; GUO e ZHU, 2017). As mudanças na porosidade estão relacionadas com a degradação da parede celular segundo (ZHANG et al., 2021a). Neste trabalho, foi possível observar as mudanças na porosidade, relatado também por Ren et al., (2021), onde apresentou uma superfície mais porosa e pequenos fragmentos na fibra dietética do farelo de arroz desengordurado. O maior conteúdo de cálcio no farelo de arroz fermentado pelo combo microbiano comparado ao farelo de arroz fermentado naturalmente, foi visualizado pela presença de cristais de cálcio, o qual foi descrita por COOPER; BRAYFORD; LAYCOCK, 2014; FOUAD et al., 2018). A presença de microrganismos probióticos no produto da fermentação do farelo de arroz pelo combo microbiano, tais como: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus* sp, também foi descrito por Su et al., (2022) na fermentação do farelo de arroz desengordurado. Logo, a SSF do farelo de arroz por um combo microbiano promove diversas alterações químicas, microbianas, estruturais, e porosas no substrato fermentado. Apresentando, portanto, qualidades desejáveis às matéria-prima em formulações de dietas para organismos aquáticos, possibilitando a reutilização desse coproduto residual da indústria, rico em nutrientes e valor biológico.

#### 4.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível selecionar as melhores cepas de BAL, estas integraram o combo microbiano juntamente de *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*, que a partir da fermentação sólida do farelo de arroz, proporcionaram a queda do pH, aumento da contagem de microrganismos probióticos e BHT, melhora da disponibilidade e qualidade de nutrientes, como a proteína bruta, fibra bruta, cálcio, aminoácidos essenciais e totais. Além de reduzir fatores indesejáveis como o conteúdo de fósforo e fosfato. No entanto, no presente trabalho não foi possível reduzir o fator antinutricional de ácido fítico, o que se sugere, a trabalhos futuros, a adição da enzima fitase junto ao combo microbiano.

## REFERÊNCIAS

- Admassie, M., 2018. A Review on Food Fermentation and the Biotechnology of Lactic Acid Bacteria. *World J. Food Sci. Technol.* 2, 19. <https://doi.org/10.11648/j.wjfst.20180201.13>
- Albrektsen, S., Kortet, R., Skov, P.V., Ytteborg, E., Gitlesen, S., Kleinegris, D., Mydland, L.T., Hansen, J.Ø., Lock, E.J., Mørkøre, T., James, P., Wang, X., Whitaker, R.D., Vang, B., Hatlen, B., Daneshvar, E., Bhatnagar, A., Jensen, L.B., Øverland, M., 2022. Future feed resources in sustainable salmonid production: A review. *Rev. Aquac.* 14, 1790–1812. <https://doi.org/10.1111/raq.12673>
- Boyd, C., Mcnevin, A., 2015. *Aquaculture, Resource Use, And The Environment*.
- Colombo, S.M., Turchini, G.M., 2021. 'Aquafeed 3.0': creating a more resilient aquaculture industry with a circular bioeconomy framework. *Rev. Aquac.* 13, 1156–1158. <https://doi.org/10.1111/raq.12567>
- Dai, Z., Cui, L., Li, J., Wang, B., Guo, L., Wu, Z., Zhu, W., Wu, G., 2019. Fermentation techniques in feed production. *Anim. Agric. Sustain. Challenges Innov.* 407–429. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817052-6.00024-0>
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., 2020. Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. *Rev. Aquac.* 12, 987–1002. <https://doi.org/10.1111/raq.12368>
- de Mello Ayres, T.S., Christ-Ribeiro, A., Furlong, E.B., Monserrat, J.M., Tesser, M.B., 2022. Use of defatted fermented rice bran in the diet of juvenile mullets *Mugil liza*. *Aquaculture* 554. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738108>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H., 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.* 124, 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Erkmen, O., Bozoglu, T.F., 2016. *Basic Principles of Food Fermentation*. Food Microbiol. Princ. into Pract. Firts Edit, 228–252.
- Fadel, J.G., 1999. Quantitative analyses of selected plant by-product feedstuffs, a global perspective. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79, 255–268. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00031-0)
- FAO, 2022. *World Fisheries and Aquaculture*.
- Flores-Miranda, M. del C., Luna-González, A., Cortés-Espinosa, D.V., Álvarez-Ruiz, P., Cortés-Jacinto, E., Valdez-González, F.J., Escamilla-Montes, R., González-Ocampo, H.A., 2015. Effects of diets with fermented duckweed *Lemna sp.* on growth performance and gene expression in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Int.* 23, 547–561. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9835-x>

- Garrido-Galand, S., Asensio-Grau, A., Calvo-Lerma, J., Heredia, A., Andrés, A., 2021. The potential of fermentation on nutritional and technological improvement of cereal and legume flours: A review. *Food Res. Int.* 145. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110398>
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquac. Res.* 38, 551–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>
- Glencross, B.D., Baily, J., Berntssen, M.H.G., Hardy, R., MacKenzie, S., Tocher, D.R., 2020. Risk assessment of the use of alternative animal and plant raw material resources in aquaculture feeds. *Rev. Aquac.* 12, 703–758. <https://doi.org/10.1111/raq.12347>
- Godber, J.S., Wells, J.H., 1994. Rice bran: as a viable source of high value chemicals. *Louisiana Agric.* 37, 13–17. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70236-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70236-3)
- Hassaan, M.S., Soltan, M.A., Abdel-Moez, A.M., 2015. Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 201, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.01.007>
- Hodar, A.R., Vasava, R., Joshi, N.H., Mahavadiya, D.R., 2020. Fish meal and fish oil replacement for alternative sources: a review. *J. Exp. Zool. India* 23, 13–21.
- Kataoka, K., Kibe, R., Kuwahara, T., Hagiwara, M., Arimochi, H., Iwasaki, T., Benno, Y., Ohnishi, Y., 2007. Modifying effects of fermented brown rice on fecal microbiota in rats. *Anaerobe* 13, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.07.001>
- Katina, K., Juvonen, R., Laitila, A., Flander, L., Nordlund, E., Kariluoto, S., Piironen, V., Poutanen, K., 2012. Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking. *Cereal Chem.* 89, 126–134. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-11-0106>
- Kokou, F., Fountoulaki, E., 2018. Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. *Aquaculture* 495, 295–310. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.003>
- Kwoji, I.D., Aiyegoro, O.A., Okpeku, M., Adeleke, M.A., 2021. Multi-strain probiotics: Synergy among isolates enhances biological activities. *Biology (Basel)*. 10, 1–20. <https://doi.org/10.3390/biology10040322>
- Mitra, A., 2021. Thought of Alternate Aquafeed: Conundrum in Aquaculture Sustainability? *Proc. Zool. Soc.* 74. <https://doi.org/10.1007/s12595-020-00352-4>
- Ramachandra Kolgi, R., U. B., R., 2022. Antinutritional Factors in Food, in: *Ecology Research Volume V*. p. 123.
- Ryan, E.P., Heuberger, A.L., Weir, L., Barnett, B., Broeckling, C.D., Prenni, J.E., 2011. Rice Bran Fermented with *Saccharomyces boulardii* Generates Novel Metabolite Profiles with Bioactivity. *Agric. Food Chem.* 1862–1870.

- Saunders, R.M., 1985. Rice bran: Composition and potential food uses, *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559128509540780>
- Sayed, E., Mahmoud, A., Sorour, M.A., Hussein, S.M., Hassan, M.A., 2022. Rice Bran Stabilization by Solid-State Fermentation: Effect on Chemical Composition, Functional Properties and Antioxidant Activity. *Asian J. Food Res. Nutr.* 1, 26–34.
- Spaggiari, M., Dall’asta, C., Galaverna, G., Bilbao, M.D.D.C., 2021. Rice bran by-product: From valorization strategies to nutritional perspectives. *Foods* 10, 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods10010085>
- Sun, H., Tang, J. wu, Yao, X. hong, Wu, Y. fei, Wang, X., Liu, Y., Lou, B., 2015. Partial substitution of fish meal with fermented cottonseed meal in juvenile black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* diets. *Aquaculture* 446, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.020>
- Surianti, Muaddama, F., Putri, R.S., Hasrianti, Damis, Wahyudi, 2021. Application of Fermented Rice Bran Using *Lactobacillus sp.* in Artificial Feed For Survival Rate and FCR of Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Proc. 3rd KOBI Congr. Int. Natl. Conf. (KOBICINC 2020)* 14, 529–534. <https://doi.org/10.2991/absr.k.210621.088>
- Tacon, A.G.J., Metian, M., 2015. Feed matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 23, 1–10. <https://doi.org/10.1080/23308249.2014.987209>
- Thilsted, S.H., Thorne-Lyman, A., Webb, P., Bogard, J.R., Subasinghe, R., Phillips, M.J., Allison, E.H., 2016. Sustaining healthy diets: The role of capture fisheries and aquaculture for improving nutrition in the post-2015 era. *Food Policy* 61, 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2016.02.005>
- Troell, M., Costa-Pierce, B., Stead, S., Cottrell, R.S., Brugere, C., Farmery, A.K., Little, D.C., Strand, Å., Pullin, R., Soto, D., Beveridge, M., Salie, K., Dresdner, J., Moraes-Valenti, P., Blanchard, J., James, P., Yossa, R., Allison, E., Devaney, C., Barg, U., 2023. Perspectives on aquaculture’s contribution to the Sustainable Development Goals for improved human and planetary health. *J. World Aquac. Soc.* 54, 251–342. <https://doi.org/10.1111/jwas.12946>
- van Riel, A.J., Nederlof, M.A.J., Chary, K., Wiegertjes, G.F., de Boer, I.J.M., 2023. Feed-food competition in global aquaculture: Current trends and prospects. *Rev. Aquac.* 1–17. <https://doi.org/10.1111/raq.12804>
- Webber, A., Hettiarachchy, N.S., Webber, D.M., Sivarooban, T., Horax, R., 2014. Heat-Stabilized Defatted Rice Bran (HDRB) as an Alternative Growth Medium for *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Food Nutr.* <https://doi.org/10.17303/jfn.2014.103>
- Zhang, D., Zhang, Y., Liu, B., Jiang, Y., Zhou, Q., Wang, J., Wang, H., Xie, J., Kuang, Q., 2017. Effect of Replacing Fish Meal with Fermented Mushroom Bran Hydrolysate on the Growth, Digestive Enzyme Activity, and Antioxidant Capacity of Allogynogenetic Crucian Carp *Carassius auratus gibelio*. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 17, 51–60. <https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17>

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- ABDEL-TAWWAB, M. et al. Effects of *Bacillus subtilis*-fermented rice bran on water quality, performance, antioxidants/oxidants, and immunity biomarkers of White leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared at different salinities with zero water exchange. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 34, n. 2, p. 332–357, 2022.
- ABIRI, S. A. et al. Influence of wheat and rice bran fermentation on water quality, growth performance, and health status of Common carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in a biofloc-based system. **Aquaculture**, v. 555, n. January, p. 738168, 2022.
- ADMASSIE, M. A Review on Food Fermentation and the Biotechnology of Lactic Acid Bacteria. **World Journal of Food Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 19, 2018.
- AL-HUSSINI, H. S. et al. Biological control of damping-off of tomato caused by *Pythium aphanidermatum* by using native antagonistic rhizobacteria isolated from Omani soil. **Journal of Plant Pathology**, v. 101, n. 2, p. 315–322, 2019.
- ALBREKTSSEN, S. et al. Future feed resources in sustainable salmonid production: A review. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 4, p. 1790–1812, 2022.
- ARAUJO, G. S. et al. Fish Farming Techniques: Current Situation and Trends. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 10, n. 11, 2022.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, A. Association of Official Agricultural Chemists. **Journal of AOAC International**, 2016.
- ASUNIS, F. et al. Control of fermentation duration and pH to orient biochemicals and biofuels production from cheese whey. **Bioresource Technology**, v. 289, n. June, p. 121722, 2019.
- B, L.; SOTELO, A. Effect of Different alkalies, Temperature and Hydrolysis Times on Tryptophan Determination of Pure Proteins and of Food. **Analytical Biochemistry**, p. 192–197, 1980.
- BARROO, C. et al. Imaging the dynamics of catalysed surface reactions by in situ scanning electron microscopy. **Nature Catalysis**, v. 3, n. 1, p. 30–39, 2020.
- BEHERA, S. S. et al. **Microorganisms in Fermentation**. p. 1-39, 2019.
- BOMFIM BARBOSA, V. **Produção e Extração de Exopolissacarídeos de Cepas de Lactobacillus spp. Potencialmente Probióticas**. Universidade Federal da Paraíba, 2019.
- BOYD, C. E. et al. Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 3, p. 578–633, 2020.
- BOYD, C. E.; MCNEVIN, A. A.; DAVIS, R. P. The contribution of fisheries and aquaculture to the global protein supply. **Food Security**, v. 14, n. 3, p. 805–827,

2022.

BOYD, C.; MCNEVIN, A. **Aquaculture, Resource Use, And The Environment**, 2015.

CHATVIJITKUL, S. et al. Pollution potential indicators for feed-based fish and shrimp culture. **Aquaculture**, v. 477, p. 43–49, 2017.

CHEN, H. et al. Effects of extrusion on structural and physicochemical properties of soluble dietary fiber from nodes of lotus root. **Lwt**, v. 93, p. 204–211, 2018.

CHILAKAMARRY, C. R. et al. Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products: Opportunities and challenges. **Bioresource Technology**, v. 343, n. September 2021, p. 126065, 2022.

CHINMA, C. E. et al. Properties of cereal brans: A review. **Cereal Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 1–7, 2015.

CHIS, M. S. et al. Effect of rice flour fermentation with *Lactobacillus spicheri* DSM 15429 on the nutritional features of gluten-free muffins. **Foods**, v. 9, n. 6, 2020.

CHRIST-RIBEIRO, A. et al. Fermented rice bran: an alternative ingredient in baking. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e45491110225, 21 nov. 2020.

CHU, J. et al. Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from millet bran fermented by *Bacillus natto*. **Food Chemistry**, v. 294, n. 1, p. 79–86, 2019.

CIANI, M.; COMITINI, F.; MANNAZZU, I. Fermentation. **Encyclopedia of Ecology**, n. June, p. 310–321, 2018.

COLOMBO, S. M.; TURCHINI, G. M. 'Aquafeed 3.0': creating a more resilient aquaculture industry with a circular bioeconomy framework. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 3, p. 1156–1158, 2021.

CÔMPENDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, M.-001 R. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. **Métodos Analíticos, São Paulo: Sindirações, Método nº45.**, v. 5, p. 204–206, 2017.

COOPER, J. J.; BRAYFORD, M. J.; LAYCOCK, P. A. A new acoustic method to determine the setting time of calcium sulfate bone cement mixed with antibiotics. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 9, n. 4, 2014.

DA SILVA, I. G. P. et al. Morfotipagem de colônias de leveduras cultivadas em meio de cultura YEPD / Morphotyping of yeast colonies grown on YEPD culture medium. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 11, p. 105258–105270, 2021.

DA SILVA, O. F.; WANDER, A. E.; MAGRI FERREIRA, C. **Dados de conjuntura da produção de arroz (*Oryza sativa* L.) no Brasil (1985-2018): área, produção e rendimento.**

DAI, Z. et al. Fermentation techniques in feed production. **Animal Agriculture:**

**Sustainability, Challenges and Innovations**, p. 407–429, 2019.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S. Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 2, p. 987–1002, 2020.

DE LEMOS CHERNICHARO, C. A. **Reatores anaeróbios**, v. 5, n. 2, p. 380, 2016.

DE MELLO AYRES, T. S. et al. Use of defatted fermented rice bran in the diet of juvenile mullets *Mugil liza*. **Aquaculture**, v. 554, n. February, 2022.

DO PRADO, F. G. et al. Fermented Soy Products and Their Potential Health Benefits: A Review. **Microorganisms**, v. 10, n. 8, p. 1–24, 2022.

DOS, M. et al. Physico-chemical characterization of fermented rice bran biomass. **CYTA - Journal of Food**, v. 8, n. 3, p. 229–236, 2010.

ELLEUCH, M. et al. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 411–421, 2011.

ERKMEN, O.; BOZOGLU, T. F. Basic Principles of Food Fermentation. **Food Microbiology: Principles into Practice**, v. First Edit, p. 228–252, 2016.

FADEL, J. G. Quantitative analyses of selected plant by-product feedstuffs, a global perspective. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, n. 4, p. 255–268, 1999.

FAIZAL, F. I. et al. Food processing to reduce antinutrients in plant-based foods. **International Food Research Journal**, v. 30, n. 1, p. 25–45, 2023.

FAO. Towards Blue Transformation. **World Fisheries and Aquaculture**, p.1-11, 2022.

FLORES-MIRANDA, M. DEL C. et al. Effects of diets with fermented duckweed *Lemna sp.* on growth performance and gene expression in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture International**, v. 23, n. 2, p. 547–561, 2015.

FOUAD, H. et al. Porous polyethylene coated with functionalized hydroxyapatite particles as a bone reconstruction material. **Materials**, v. 11, n. 4, 2018.

FRECCIA, A. et al. **Emerging Technologies, Environment and Research for Sustainable Aquaculture**, p.154, 2019.

GARRIDO-GALAND, S. et al. The potential of fermentation on nutritional and technological improvement of cereal and legume flours: A review. **Food Research International**, v. 145, 2021.

GATLIN, D. M. et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 551–579, 2007.

GHNIMI, S.; GUIZANI, N. Chapter 17 - Introduction - Principles of Pickling - Fermentation. **Handbook of Vegetables and Vegetable Processing: Second Edition**, v. I, p. 407–427, 2018.

GHOSH, B.; BHATTACHARYA, D.; MUKHOPADHYAY, M. Use of Fermentation Technology for Value Added Industrial Research. **Principles and Applications of Fermentation Technology**, p. 141–161, 2018.

GIRI, S. S. et al. Use of a potential probiotic, *Lactobacillus plantarum* L7, for the preparation of a rice-based fermented beverage. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAR, p. 1–11, 2018.

GLENCROSS, B. D. et al. Risk assessment of the use of alternative animal and plant raw material resources in aquaculture feeds. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 2, p. 703–758, 2020.

GODBER, J. S.; WELLS, J. H. Rice bran: as a viable source of high value chemicals. **Louisiana Agriculture**, v. 37, n. 2, p. 13–17, 1994.

GUL, K. et al. Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food - A review. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 6, n. 1, p. 24–30, 2015.

GUPTA, R. K.; GANGOLIYA, S. S.; SINGH, N. K. Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 676–684, 2015.

HAGEN, S.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn Phenylisothiocyanate Derivatization and Liquid-Chromatography of Amino-Acids in Food. **Journal of The Association of Official Analytical Chemists**, p. 912–916, 1989.

HASSAAN, M. S.; SOLTAN, M. A.; ABDEL-MOEZ, A. M. Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 201, p. 89–98, 2015.

HE, R. et al. Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* in a 7.5 L ultrasound-enhanced fermenter: Effect of sonication conditions on ethanol production, intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration and key regulating enzyme activity in glycolysis. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 76, 2021.

HENDERSON, A. J. et al. Chemopreventive properties of dietary rice bran: Current status and future prospects. **Advances in Nutrition**, v. 3, n. 5, p. 643–653, 2012.

HODAR, A. R. et al. Fish meal and fish oil replacement for alternative sources: a review. **Journal of Experimental Zoology India**, v. 23, n. January, p. 13–21, 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**, v. 4, p. 2–1000, 2008.

JANNATHULLA, R. et al. Effect of fermentation methods on amino acids, fiber fractions and anti-nutritional factors in different plant protein sources and essential amino acid index for *Penaeus vannamei* Boone, 1931. **Indian Journal of Fisheries**, v. 64, n. 2, p. 40–47, 2017.

JIA, M. et al. Structural characteristics and functional properties of soluble dietary



fiber from defatted rice bran obtained through *Trichoderma viride* fermentation. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. March, p. 468–474, 2019.

JOBLING, M. National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. **The National Academies Press**, n. 123, p. 601–602, 2012.

KARI, Z. A. et al. Recent Advances, Challenges, Opportunities, Product Development and Sustainability of Main Agricultural Wastes for the Aquaculture Feed Industry - A Review. **Annals of Animal Science**, v. 23, n. 1, p. 25–38, 2023.

KATAOKA, K. et al. Modifying effects of fermented brown rice on fecal microbiota in rats. **Anaerobe**, v. 13, n. 5–6, p. 220–227, 2007.

KATINA, K. et al. Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking. **Cereal Chemistry**, v. 89, n. 2, p. 126–134, 2012.

KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. New functions for amino acids: Effects on gene transcription and translation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 2, p. 500–507, 2006.

KOKOU, F.; FOUNTOULAKI, E. Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. **Aquaculture**, v. 495, p. 295–310, 2018.

KROGDAHL, A.; M. KORTNER, T.; W. HARDY, R. Antinutrients and adventitious toxins. In: **Fish Nutrition**. Fourth Ed. ed. [s.l.] Springer US, 2022. p. 775–821.

KUILA, A.; SHARMA, V. **Principles and Applications of Fermentation Technology**, 2018.

KUMITCH, H. M. et al. Effect of fermentation time on the nutritional properties of pea protein-enriched flour fermented by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. **Cereal Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 104–113, 2020.

KWOJI, I. D. et al. Multi-strain probiotics: Synergy among isolates enhances biological activities. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 1–20, 2021.

LATTA, M.; ESKIN, M. A Simple and Rapid Colorimetric Method for Phytate Determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 6, p. 1313–1315, 1980.

LELAMURNI ABD RAZAK, D. et al. Enhancement of Phenolic Acid Content and Antioxidant Activity of Rice Bran Fermented With *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 6, 2015.

LI, J. et al. Addition of solid-state fermentation product of yeast ameliorated the effects of high-fat diet on hepatic lipid metabolism, epidermal mucus, intestine and liver health, and gut microbiota of zebrafish. **Aquaculture Reports**, v. 30, n. May, p. 101589, 2023a.

LI, S. et al. Effects of Solid-State Fermentation on the Standardized Ileal Digestibility of Amino Acids and Apparent Metabolizable Energy in Peanut Meal Fed to Broiler

Chickens. **Fermentation**, v. 9, n. 4, 2023b.

LIÑAN-VIDRIALES, M. A. et al. Effect of rice bran fermented with *Bacillus* and *Lysinibacillus* species on dynamic microbial activity of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 531, p. 735958, 2021.

LIU, M. et al. Bioactive peptides derived from traditional Chinese medicine and traditional Chinese food: A review. **Food Research International**, v. 89, p. 63–73, 2016.

MAICAS, S. The role of yeasts in fermentation processes. **Microorganisms**, v. 8, n. 8, p. 1–8, 2020.

MANSOUR, A. T. et al. Aquatic Plants and Aquatic Animals in the Context of Sustainability: Cultivation Techniques, Integration, and Blue Revolution. **Sustainability (Switzerland)**, v. 14, n. 6, 2022.

MARÍA MARTÍNEZ-ESPINOSA, R. Introductory Chapter: A Brief Overview on Fermentation and Challenges for the Next Future. **New Advances on Fermentation Processes**, p. 1–9, 2020.

MASAGOUNDER, K. et al. Optimizing nutritional quality of aquafeeds. In: **Aquafeed Formulation**. Elsevier Inc., 2016. p. 239–264.

MATOS CARVALHO, R. M. Indução de Bactérias Solubilizadoras de Fosfatos em Cultivo de Feijão-Caupi *Vigna unguiculata L. Walp.* **UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**, 2017.

MENEZES, L. A. A. et al. Reducing FODMAPs and improving bread quality using type II sourdough with selected starter cultures. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 72, n. 7, p. 912–922, 2021.

MIOTTO, R. et al. Secretário da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2022.

MITRA, A. Thought of Alternate Aquafeed: Conundrum in Aquaculture Sustainability? **Proceedings of the Zoological Society**, v. 74, n. 1, 2021.

MONNERAT, R. et al. Manual de Produção e Controle de Qualidade de Produtos Biológicos á Base de Bactérias do Gênero *Bacillus* Para Uso na Agricultura. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, p. 47, 2020.

MOON, S. H.; CHANG, H. C. Rice bran fermentation using *Lactiplantibacillus plantarum* em as a starter and the potential of the fermented rice bran as a functional food. **Foods**, v. 10, n. 5, p. 12–14, 2021.

NIBA, A. T. et al. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 9, p. 1758–1767, 2009.

PAZLA, R. et al. Degradation of phytic acid from tithonia *Tithonia diversifolia* leaves using *Lactobacillus bulgaricus* at different fermentation times. **Biodiversitas**, v. 22, n.

11, p. 4794–4798, 2021.

PAZLA, R. et al. Pre-treatments of *Mirasolia diversifolia* using *Lactobacillus bulgaricus* at different dosages and fermentation times: Phytic acid concentration, enzyme activity, and fermentation characteristics. **South African Journal of Animal Science**, v. 53, n. 3, p. 429–437, 2023.

POPOVA, A.; MIHAYLOVA, D. Antinutrients in Plant-based Foods: A Review. **The Open Biotechnology Journal**, v. 13, n. 1, p. 68–76, 2019.

PORCHAS-CORNEJO, M. A. et al. Consumption of Natural and Artificial Foods by Shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared in Ponds with and without Enhancement of Natural Productivity Consumption of Natural and Artificial Foods by Shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared in Ponds with and. **The Israeli Journal of Aquaculture**, n. June 2014, p. 7, 2012.

PUTRA, A. N. et al. Evaluation of fermented rice bran to replace soybean meal in the diet of *Clarias sp.* fingerling. **Jurnal Akuakultur Indonesia**, v. 21, n. 2, p. 142–151, 2022.

RAMACHANDRA KOLGI, R.; U. B., R. Antinutritional Factors in Food. In: **Ecology Research**, v. 5, p. 123, 2022.

RAMESH, R. et al. Evaluation of cost effective diet for giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) by total replacement of conventional feed ingredients. **Journal of Experimental Zoology India**, v. 26, n. 1, p. 1301–1306, 2022.

REN, F. et al. Effects of modification methods on microstructural and physicochemical characteristics of defatted rice bran dietary fiber. **Lwt**, v. 151, n. July, p. 112-161, 2021.

RYAN, E. P. et al. Rice Bran Fermented with *Saccharomyces boulardii* Generates Novel Metabolite Profiles with Bioactivity. **Agricultural and Food Chemistry**, p. 1862–1870, 2011.

SAMTIYA, M. et al. Enhancing micronutrients bioavailability through fermentation of plant-based foods: A concise review. **Fermentation**, v. 7, n. 2, p. 1–13, 2021.

SAMTIYA, M.; ALUKO, R. E.; DHEWA, T. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 1–14, 2020.

SAUNDERS, R. M. **Rice bran: Composition and potential food uses**, v. 1, n. 3, p. 465-495, 1985.

SAYED, E. et al. Rice Bran Stabilization by Solid-State Fermentation: Effect on Chemical Composition, Functional Properties and Antioxidant Activity. **Asian Journal of Food Research and Nutrition**, v. 1, n. 2, p. 26–34, 2022.

SHARMA, R. et al. Microbial Fermentation and Its Role in Quality Improvement of Fermented Foods. **Fermentation**, v. 6, n. 4, p. 1–20, 2020.

- SHI, H. et al. Effect of Solid-State Fermentation on Nutritional Quality of Leaf Flour of the Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam). **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, n. April, p. 1–9, 2021.
- SHI, L. et al. Synergistic Impact of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus coagulans* on Solid-State Fermentation of *Astragalus* and Effects of Fermentation Products on Disease Resistance of Crucian Carp (*Carassius auratus*). **Aquaculture Research**, v. 2023, p. 1–9, 2023.
- SILVA, U. L.; CAMPOS, S. S.; CORREIA, E. DE S. Efeitos de fertilizantes orgânicos e inorgânicos na abundância de macro e meiobentos e na qualidade da água do cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931). **Atlântica**, v. 30, n. 1, p. 23–33, 2008.
- SOARES, M. et al. Replacement of fish meal by protein soybean concentrate in practical diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 10, p. 343–349, 2015.
- SPAGGIARI, M. et al. Rice bran by-product: From valorization strategies to nutritional perspectives. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 1–16, 2021.
- STEIN, H. H. et al. Nutritional value of high fiber co-products from the copra, palm kernel, and rice industries in diets fed to pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2015.
- SU, W. et al. Dynamics of defatted rice bran in physicochemical characteristics, microbiota and metabolic functions during two-stage co-fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, p. 12, 2022.
- SUÁREZ, J. A. et al. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture**, v. 289, n. 1–2, p. 118–123, 2009.
- SUKMA, A.; JOS, B.; SUMARDIONO, S. Kinetic of biomass growth and protein formation on rice bran fermentation using *Rhizopus oryzae*. **MATEC Web of Conferences**, v. 156, p. 1–6, 2018.
- SUN, H. et al. Partial substitution of fish meal with fermented cottonseed meal in juvenile black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* diets. **Aquaculture**, v. 446, p. 30–36, 2015.
- SURIANTI et al. Application of Fermented Rice Bran Using *Lactobacillus* sp. in Artificial Feed For Survival Rate and FCR of Tilapia *Oreochromis niloticus*. **Proceedings of the 3rd KOBICONGRESS, International and National Conferences (KOBICINC 2020)**, v. 14, p. 529–534, 2021.
- TACON, A. G. J.; METIAN, M.; HASAN, M. R. **Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: Sources and composition**. p.209, v. 540, 2009.
- TACON, A. G. J. Feed Ingredients for Carnivorous fish species: alternatives to fishmeal and other fishery resources. **Sustainable Fish Farming**, p. 89–114, 1995.

- TACON, A. G. J.; METIAN, M. Feed matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. **Reviews in Fisheries Science and Aquaculture**, v. 23, n. 1, p. 1–10, 2015.
- TESSER, M. B. et al. Substituição da farinha e do óleo de peixe por farinha e óleo de origem vegetal em rações utilizadas na fase de engorda do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei*, em sistemas de bioflocos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 2, p. 703–710, 2019.
- TEWARI, G. et al. Fish feed supplementation using non-conventional plant resources: Way to sustainable aquaculture. **The Pharma Innovation Journal**, v. 11, n. 5, p. 309–321, 2022.
- THILSTED, S. H. et al. Sustaining healthy diets: The role of capture fisheries and aquaculture for improving nutrition in the post-2015 era. **Food Policy**, v. 61, p. 126–131, 2016.
- THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 146–161, 2013.
- TILMAN, D.; CLARK, M. Global diets link environmental sustainability and human health. **Nature**, v. 515, n. 7528, p. 518–522, 2014.
- TU, Y. et al. Digestibility and structure changes of rice starch following co-fermentation of yeast and *Lactobacillus* strains. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, n. June, p. 530–537, 2021.
- VAN RIEL, A. J. et al. Feed-food competition in global aquaculture: Current trends and prospects. **Reviews in Aquaculture**, n. June 2022, p. 1–17, 2023.
- WEBBER, A. et al. Heat-Stabilized Defatted Rice Bran (HDRB) as an Alternative Growth Medium for *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Food and Nutrition**, n. November, 2014.
- WHITE, J.; HART, R.; FRY, J. An Evaluation of The Waters Plco-Tag System For the Amino-Acid-Analysis of Food Materials. **Journal of Automatic Chemistry**, p. 170–177, 1986.
- WU, G. Functional amino acids in nutrition and health. **Amino Acids**, v. 45, n. 3, p. 407–411, 2013a.
- WU, G. **Amino Acids: Biochemistry and Nutrition**, v. 96, p. 1-93, 2013.
- YU, P. Board-invited review: Sensitivity and responses of functional groups to feed processing methods on a molecular basis. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 2–5, 2012.
- YURU, Z. et al. Precision nutritional regulation and aquaculture. **Aquaculture Reports**, v. 18, 2020.
- ZHANG, D. et al. Effect of Replacing Fish Meal with Fermented Mushroom Bran Hydrolysate on the Growth, Digestive Enzyme Activity, and Antioxidant Capacity of

Allogynogenetic Crucian Carp *Carassius auratus gibelio*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 17, n. 1, p. 51–60, 2017.

ZHANG, J. et al. Viscozyme L hydrolysis and *Lactobacillus* fermentation increase the phenolic compound content and antioxidant properties of aqueous solutions of quinoa pretreated by steaming with  $\alpha$ -amylase. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 5, p. 1726–1736, 2021a.

ZHANG, M. et al. Study of fermented feed by mixed strains and their effects on the survival, growth, digestive enzyme activity and intestinal flora of *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 530, n. July 2020, p. 735703, 2021b.

ZHANG, Q. et al. Partial replacement of pelleted feed by moist fermented feed improved the feed conversion efficiency, liver and intestine health, and gut microbiota structure in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Reports**, v. 32, n. August, p. 101-690, 2023.

ZHAO, H. M.; GUO, X. N.; ZHU, K. X. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. **Food Chemistry**, v. 217, p. 28–36, 2017.

ZHENG, X. et al. The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 526, n. August 2019, p. 735-331, 2020.