



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HIÊLDO LUCCIANI WILFRIDO RAMOS PINHEIRO

**ANÁLISE DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SPIRULINA NA
FORMAÇÃO DE OVAS DE PIRARUCU (*Arapaima gigas*) POR
CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE
MASSAS (CG-EM)**

FORTALEZA

2025

HIÊLDO LUCCIANI WILFRIDO RAMOS PINHEIRO

ANÁLISE DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SPIRULINA NA FORMAÇÃO DE
OVAS DE PIRARUCU (*Arapaima gigas*) POR CROMATOGRAFIA GASOSA
ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS)

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química com Habilitação
Industrial.

Orientadora Didático-pedagógica: Prof^ª. Dra.
Otília Deusdênia Loiola Pessoa. Orientadora
Profissional: Dra. Lorena Mara Alexandre e
Silva

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P719a Pinheiro, Hiêlido Lucciani Wilfrido Ramos.

Análise do efeito da suplementação de Spirulina na formação de ovas de pirarucu (*Arapaima gigas*) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) / Hiêlido Lucciani Wilfrido Ramos Pinheiro. – 2025.

44 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa.

Coorientação: Profa. Dra. Lorena Mara Alexandre e Silva.

1. *Arapaima gigas*. 2. Pirarucu. 3. *Arthrospira platensis*. 4. Spirulina. I. Título.

CDD 540

HIÊLDO LUCCIANI WILFRIDO RAMOS PINHEIRO

ANÁLISE DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SPIRULINA NA FORMAÇÃO DE
OVAS DE PIRARUCU (*Arapaima gigas*) POR CROMATOGRAFIA GASOSA
ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química com Habilitação
Industrial.

Aprovada em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa (Orientadora Didático-Pedagógica)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Lorena Mara Alexandre e Silva (Orientadora Profissional)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agroindústria Tropical)

Dra. Kesya Amanda Dantas Rocha (Examinadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer à Deus, aos meus pais, Albino Lucciani e Glassylene Maria, e aos meus irmãos, Allan Lucciani e Aleph Luccani, pelo apoio ao longo de minha jornada na universidade e na vida. Foram longos e difíceis anos aos quais vivi alegrias e tristezas, mas com apoio dessas figuras essenciais na minha vida, pude chegar ao final de minha graduação.

Quero agradecer à minhas orientadoras Profa. Dra. Otília Deusdênia e Dra. Lorena Mara. À professora Otília agradeço pelo acompanhamento, carinho e apoio durante grande parte do meu percurso na universidade. Por meio da mesma, fui incentivado a permanecer no curso de Química e apresentado, pela primeira vez, à pesquisa acadêmica ao qual possuo grande interesse. À doutora Lorena, agradeço pela paciência, espera e compreensão em meio aos obstáculos encontrados ao longo do período de estágio. Agradeço, também, ela sua gentileza e simpatia.

Deixo meus agradecimentos aos colaboradores e pesquisadores do LMPQN, Nigéria, Ionete, Tigressa e Paulo, que me auxiliaram bastante na realização desse projeto, bem como, pela sua gentileza.

Quero deixar meus agradecimentos aos meus amigos do LAFIPLAM II, Joana, Lavosyer, Rozy, Caroline, Giovanni, Chaguinha, Patrícia, Horlando, Gilberto, profa. Gilvandete, Késya, Elcia, Letícia, Horlando, Kessi e Lucas. Trabalhei, ri, fui apoiado e me diverti muito com essas pessoas maravilhosas.

Por fim, quero agradecer aos professores e servidores, que também me incentivaram a evoluir ao longo de desse processo, aos professores, funcionários e amigos: Paulo Naftali, Gracinha, Nilce, Pedro, Antoninho, Alcineia, Rafael do Nascimento, Kleiton, Cristina, Denis, Tiago, Natália e Emanuelly.

RESUMO

A aquicultura tem se consolidado como uma alternativa para a produção de pescado, destacando-se a necessidade de aprimoramento de dietas para otimizar o crescimento e a reprodução dos peixes. Neste contexto, a spirulina (*Arthrospira platensis*) tem sido amplamente estudada como suplemento nutricional devido ao seu alto teor proteico e à presença de compostos bioativos que podem favorecer a saúde e o desempenho reprodutivo dos peixes. O pirarucu (*Arapaima gigas*), espécie de grande importância econômica na Amazônia, apresenta dificuldades reprodutivas em cativeiro, tornando fundamental a investigação de estratégias nutricionais para potencializar sua reprodução. Dessa forma, este estudo avaliou o efeito da suplementação com spirulina na formação de ovas de pirarucu por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foram analisadas amostras de ovócitos de fêmeas suplementadas e não suplementadas, com o objetivo de identificar possíveis alterações na composição metabólica das ovas. Com base nos resultados, foram detectados compostos como ácidos graxos essenciais (ácido linolênico, ácido araquidônico e ácido heptadecanoico), além de metabólitos como colesterol, mio-inositol e glicerol. Os resultados das análises quimiométricas sugerem que a suplementação com spirulina promoveu o aumento da variedade de ácidos graxos essenciais nas ovas, especialmente durante a fase de vitelogênese. Os resultados deste trabalho reforçam a importância da suplementação alimentar nesse tipo de cultivo e que a inclusão de spirulina pode contribuir para a melhoria dos índices reprodutivos do pirarucu.

Palavras-chaves: *Arapaima gigas*; pirarucu; *Arthrospira platensis*; spirulina.

ABSTRACT

Aquaculture has been consolidating as an alternative for fish production, highlighting the need to improve the dietary regimes to optimize fish growth and reproduction. In this context, spirulina (*Arthrospira platensis*) has been widely studied as a nutritional supplement due to its high protein content and bioactive compounds that may enhance the health and reproductive performance of fish. Pirarucu (*Arapaima gigas*), a species of high economic importance in the Amazon, has reproductive difficulties in captivity, making the investigation of nutritional strategies to boost its reproduction essential. This study evaluates the effect of spirulina in supplementation on the formation of arapaima eggs by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Oocyte samples from supplemented and non-supplemented females were analyzed to identify potential changes in the metabolic composition of the eggs. Compounds such as essential fatty acids (linolenic acid, arachidonic acid, and heptadecanoic acid), cholesterol, myo-inositol, and glycerol metabolites were detected. The results of the chemometric analyses suggest that supplementation with spirulina promoted an increase in the variety of essential fatty acids in the eggs, especially during the vitellogenesis phase. The results of this study reinforce the importance of food supplementation in this type of cultivation and the inclusion of spirulina can contribute to improving the reproductive rates of pirarucu.

Keywords: *Arapaima gigas*; pirarucu; *Arthrospira platensis*; spirulina.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estruturas de metabólitos secundários vegetais e suas fontes biosintéticas	16
Figura 2 - Spirulina (<i>Arthrospira platenses</i>) visto através do microscópio.....	19
Figura 3 - Renda média bruta por pescador (R\$), número de pescadores beneficiados, número de organizações de pescadores, comunidades, faturamento bruto (R\$), comprimento médio dos peixes capturados (Cm), peso médio dos peixes capturados (Kg), produção de pescado (Ton) e peixes contados por pessoa nos anos de 1999, 2005, 2011, 2017 e 2021 relacionados a produção manejada de pirarucu no estado de Rondônia	20
Figura 4 - Spirulina visto através de microscópio	21
Figura 5 - Representação simplificada do mecanismo reacional da silição	23
Figura 6 - Equipamento CG-EM com amostrador automático modelo 7890B da Agilent	24
Figura 7 - Estrutura simplificada de um CG-EM com analisador quadrupolo.....	25
Figura 8 - Fluxograma ilustrativo simplificado do procedimento de extração com n-Hexano e derivatização das amostras oriundas dos ovócitos macerados	29
Figura 9 - Fluxograma ilustrativo simplificado da injeção de amostras no CG-EM e obtenção dos cromatogramas	30
Figura 10 - Cromatogramas das amostras representativas: F3AM3-FEV, F3AM2-MAR, F6AM1-MAR e F4AM2-MAR em mesma escala	33
Figura 11 - Sistema de coordenadas LV1 × LV2 das amostras controle em diferentes estágios de maturação (vitelogênese e maturação final) com (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas	38
Figura 12 - Sistema de coordenadas LV1 × LV2 das amostras em vitelogênese do grupo controle e suplementadas com spirulina (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas	39
Figura 13 - Sistema de coordenadas LV1 × LV2 das amostras em maturação final do grupo controle e suplementadas com spirulina (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas	40
Figura 14 - Sistema de coordenadas LV1 × LV2 das amostras em diferentes estágios de maturação do grupo controle e suplementadas com spirulina (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade aproximada de proteínas na spirulina e em outros alimentos	22
Tabela 2 - Códigos das amostras analisadas, massa total dos ovócitos macerados, massa separada para extração, massa extraída e rendimento da extração, do mês de fevereiro	31
Tabela 3 - Códigos das amostras analisadas massa total dos ovócitos macerados, massa separada para extração, massa extraída e rendimento da extração, do mês de março	32
Tabela 4 - Compostos derivatizados caracterizados, suas respectivas moléculas de origem e Rt em minutos	34
Tabela 5 - Compostos derivatizados identificados e confirmados, seus respectivos compostos de origem, Rt em minutos, índice de Kovatz (IK) experimental, índice de Kovatz da literatura, <i>R.Match</i> , pico base do espectro de massas e área relativas dos compostos referentes aos cromatogramas representativos.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-EM – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

CL-EM - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

Cm - Comprimento médio

DBCA - Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos

IE - Impacto eletrônico

ICS - Sociedade Internacional de Quimiometria

IK - Índice de Kovats

IPD - Injector-Port Derivatization

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada

Kg - Quilograma

LCA - *Latent Class Analysis*

LMQPN - Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais

m - Metro

mL/min - Mililitro por minuto

mg - Miligramas

min - Minutos

μL - Microlitros

PCA - *Principal Component Analysis*

pH - Potencial hidrogeniônico

R. Match - Grau de similaridade por presença e intensidade dos fragmentos

RMN - Ressonância magnética nuclear

Rpm - Rotações por minuto

SISGen - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado

TMS - Tetrametilsilano

Ton - Tonelada

Tr - Tempo de retenção

Vit - Vitelogênese

X - Grupo abandonador

LISTA DE SÍMBOLOS

©	Marca registrada
%	Porcentagem
R\$	Real

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Produtos Naturais e suas aplicações.....	14
3.2 Metabolômica	15
3.3 A aquicultura e a reprodução de peixes nativos em cativeiro	17
3.4 Pirarucu	18
3.4.1 <i>Impacto econômico do consumo da carne de pirarucu</i>	<i>18</i>
3.4.2 <i>Criação do pirarucu em cativeiro</i>	<i>20</i>
3.4.3 <i>Ameaças que levam a Extinção do pirarucu</i>	<i>21</i>
3.5 Nutrição e suplementação alimentar na reprodução de peixes (spirulina)	21
3.6 Derivatização química	23
3.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).....	24
3.8 Quimiometria	26
4 METODOLOGIA.....	27
4.1 Obtenção e preparo dos ovócitos	27
4.2 Extração e derivatização <i>offline</i> das amostras	28
4.3 Procedimento de análise por CG-EM e análise de dados.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Rendimento dos extratos n-hexano	31
5.2 Caracterização dos compostos analisados e avaliação do efeito da suplementação com spirulina	32
6 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

A suplementação alimentar na aquicultura tem se mostrado uma estratégia fundamental para a melhoria do desempenho produtivo e reprodutivo dos peixes criados em cativeiro. Dentre os suplementos de destaque, a spirulina (*Arthrospira platensis*) tem atraído crescente interesse devido ao seu alto valor nutricional e propriedades funcionais que podem influenciar positivamente o crescimento e a reprodução de organismos aquáticos (ALI; SALEH, 2012; FERNANDES *et al.*, 2023).

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um dos peixes nativos de maior valor econômico na Amazônia, sendo amplamente cultivado para atender à demanda do mercado alimentício (FILHO *et al.*, 2023). Sua criação em cativeiro apresenta desafios relacionados à nutrição, reprodução e sustentabilidade de produção, tornando-se essencial o desenvolvimento de dietas com alto valor nutricional, tendo em vista a demanda comercial do peixe (IMBIRIBA, 2001; OLIVEIRA; UMMUS; SOUSA, 2024). Nesse contexto, a inclusão da spirulina na alimentação do pirarucu pode representar uma alternativa promissora para otimizar sua reprodução e qualidade das ovas, promovendo melhorias na fertilização e no desenvolvimento embrionário (WAHEED; EL-DIASTY; GABR, 2024).

A spirulina é reconhecida por seu elevado teor protéico, podendo ultrapassar 70% do peso seco, além de conter ácidos graxos essenciais, vitaminas e antioxidantes que desempenham um papel crucial na saúde dos peixes (CARLOS, 2020). Esses compostos bioativos presentes na spirulina podem contribuir para o fortalecimento do sistema imunológico e para a redução do estresse oxidativo, aspectos fundamentais para a manutenção da viabilidade reprodutiva do pirarucu (ALTMANN; ROSENAU, 2022). Estudos indicam que a suplementação com spirulina pode melhorar a conversão alimentar e a digestibilidade dos nutrientes, além de substituir parcialmente a farinha de peixe, promovendo a viabilidade da criação (RAMIREZ-CARMONA, 2022).

No âmbito analítico, a metabolômica tem sido uma ferramenta essencial para investigar as mudanças bioquímicas induzidas pela alimentação suplementada. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permite a identificação e quantificação de compostos metabólicos (CANUTO *et al.*, 2018; PILON *et al.*, 2020). Dessa forma, a aplicação dessa técnica pode contribuir para a otimização das práticas alimentares na aquicultura.

A relevância deste estudo reside na necessidade de aprimorar a reprodução do pirarucu em cativeiro por meio de uma nova estratégia nutricional. A investigação dos efeitos

da spirulina na formação de ovas pode fornecer informações importantes para o desenvolvimento de dietas mais eficazes, com impactos diretos na produtividade e na sustentabilidade da piscicultura (GONÇALVES; SANTOS, 2024). Assim, este trabalho busca avaliar as alterações metabólicas decorrentes da suplementação com spirulina.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da alimentação de pirarucu suplementada por spirulina através da análise das amostras de ovócitos por CG-EM, visando correlacionar com a reprodução.

2.2 Objetivos específicos

- Obter extratos hexânico a partir das amostras de ovócitos de pirarucu coletados e verificar seus rendimentos;
- Converter as moléculas extraídas por meio do procedimento de derivatização para a injeção no CG-EM;
- Identificar e caracterizar os compostos por meio dos cromatogramas obtidos, a partir do software Mass Hunter (© Agilent Technologies, Inc. 2012);
- Analisar dados multivariados por meio de análise discriminante por mínimos quadrados parciais ou *partial least squares discriminant analysis* (PLS-DA).
- Verificar a presença de ácidos graxos, hormônios e outros metabólitos essenciais extraídos das ovas de pirarucu;
- Avaliar a eficiência do procedimento experimental aplicado qualitativamente.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Produtos Naturais e suas aplicações

Os produtos naturais estão presentes em diversas áreas do conhecimento e abrange a indústria de fármacos, cosméticos e agropecuária. O conhecimento químico desses compostos evoluiu significativamente a partir do desenvolvimento de novas técnicas analíticas (BERLINCK *et al.*, 2017).

Na área da saúde, os produtos naturais são bastante estudados para o desenvolvimento de novos fármacos, particularmente no tratamento de doenças como o câncer. Muitos dos medicamentos aprovados nas últimas décadas são derivados de compostos naturais ou inspirados em suas estruturas químicas (NEWMAN; CRAGG, 2020). Os organismos marinhos, por exemplo, fornecem uma ampla diversidade de substâncias bioativas com propriedades anticancerígenas, atuando em diferentes tecidos celulares (EL-SEEDI *et al.*, 2025; HUANG; LU; DING, 2021). Além disso, existem pesquisas que buscam otimizar a síntese e modificação dessas moléculas para melhorar sua eficiência e disponibilidade (KAZMAIER, 2025).

Na agricultura, os produtos naturais têm sido explorados como alternativa para os pesticidas sintéticos. Estudos mostram que biopesticidas derivados de compostos naturais representam uma parcela significativa dos novos ingredientes ativos registrados, sendo uma opção para a substituição de pesticidas convencionais, que geralmente apresentam impactos ambientais negativos (CANTRELL; DAYAN; DUKE, 2025).

Na indústria de cosméticos, há uma crescente demanda por ingredientes naturais, ocasionando a diminuição do consumo de produtos sintéticos. Compostos derivados de plantas e organismos marinhos são amplamente empregados em hidratantes e protetores solares devido às suas propriedades antioxidantes e regenerativas (LIU, 2022).

Além disso, os produtos naturais estão presentes na aquicultura e alimentação animal. O quitosana, por exemplo, derivado do exoesqueleto de crustáceos, tem demonstrado benefícios na alimentação de peixes, promovendo seu crescimento, melhorando o sistema imunológico e reduzindo sua carga microbiana (ABDEL-GHANY; SALEM, 2018). A exemplo disso, pesquisas envolvendo subprodutos do processamento de sucos vegetais têm sido incorporados na alimentação de peixes, contribuindo para o aumento da resistência a doenças (LEE *et al.*, 2021).

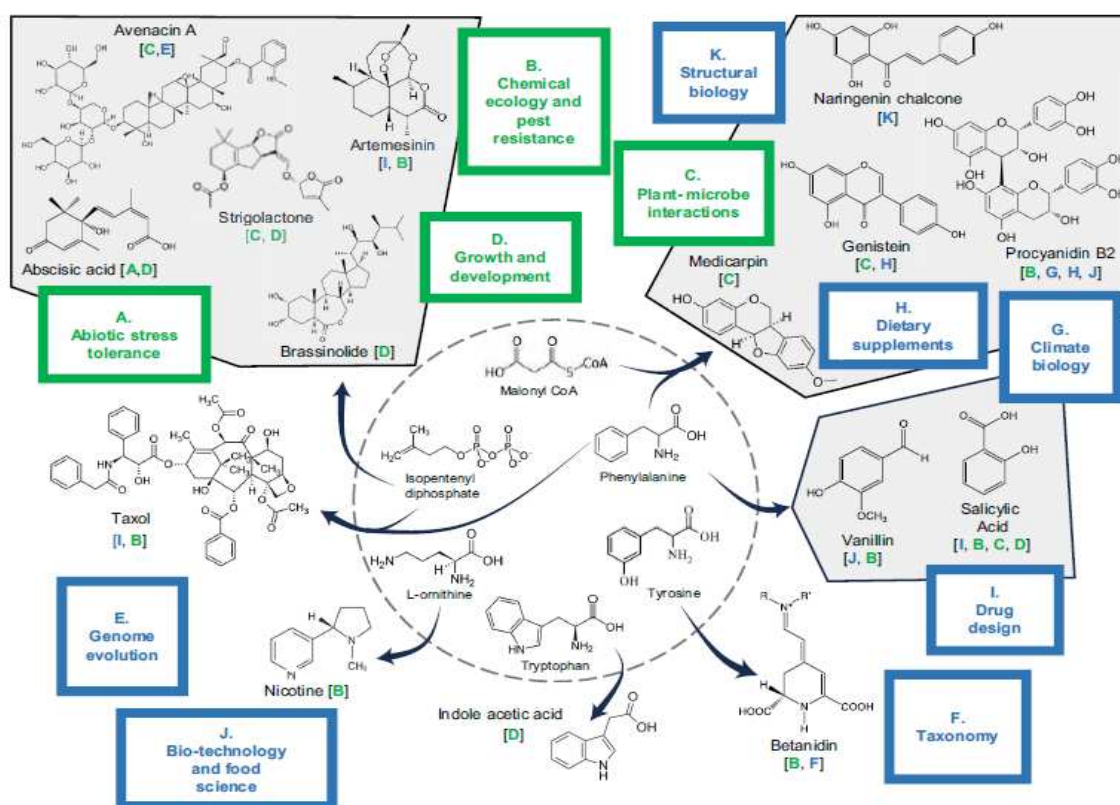
3.2 Metabolômica

O metabolismo é o conjunto de reações bioquímicas que ocorrem nos seres vivos, podendo ser dividido em metabolismo primário e metabolismo secundário. O metabolismo primário é constituído de processos essenciais para o crescimento e manutenção celular e é comum a todos os organismos. Entre essas vias metabólicas estão a glicólise, o ciclo de Krebs, a fotossíntese e a biossíntese de macromoléculas como proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos

nucleicos. Esses processos garantem a produção de energia e a formação dos componentes estruturais e funcionais das células (NELSON, 2014; KOBLITZ, 2017).

O metabolismo secundário, envolve a produção de compostos que não são associados diretamente à sobrevivência do ser vivo, mas são importantes para a adaptação ao ambiente. Os metabólitos secundários podem ser alcaloides, flavonoides, terpenoides e compostos fenólicos (Figura 1), que desempenham funções como defesa contra predadores e patógenos, atração de polinizadores e comunicação química entre organismos. Embora essas substâncias tenham sido historicamente classificadas como de menor importância, estudos recentes indicam que muitos desses compostos influenciam diretamente a fisiologia e o desenvolvimento dos organismos, além de terem aplicações na área da saúde e industrial (DIXON; DICKINSON, 2024).

Figura 1 - Estruturas de metabólitos secundários vegetais e suas fontes biosintéticas



Fonte: DIXON; DICKINSON, 2024

Nesse contexto, a metabolômica é uma área de estudo cujo objetivo é, principalmente, realizar análises qualitativa e quantitativa dos metabólitos presentes em sistemas biológicos. Essa área de estudo visa compreender as alterações no metabolismo de organismos frente a diferentes estímulos, como fatores ambientais, genéticos, nutricionais ou

terapêuticos (CANUTO *et al.*, 2018). O conjunto de todos os metabólitos em uma amostra biológica é denominado metaboloma, e seu estudo possibilita o entendimento do funcionamento de vias metabólicas, a identificação de biomarcadores e a caracterização de estados fisiológicos e patológicos (BELINATO *et al.*, 2019).

As abordagens em metabolômica podem ser classificadas em *targeted metabolomics* e *untargeted metabolomics*. A primeira concentra-se na análise de metabólitos específicos previamente selecionados, geralmente relacionados a uma via metabólica de interesse, enquanto a segunda busca detectar o maior número possível de metabólitos sem hipóteses pré-estabelecidas, permitindo a descoberta de novos compostos ou padrões metabólicos (BAUERMEISTER *et al.*, 2023). A metabolômica também pode ser subdividida em técnicas como *metabolic profiling*, que investiga metabólitos de vias bioquímicas específicas, e *metabolic fingerprinting*, utilizado para classificar amostras com base em assinaturas metabólicas características (CANUTO *et al.*, 2018).

A aplicação da metabolômica depende de tecnologias avançadas de separação e detecção, sendo as mais utilizadas a cromatografia líquida ou gasosa acoplada à espectrometria de massas (CL-EM e CG-EM) e a ressonância magnética nuclear (RMN). A espectrometria de massas de alta resolução, em particular, tem sido amplamente empregada devido à sua alta sensibilidade e capacidade de análise de misturas complexas (PILON *et al.*, 2020). O uso de múltiplas plataformas analíticas possibilita maior cobertura dos compostos presentes nas amostras, aumentando a confiabilidade dos estudos metabolômicos (BAUERMEISTER *et al.*, 2023).

A metabolômica tem aplicações em diversas áreas, como saúde, biotecnologia, agricultura e ecologia. Em estudos clínicos, permite a identificação de biomarcadores para diagnóstico e monitoramento de doenças. Na microbiologia, auxilia na identificação de microrganismos e suas interações metabólicas, contribuindo para a descoberta de novos compostos bioativos. Em relação à agricultura, a metabolômica é empregada na análise de metabólitos em plantas, possibilitando o desenvolvimento de espécimes mais resistentes e produtivos (BELINATO *et al.*, 2019; PILON *et al.*, 2020).

3.3 A aquicultura e a reprodução de peixes nativos em cativeiro

A aquicultura é uma importante forma de produção sustentável de proteína animal, especialmente diante da crescente demanda global por pescado. No Brasil, a criação de peixes nativos em cativeiro surge como uma alternativa promissora para reduzir a pressão sobre as

fontes naturais de peixes e para auxiliar o desenvolvimento econômico regional (OLIVEIRA, 2024).

Dentre as espécies que se destacam na piscicultura nacional, destacam-se: o pirarucu (*Arapaima gigas*), o tambaqui (*Colossoma macropomum*), a traíra (*Hoplias malabaricus*), o tucunaré (*Cichla monoculus spix*) e a piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum*) (MORO *et al.*, 2013). O pirarucu, um dos maiores peixes de água doce do mundo, chama atenção pelo rápido crescimento e pela alta eficiência na conversão alimentar, tornando-se uma opção economicamente viável. No entanto, sua reprodução em cativeiro ainda apresenta algumas exigências, como a maturação sexual e o manejo reprodutivo, exigindo técnicas especializadas para a desova e criação de condições ideais para a reprodução (IMBIRIBA, 2001). O tambaqui, amplamente cultivado na Amazônia, é conhecido pela sua capacidade de adaptação a diferentes sistemas de criação, sendo uma das espécies mais comercializadas no país (OLIVEIRA, 2024).

Além disso, a reprodução dos peixes nativos em cativeiro pode ocorrer de forma natural ou induzida. Algumas espécies, como o pirarucu, formam casais monogâmicos e constroem ninhos em ambientes controlados, exigindo cuidados específicos. Outras, como o tambaqui, precisam de indução hormonal para ovulação e desova, já que não se reproduzem espontaneamente em cativeiro (MECHALY *et al.*, 2023).

Para que a aquicultura de peixes nativos seja sustentável, é essencial adotar boas práticas de manejo. Isso inclui o controle da qualidade da água, uma alimentação adequada e medidas para evitar a fuga de peixes para o ambiente natural, o que pode impactar os ecossistemas locais. Além disso, o setor ainda enfrenta desafios como a necessidade de investimentos em pesquisa e infraestrutura, a dependência de insumos de alto custo e a capacitação de produtores para otimização de sua produção (PEREIRA, 2024).

3.4 Pirarucu

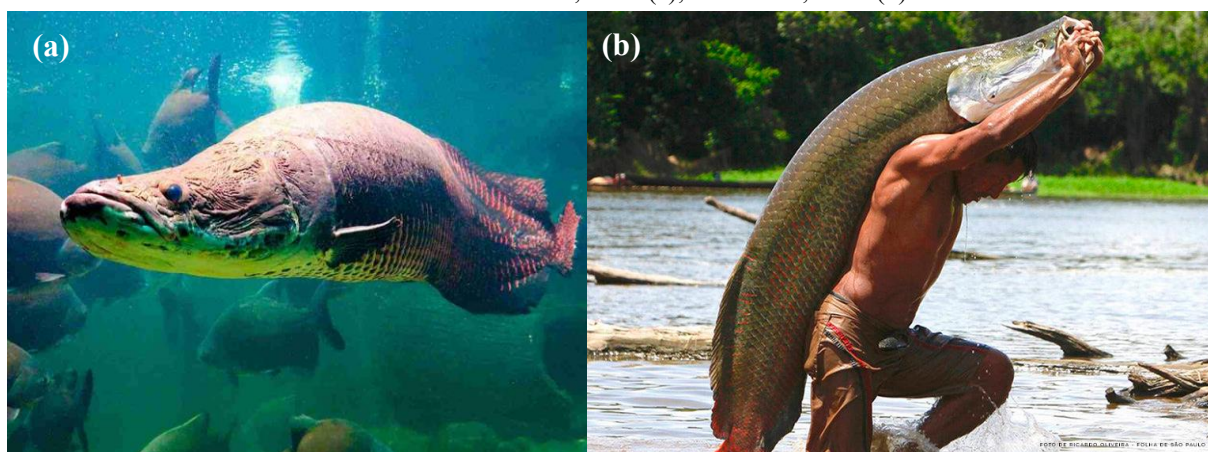
3.4.1 Impacto econômico do consumo da carne de pirarucu

O pirarucu (Figura 2) é uma das espécies de peixe de maior valor comercial na Amazônia e estados da região norte do Brasil, sendo amplamente consumido no país e em mercados internacionais. Atualmente, a exemplo do exposto, o estado de Rondônia ocupa a terceira posição entre os maiores produtores de peixe do Brasil e é principal produtor de espécies nativas de peixes, representando 47% de toda a produção nacional desse segmento

(HASHIMOTO *et al.*, 2024). A carne do pirarucu se destaca pela sua qualidade nutricional, possuindo altos teores de ácidos graxos essenciais, como ômega 3 e 6, que contribuem para a saúde cardiovascular e são valorizados pelo consumidor (FILHO *et al.*, 2023).

Figura 2 – Pirarucu em tanque (a) e sendo pescado a direita em ambiente aquático (b)

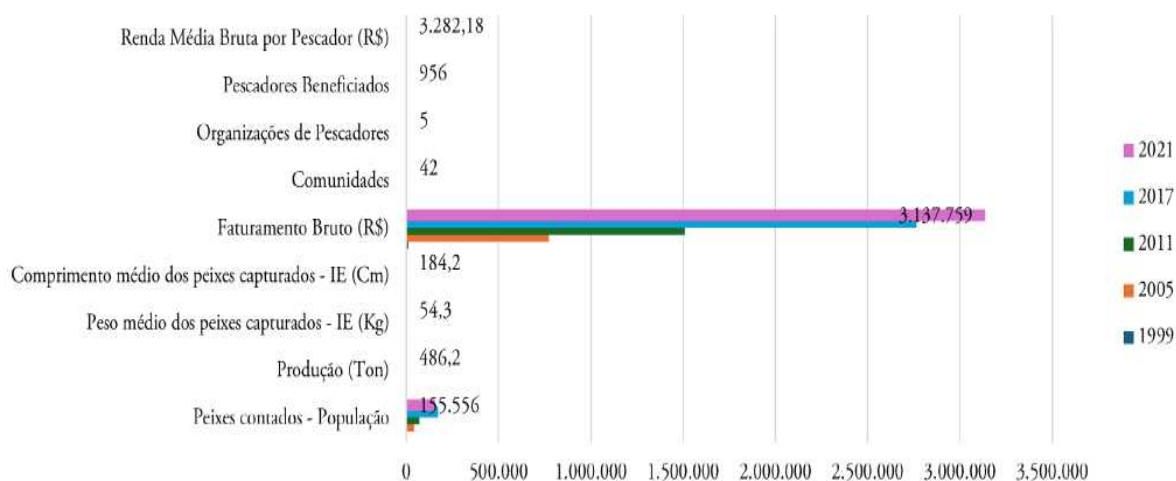
Fonte: AGRICONLINE, 2020 (a); GERASSI, 2020 (b)



A criação e comercialização do pirarucu também impactam diretamente na economia da região amazônica (Figura 3), pois envolve desde a captura até o beneficiamento e distribuição do pescado. Estudos apontam que o manejo participativo do pirarucu tem se mostrado uma estratégia eficaz para conciliar conservação ambiental e geração de renda para comunidades ribeirinhas (GONÇALVES; SANTOS, 2024).

Figura 3 – Renda média bruta por pescador (R\$), número de pescadores beneficiados, número de organizações de pescadores, comunidades, faturamento bruto (R\$), comprimento médio dos peixes capturados (Cm), peso médio dos peixes capturados (Kg), produção de pescado

(Ton) e peixes contados por pessoa nos anos de 1999, 2005, 2011, 2017 e 2021 relacionados a produção manejada de pirarucu no estado de Rondônia



Fonte: GONÇALVES; SANTOS, 2024

3.4.2 Criação do pirarucu em cativeiro

A criação do pirarucu em cativeiro apresenta etapas complexas que são compensadas pelo rápido crescimento do animal e alto rendimento de obtenção de sua carne. As principais dificuldades são: a necessidade de grandes volumes de água adequada para o cultivo, exigindo infraestrutura específica e constante monitoramento dos parâmetros ambientais (EMBRAPA, 2017; MORO *et al.*, 2013). Além disso, a reprodução da espécie em cativeiro é complexa, pois o pirarucu apresenta um comportamento reprodutivo específico, necessitando de condições controladas para o sucesso da desova e do desenvolvimento dos alevinos (IMBIRIBA, 2001; LIMA *et al.*, 2013).

Outro fator crítico é a alimentação, pois o pirarucu é um peixe carnívoro, o que eleva os custos da ração e exige uma formulação balanceada para garantir crescimento saudável e minimizar impactos ambientais (RAMOS; LÓPEZ, 2024). A sanidade também é um grande desafio, já que a espécie é suscetível a diversas enfermidades, como infecções bacterianas e parasitárias, que podem comprometer a produtividade e elevar os custos operacionais (VIANA; SANTOS, 2022).

Apesar dessas dificuldades, a piscicultura do pirarucu tem avançado com pesquisas voltadas para a melhoria da nutrição, reprodução e manejo sanitário. Tecnologias como a canulação para identificação do sexo e métodos de manejo sustentável têm sido desenvolvidas para viabilizar economicamente a criação em larga escala (TORATI, 2022).

3.4.3 Ameaças que levam a Extinção do pirarucu

Apesar da crescente criação em cativeiro, o pirarucu ainda enfrenta ameaças em seu habitat natural. A pesca predatória e a destruição de áreas alagadas onde ocorre sua reprodução impactam negativamente as populações selvagens (TORATI, 2022). Embora a espécie esteja protegida por legislações ambientais, a fiscalização insuficiente e a demanda pelo pescado contribuem para a exploração ilegal (IMBIRIBA, 2001).

Medidas de conservação, como o manejo sustentável e a criação em cativeiro, são estratégias fundamentais para reduzir a pressão sobre as populações naturais e garantir a preservação da espécie (GONÇALVES; SANTOS, 2024).

3.5 Nutrição e suplementação alimentar na reprodução de peixes (spirulina)

A spirulina (*Arthrospira platensis*) (Figura 4) tem se destacado como um suplemento natural altamente nutritivo, trazendo benefícios tanto para o crescimento quanto para a resistência imunológica dos peixes (ALI; SALEH, 2012). Trata-se de uma microalga rica em proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos benéficos, vitaminas e minerais. Seu teor proteico aproximado é 65% (Tabela 1), e sua alta concentração de ficocianina, um pigmento natural, tem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, atuando na redução do estresse oxidativo nos organismos aquáticos (FERNANDES *et al.*, 2023). Além disso, a spirulina melhora a conversão alimentar e o crescimento dos peixes, tornando-se uma suplementação alternativa de interesse para a aquicultura (WAHEED; EL-DIASTY; GABR, 2024).

Figura 4 - Spirulina visto através de microscópio



Fonte: CARLOS, 2020

Tabela 1 - Quantidade percentual aproximada de proteínas na spirulina e em outros alimentos

Tipo de comida	Proteína Bruta %
Spirulina em pó	65
Ovo seco inteiro	47
Levedura de cerveja	45
Leite em pó desnatado	37
Farinha de soja integral	36
Queijo Parmesão	36
Germe de trigo	27
Farinha de soja integral	26
Amendoim	24
Frango	22
Carne bovina	22

Fonte: ALI, 2012 (adaptado)

A inclusão da spirulina na alimentação dos reprodutores tem mostrado ótimos resultados na qualidade dos gametas e na taxa de fertilização animal. Seus ácidos graxos essenciais favorecem o desenvolvimento das células germinativas, melhorando o sucesso reprodutivo (WAHEED; EL-DIASTY; GABR, 2024). Além disso, sua composição nutricional equilibrada auxilia na manutenção da saúde dos reprodutores, reduzindo sua mortalidade (CARLOS, 2020).

Outro benefício relevante da spirulina é seu impacto na coloração e resistência das larvas. A ficocianina presente na alga protege as células contra danos oxidativos, garantindo um desenvolvimento mais saudável e aumentando a taxa de sobrevivência larval nos primeiros dias de vida (CARLOS, 2020). Além disso, a incorporação da spirulina na dieta dos alevinos fortalece o sistema imunológico, reduzindo a incidência de doenças infecciosas (ALTMANN, 2022).

A spirulina também tem sido utilizada como alternativa parcial à farinha de peixe, reduzindo a dependência de fontes tradicionais de proteína e contribuindo para a sustentabilidade da piscicultura (RAMÍREZ-CARMONA *et al.*, 2022). Sua inclusão na alimentação dos peixes melhora a digestão de nutrientes, permitindo um melhor aproveitamento energético e reduzindo o impacto ambiental dos sistemas produtivos (ALTMANN, 2022). Além disso, sua presença na dieta fortalece o sistema imunológico dos peixes, tornando-os mais resistentes a infecções bacterianas e parasitárias (WAHEED; EL-DIASTY; GABR, 2024). Estudos indicam que seu uso pode melhorar a qualidade da carne dos peixes, aumentando a

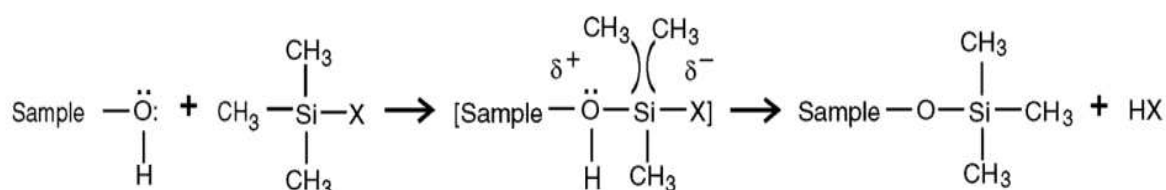
concentração de ácidos graxos poli-insaturados benéficos à saúde humana (FERNANDES *et al.*, 2023).

3.6 Derivatização química

A derivatização é uma técnica analítica utilizada para modificar quimicamente um composto, tornando-o mais adequado para análise instrumental. Essa modificação pode aumentar a volatilidade, a estabilidade térmica e a sensibilidade dos analitos, facilitando sua detecção em técnicas como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). O processo ocorre, geralmente, por meio da substituição de grupos funcionais específicos, como -OH, -SH e -NH₂, reduzindo a polaridade do composto e melhorando seu desempenho na separação cromatográfica (NASCIMENTO *et al.*, 2023).

Existem diferentes tipos de derivatização, sendo as mais comuns: a sililação, alquilação e acilação. A sililação consiste na substituição de hidrogênios ativos por grupos trimetilsilano (TMS) através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) como demonstrado na Figura 5. Essa reação é favorecida pelo tipo de grupo abandonador, X (MOHAD, 2012), aumentando a volatilidade e a estabilidade térmica dos compostos. A alquilação, por sua vez, reduz a polaridade das moléculas ao trocar hidrogênios ativos por grupos alquil, formando ésteres e éteres. A acilação envolve a conversão de grupos -OH, -SH e -NH em ésteres, tioésteres e amidas, melhorando a estabilidade dos compostos e facilitando sua detecção por detectores de captura de elétrons (ECD) (PILON *et al.*, 2020).

Figura 5 - Representação simplificada do mecanismo reacional da sililação



Fonte: MOHAD, 2012

A derivatização pode ser realizada de forma *offline* ou *online*. O método *offline*, no qual os analitos são derivatizados antes da injeção no sistema cromatográfico, é o mais utilizado. No entanto, essa abordagem adiciona uma etapa extra ao preparo da amostra e pode apresentar desvantagens, como a ocorrência de reações secundárias indesejadas, especialmente

em reações de sililação expostas à umidade, resultando em picos extras no cromatograma e menor sensibilidade da análise. Por outro lado, o método *online* pode contornar essas limitações por meio da derivatização no próprio injetor cromatográfico, a exemplo do IPD (*Injector-Port Derivatization*) (ATAPATTU; TEMERDASHEV, 2023).

Por fim, a técnica de derivatização é amplamente empregada na análise de metabólitos como açúcares e aminoácidos. Esses compostos precisam ser modificados estruturalmente para se tornarem voláteis e compatíveis com a análise por CG-EM. Os métodos como a esterificação e a sililação são frequentemente utilizados na preparação de amostras, ajudando a reduzir a formação de artefatos e aumentando a confiabilidade dos resultados analíticos. A escolha do agente derivatizante depende das características químicas do analito e das exigências da técnica analítica empregada (BELINATO *et al.*, 2019).

3.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) (Figura 6) é uma técnica analítica bastante utilizada para identificar e quantificar compostos químicos voláteis e semivoláteis. A cromatografia gasosa (CG) separa os componentes de uma mistura, a espectrometria de massas (EM) identifica esses compostos com alta precisão e sensibilidade (SKOOG, 2014).

Figura 6 - Equipamento CG-EM com amostrador automático modelo 7890B da Agilent

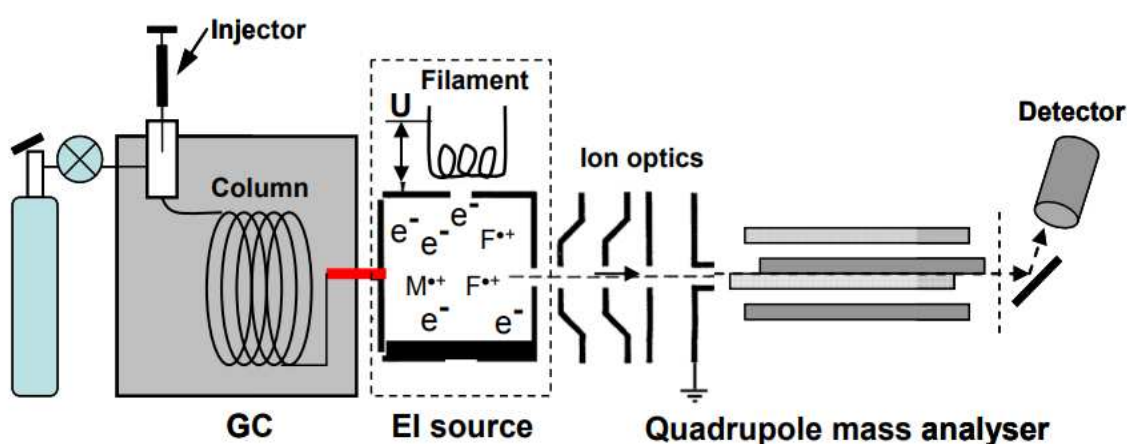


Fonte: autor

Nesta técnica, a separação dos compostos ocorre com base nas interações entre duas fases: a fase móvel, que é um gás inerte (como hélio ou nitrogênio), e a fase estacionária, que reveste a parte interna da coluna cromatográfica. Então, pela migração diferencial dos componentes da amostra, cada constituinte leva um tempo diferente para percorrer a coluna, atribuindo-lhe um tempo de retenção ou *retention time* (Rt). Essa migração depende de fatores como a polaridade do composto, massa molecular e a temperatura da coluna (NASCIMENTO *et al.*, 2018). A eficiência dessa separação está diretamente ligada à escolha adequada da fase estacionária, do gás de arraste e das condições operacionais (HARRIS, 2018).

Após a separação dos compostos, esses seguem para o espectrômetro de massas, onde passam por um processo de ionização, fragmentação e detecção. O método de ionização mais comum em CG-EM é o impacto eletrônico (EI). Nesse processo, um feixe de elétrons de alta energia, geralmente de 70 eV colide com as moléculas dos compostos, gerando íons que se fragmentam em padrões específicos e esses fragmentos geram os picos presentes no espectro de massas que podem ser melhor selecionados caso o espectrômetro possua analisador quadrupolo que filtra os fragmentos moleculares desejados a partir da imposição de um campo elétrico gerado por barras metálicas paralelas (Figura 7) (PAVIA, 2012). Além disso, por conta da especificidade do espectro obtido por essa técnica, o mesmo pode ser utilizado para a identificação de compostos a partir da comparação de espectros presentes em bancos de dados (SKOOG *et al.*, 2014; HARRIS, 2018).

Figura 7 - Estrutura simplificada de um CG-EM com analisador quadrupolo



Fonte: MOHAD, 2012

A combinação da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas é extremamente útil por oferecer alta sensibilidade e seletividade na análise de misturas

complexas. Por isso, essa técnica é aplicada em diversas áreas, como no controle de qualidade de alimentos, na detecção de contaminantes ambientais, em investigações forenses e em estudos metabolômicos (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

O método CG-EM pode apresentar algumas dificuldades em relação ao preparo de amostras, quando se trata de compostos que não são naturalmente voláteis ou que se degradam facilmente com o calor, pode ser necessário realização de outras técnicas de tratamento de amostras, como a derivatização química (HARRIS, 2018).

3.8 Quimiometria

A quimiometria é um campo da química analítica que aplica métodos estatísticos e matemáticos para interpretar dados químicos complexos. De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), a quimiometria é a ciência que relaciona medidas obtidas em um sistema ou processo químico por meio da aplicação de ferramentas matemáticas e estatísticas. O termo foi proposto pelo professor Svante Wold, da Universidade de Umea, Suécia, em 1971, e consolidou-se como área científica com a criação da Sociedade Internacional de Quimiometria (ICS) em 1974, por Wold e Bruce Kowalski, da Universidade de Wisconsin, EUA. No Brasil, a quimiometria teve seu marco inicial em 1980, com a visita de Kowalski à UNICAMP para ministrar um curso intensivo sobre a área, impulsionando pesquisas em diversas universidades do país (VERAS *et al.*, 2022).

Entre os principais métodos utilizados na quimiometria, destacam-se a técnica PCA (*Principal Component Analysis*) e LCA (*Latent Class Analysis*), que permitem a identificação de padrões e agrupamentos em dados químicos. A PCA é empregada na redução da dimensionalidade dos dados, facilitando a visualização e a interpretação dos resultados. O LCA organiza os dados em grupos com base em sua similaridade estatística, sendo útil para classificar amostras em diferentes categorias (SOUZA; POPPI, 2021; TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

A aplicação quimiométrica é vasta, abrangendo desde a análise ambiental até a caracterização química de alimentos e produtos naturais. Em estudos ambientais, essa abordagem tem sido usada para monitorar a qualidade da água, identificando compostos químicos que influenciam parâmetros como pH, condutividade elétrica e concentração de metais pesados. Na indústria alimentícia, a quimiometria auxilia na diferenciação de produtos com base em seu perfil químico, como na análise do aroma e sabor do café, onde técnicas como a PCA permitem distinguir espécies e variedades com base em compostos voláteis identificados

por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (LYRIO *et al.*, 2024; LAGES *et al.*, 2021).

Além da análise exploratória, a quimiometria é essencial na calibração multivariada e no planejamento de experimentos, garantindo maior precisão e eficiência nos processos analíticos. Os avanços dessa área têm sido obtidos pelo uso de novos softwares estatísticos, permitindo que modelos matemáticos sejam aplicados na predição de propriedades químicas e na otimização de processos industriais (SOUZA; POPPI, 2012).

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção e preparo dos ovócitos

Seguindo o procedimento descrito em Andrade (2023, p.17) em relação ao manejo dos espécimes animais e de acordo com a "Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos" (DBCA), este projeto foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGen), e o experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Pesca e Aquicultura (certificado nº 69).

Essa etapa de manejo e tratamento animal foi realizado nos campos experimentais da Embrapa Pesca e Aquicultura, localizada em Palmas-TO (coordenadas: S 10°7'59,7702" - W 48°19'1,1568"). Neste estudo, foram utilizadas oito fêmeas de pirarucu que foram previamente identificadas com marcadores de identificação intramuscular ou *transponders automated global* ou, simplesmente, TAGs (AnimallTAG®, São Carlos, Brasil), permitindo a identificação dos animais durante as coletas. As fêmeas foram alocadas individualmente em seus respectivos viveiros escavados, com extensão aproximada de 200 m² e profundidade variando de 0,8 a 1,6 m, e totalizando oito viveiros. A suplementação com spirulina foi iniciada no mês de fevereiro e mantida até o mês de março de 2023 e os ovócitos foram coletados nesse período em diferentes estágios de maturação. A primeira coleta foi realizada no mês de fevereiro e a segunda coleta ocorreu no mês de março.

Após o procedimento de coleta, as amostras foram devidamente armazenadas e encaminhadas ao Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN), localizado na Embrapa Agroindustrial Tropical em Fortaleza-CE (coordenadas: S 3°45'9.911" S e W 38°34'32.329"). Em seguida, os ovócitos foram moídos separadamente com auxílio de um gral e pistilo. As amostras trituradas foram armazenadas em tubos plásticos de coleta

devidamente etiquetados de 1 mL de capacidade. Por fim, foram mantidas em um ultra freezer a temperatura constante de -70 °C antes da realização dos demais procedimentos experimentais.

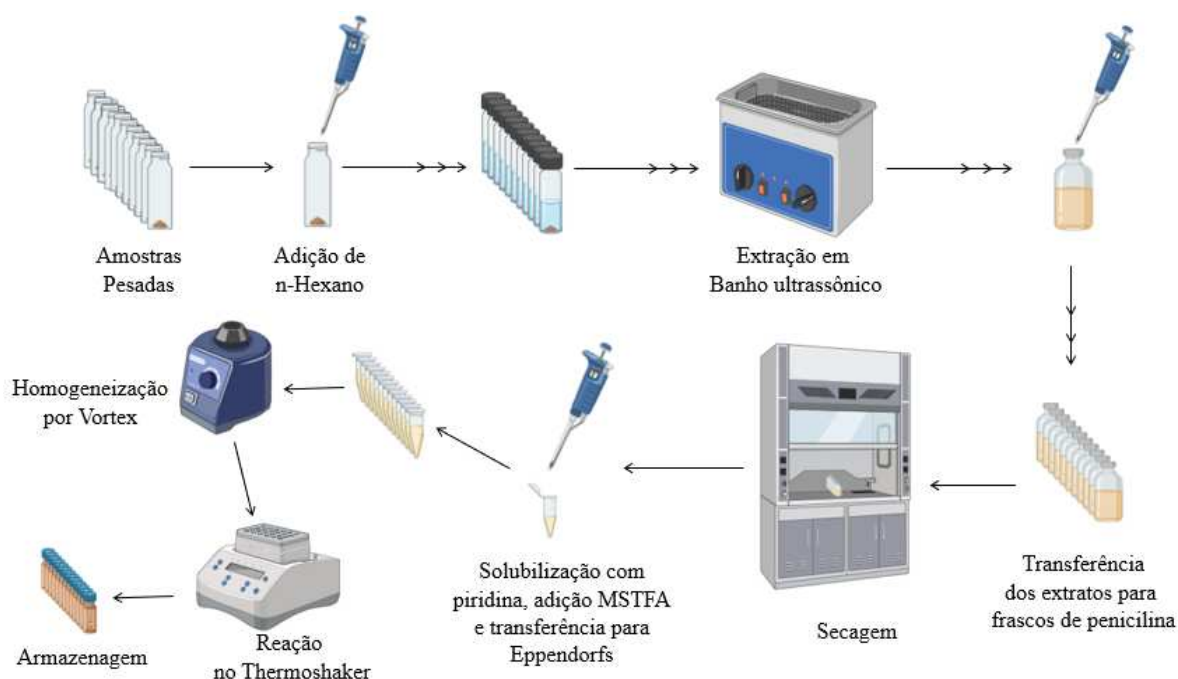
4.2 Extração e derivatização *offline* das amostras

Baseando-se no procedimento experimental descrito por SILVA *et al.*, (2016, p. 187), foram pesadas aproximadamente 50,0 mg de cada amostra. As aferições das massas foram realizadas em vials de 10 mL.

Em seguida, as amostras foram submetidas a uma extração exaustiva a frio com 2 mL de n-Hexano CG-EM, grau analítico, e inserindo-as em banho ultrassônico por 4 min a temperatura ambiente. Após essa etapa, as amostras foram deixadas em repouso no interior de uma capela de exaustão por aproximadamente 1 min, para a decantação do resíduo sólido e, em seguida, transferiu-se os sobrenadantes obtidos para frascos de penicilina tarados de 10 mL. Esse procedimento foi repetido 3 vezes consecutivas, reunindo-se os extratos correspondentes as mesmas amostras. Por fim, extratos reunidos obtidos foram mantidos na capela de exaustão para secagem, pela evaporação espontânea do solvente volátil, e foram aferidas as massas dos materiais das extrações após a secagem, em um período aproximado de 48h.

Após a obtenção dos extratos secos, esses foram submetidos à um processo de derivatização. Inicialmente, adicionaram-se 300 µL de piridina para a solubilização das amostras, seguido da agitação manual das soluções por aproximadamente 30s, os quais foram transferidas para Erppendorfs de 1,5 mL e levados para o agitador vortex por 1 min cada. Em seguida, adicionaram-se 150 µL de derivatizante, N-Metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA), às soluções resultantes e, novamente, as amostras foram homogeneizadas em agitador vórtex por 1 min. Por fim, os extratos foram colocados no banho seco com agitação (*Thermo Shaker*) a 37 °C, 500 rpm por 30 min e transferidas para vials de 1,5 mL com *inserts*. As amostras derivatizadas foram armazenadas em um freezer vertical a temperatura aproximada de -18 °C, finalizando o processo reacional e de armazenagem (Figura 8).

Figura 8 - Fluxograma ilustrativo simplificado do procedimento de extração com n-Hexano e derivatização das amostras oriundas dos ovócitos macerados



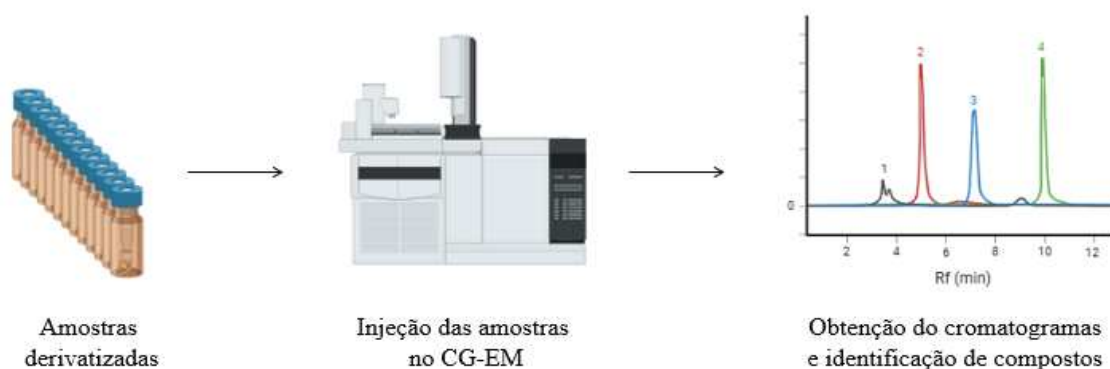
Fonte: autor

4.3 Procedimento de análise por CG-EM e análise de dados

As amostras derivatizadas resultantes e um padrão contendo uma série de alcanos C_7 - C_{40} , foram injetadas no equipamento de CG-EM para a obtenção dos cromatogramas (Figura 9). O modelo de cromatógrafo gasoso da Agilent utilizou uma coluna cromatográfica HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), contendo o metilpolisiloxano como constituinte da fase estacionária. A ionização dos compostos analisados ocorreu através de impacto de elétrons a 70 eV no interior do espectrômetro de massas quadrupolo de modelo da Agilent, modelo MSD-5977A.

Em relação aos parâmetros cromatográficos do experimento, injeção foi realizada de forma direta com volume injetado de 1,0 μ L para cada amostra. O gás de arraste utilizado foi o hélio com fluxo de 1,00 mL/min e a velocidade linear constante de 37,606 cm/s, além disso o injetor foi mantido a temperatura de 260 °C, o detector (EM) a 200 °C e linha de transferência a 320 °C. A rampa de temperatura foi constituída pela permanência no valor inicial de 120 °C por 3 min, realizando-se a elevação da temperatura em 3 °C para cada minuto até atingir o valor final de 320 °C e, em seguida, essa condição se manteve por 10 min, resultando em aproximadamente 79,7 min de corrida por amostra.

Figura 9- Fluxograma ilustrativo simplificado da injeção de amostras no CG-EM e obtenção dos cromatogramas



Fonte: autor

A partir dos cromatogramas das amostras obtidos, identificou-se os compostos derivatizados presentes por meio dos *softwares* *Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis* B.06.00 (© Agilent Technologies, Inc. 2012) e *NIST MS Search 2.0* (© U.S. Secretary of Commerce on behalf of the United States of America, gov. 2012). Utilizando-se o *Mass Hunter*, os picos com 1,000% da área relativa aos picos majoritários de suas respectivas amostras, ou superior, foram integrados e, além disso, integrou-se manualmente os picos com áreas menores as estabelecidas nesse critério apenas quando apresentavam resolução considerável. Todos os picos selecionados estavam compreendidos entre os tempos de retenção 3 e 60 min. Após esse procedimento, os espectros de massa dos compostos derivatizados, correspondentes aos picos de interesse, foram correlacionados automaticamente por meio do programa NIST, utilizando os espectros presentes no banco de dados do próprio *software*, considerando um grau de similaridade por presença e intensidade dos fragmentos (*R.Match*) igual ou superior a 80% como segundo critério caracterização deste método. Além disso, para a identificação, comparou-se os índices de Kovats (IK), calculados a partir dos dados obtidos do cromatograma da série de alcanos, pertencentes a cada um dos compostos de interesse com seus respectivos valores literários na biblioteca virtual NIST (National Institute of Standards and Technology, 1996).

Por fim, a análise quimiométrica foi realizada nos programas *PLStoolBox* (Eigenvector Research, Inc. 2021), onde realizou-se uma análise de dados multivariados, e *Origin 8.6* (OriginLab, Inc. 2012), para a interpolação dos dados tratados no *software* anterior e elaboração dos gráficos de análise de classificação multivariada (PLS).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos extratos n-hexano

As informações referentes a extração estão organizadas na Tabela 2 e 3, abaixo. Nessa tabela, encontram-se os códigos atribuídos às amostras analisadas, massa total dos ovócitos macerados, massa separada para extração, massa dos extratos e seus rendimentos de extração. Em relação ao significado da codificação, F se refere a fêmea selecionada, AM a o número da amostra coleta da sua respectiva fêmea e a siglas FEV e MAR indicam os meses de coleta, respectivamente fevereiro e março. As fêmeas F2 e F7 não produziram ovas durante o experimento. A partir da observação dos dados de extração, pode-se concluir que as massas dos ovócitos coletados possuem uma variação elevada, variando de 14 a 380 mg aproximadamente, o que pode ser resultado das diferentes condições fisiológicas dos animais, ambiente onde foram alocados, período de coleta do material e, avaliando as amostras em relação aos meses de coleta, possivelmente ao efeito da suplementação com spirulina. Além disso, em relação aos rendimentos obtidos nas extrações, observa-se que os mesmos variam aproximadamente de 18 a 54%, sugerindo alterações na composição das amostras. Uma vez que extração foi realizada com n-hexano, que é um solvente orgânico de caráter apolar, deduz-se que a maior quantidade de material extraído pode indicar a maior variedade e quantidade de compostos apolares na composição dos ovócitos, como ácidos graxos e outros compostos de cadeia carbônica longa por exemplo.

Tabela 2 - Códigos das amostras analisadas, massa total dos ovócitos macerados, massa separada para extração, massa extraída e rendimento da extração, do mês de fevereiro

Códigos da amostra	Massa total (mg)	Massa separada para extração (mg)	Massa extraída (mg)	Rendimento da extração (%)
F1AM1-FEV	66,2	50,9	21,7	42,6
F3AM1-FEV	12,9	11,9	4,9	41,2
F3AM2-FEV	291,4	50,0	14,5	29,0
F3AM3-FEV	115,5	50,5	11,5	22,8
F4AM1-FEV	76,3	50,2	20,4	40,6
F4AM2-FEV	344,6	50,4	11,5	22,8
F4AM3-FEV	327,7	50,0	13,4	26,8
F5AM1-FEV	66,4	49,6	16,5	33,3
F6AM1-FEV	283,7	50,9	11,5	22,6
F6AM2-FEV	153,4	50,1	11,9	23,8

F6AM3-FEV	246,4	51,2	11,4	22,3
F6AM4-FEV	22,2	17,8	7,8	43,8
F8AM1-FEV	261,3	50,7	9,5	18,7
F8AM2-FEV	53,0	49,1	12,3	25,1

Fonte: autor

Tabela 3 - Códigos das amostras analisadas massa total dos ovócitos macerados, massa separada para extração, massa extraída e rendimento da extração, do mês de março

Códigos da amostra	Massa total (mg)	Massa separada para extração (mg)	Massa extraída (mg)	Rendimento da extração (%)
F1AM1-MAR	281,7	51,9	11,2	21,6
F1AM2-MAR	13,3	11,7	2,2	18,8
F1AM3-MAR	109,7	51,8	16,7	32,2
F3AM1-MAR	339,3	51,2	11,2	21,9
F3AM2-MAR	18,4	17,1	5,5	32,2
F3AM3-MAR	74,2	51	14,2	27,8
F4AM1-MAR	370,4	50,5	14,6	28,9
F4AM2-MAR	21,2	20,1	9,1	45,3
F4AM3-MAR	49,7	47,5	11,7	24,6
F5AM1-MAR	71,4	50,5	27	53,5
F6AM1-MAR	335,9	49,6	12,8	25,8
F6AM2-MAR	7,3	6,9	1,7	24,6
F8AM1-MAR	14,0	13,5	4,1	30,4
F8AM2-MAR	377,4	51,9	13,6	26,2
F8AM3-MAR	232,8	51,5	12,8	24,9

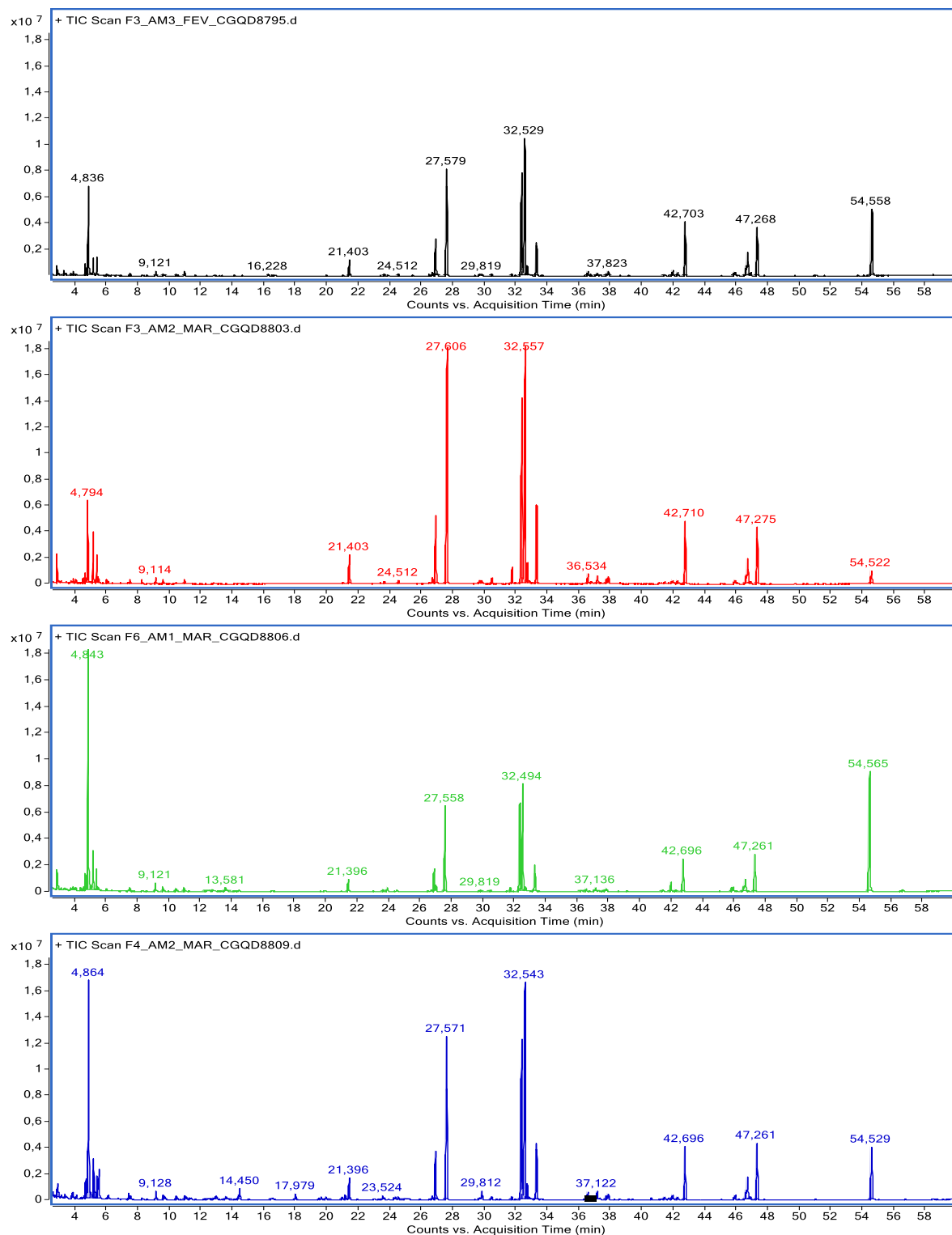
Fonte: autor

5.2 Caracterização dos compostos analisados e avaliação do efeito da suplementação com spirulina

As amostras foram organizadas de acordo com o grau da similaridade de seus cromatogramas, impondo condições relacionadas ao período de coleta, estágio de desenvolvimento dos ovócitos, distinção entre fêmeas do grupo controle e suplementadas. Baseando-se nesses critérios, foram estabelecidos 4 grupos de análise quimiométrica por PLS-DA: controle com diferentes estágios de maturação do mês de fevereiro, vitelogênese com efeito da suplementação com spirulina em ambos os meses, maturação final com spirulina em ambos os meses e diferentes estágios de maturação no mês de março, após suplementação. Em seguida, foram selecionados cromatogramas representativos de cada análise: F3AM3-FEV,

F3AM2-MAR, F6AM1-MAR e F4AM2-MAR respectivamente, exibidos comparativamente em mesma escala na Figura 10 abaixo com Rt selecionado entre 3 a 60 min.

Figura 10 – Cromatogramas das amostras representativas: F3AM3-FEV, F3AM2-MAR, F6AM1-MAR e F4AM2-MAR em mesma escala



Fonte: autor

Em relação aos picos analisados nos cromatogramas, foram identificados 49 compostos (Tabela 4), pela comparação entre de espectros de massas obtidos experimentalmente e os contidos no programa NIST com *R. match* igual ou superior a 80,0%. Avaliando os compostos caracterizados, pode-se observar ácidos graxos, açúcares, aminoácidos e compostos nitrogenados. A maioria dos possíveis compostos encontrados são esperados no metabolismo primário animal (NELSON, 2014; KOBLITZ, 2017).

Tabela 4 - Compostos derivatizados caracterizados, suas respectivas moléculas de origem e Rt em minutos

N.	Composto derivatizado	Composto	Rt (min)
1	Éster trimetilsilil-N-(trimetilsilil)-L-valina	L-Valina	3,835
2	O-Trimetilsilil-3-quinuclidinol	Quinuclidinol	3,884
3	Éster trimetilsilil N-(trimetilsilil)- N-formil-glicina	Glicina	4,528
4	Éter tris(trimetilsilil) glicerol	Glicerol	4,822
5	Bis(trimetilsilil)-ácido glicoxílico	Ácido glicoxílico	5,144
6	2-Metil-1,4-bis(trimetilsiloxi)butano	2-Metil-1,4-butanodiol	5,186
7	Bis(trimetilsilil) éster ácido butanodiólico	Ácido butanodiólico	5,487
8	5-etil-1,3-dimetil-5-[2-[(trimetilsilil)oxido]etil]-2,4,6(1H,3H,5H)-Pirimidinetriona,	Pirimidinetriona	6,012
9	, 1,1,1-trimetil-N-(trimetilsilil)-N-[2-[(trimetilsilil)oxido]etil]- Silanamina	Silanamina	7,49
10	Feniletilamina triTMS	Feniletilamina	7,497
11	N,N,N',N'-tetrakis(trimetilsilil) Cadaverina	Cadaverina	7,504
12	Bis(trimetilsilil)-ácido oxime glicoxílico	Ácido glicoxílico	8,232
13	2,6-carbonato cíclico-7-trimetilsililoxido-biciclo[2.2.2]octano	Biciclo[2.2.2]octano	9,591
14	(, (R*,R*)-) ácido 2,3,4-tridroxibutílico tetrakis(trimetilsilil) derivado	Ácido 2,3,4-tridroxibutílico	12,923
15	N,N,N',N'-tetrakis(trimetilsilil)-1,4-Butanodiamina	1,4-Butanodiamina	17,979

16	bis(trimetilsilil) éster-ácido azelaico	Ácido azelaico	19,967
17	N,N,N',N'-tetrakis(trimetilsilil) Cadaverina	Cadaverina	21,144
18	Éster trimetilsilil ácido tetradecanoico	Ácido tetradecanoico	21,389
19	N-[2-[3,4- Bis[(trimetilsilil)oxido]fenil]etil]- 1,1,1-trimetil-N-(trimetilsilil)- Silanamina	Silanamina	23,531
20	1,2,3-tris[(trimetilsilil)oxido]- Benzeno	Benzeno	23,622
21	2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimetilsilil)- D-Glucose	D-Glucose	23,888
22	1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimetilsilil)- β-d-galactopiranoose	Galactopiranoose	24,344
23	Éster trimetilsilil ácido n- pentadecanoico	Ácido n- pentadecanoico	24,512
24	Éter hexakis(trimetilsilil)-D-sorbitol	D-Sorbitol	25,429
25	1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimetilsilil)- Mio-Inositol	Mio-Inositol	29,826
26	Éster trimetilsilil ácido heptadecanoico	Ácido heptadecanoico	30,449
27	Éster trimetilsilil ácido linolênico	Ácido linolênico	31,724
28	(Z,Z)-Éster trimetilsilil Ácido 9,12- octadecadienoico	Ácido 9,12- octadecadienoico	32,403
29	Éster trimetilsilil ácido trans-9- octadecenóico	Ácido trans-9- octadecenóico	32,620
30	Éster trimetilsilil ácido 11-trans- octadecenóico	Ácido 11-trans- octadecenóico	32,725
31	Éster trimetilsilil ácido octadecanoico	Ácido octadecanoico	33,313
32	Éster trimetilsilil ácido araquidônico	Ácido araquidônico	36,548
33	Éster trimetilsilil ácido cis-5,8,11- eicosatrienoico	Ácido cis-5,8,11- eicosatrienoico	36,723
34	Boronato cíclico de metilo metil 2,3-bis-O-(trimetilsilil)-β-D- galactopiranosídeo	β-D- Galactopiranosídeo	37,143
35	Éster trimetilsilil ácido cis-11,14- eicosadienoico	Ácido cis-11,14- eicosadienoico	37,725
36	2,3-Bis(trimetilsiloxi)propil éster ácido mirístico	Ácido mirístico	37,844
37	Bis(trimetilsilil) 1,2,4,5,6-pentakis- O-(trimetilsilil)-fosfato D-Mio- Inositol	D-Mio-Inositol	39,132

38	(Z,Z) 2-[(trimetilsilil)oxido]-1- [[[(trimetilsilil)oxido]metil]etil éster ácido 9,12,15-octadecatrienoico	Ácido 9,12,15- octadecatrienoico	41,436
39	Éter trimetilsilil 2- Monopalmitoilglicerol	2- Monopalmitoilglicerol	41,933
40	Éster 2-[(trimetilsilil)oxido]-1- [[[(trimetilsilil)oxido]metil]etil ácido 9-octadecenóico	Ácido 9-octadecenóico	42,234
41	Éster 2,3- Bis[(trimetilsilil)oxido]propil éster ácido hexadecanoico	Ácido hexadecanoico	42,675
42	Éster 2-[(trimetilsilil)oxido]-1- [[[(trimetilsilil)oxido]metil]etil ácido 9-octadecenóico	Ácido 9-octadecenóico	45,805
43	Éter trimetilsilil 2-Monostearina	2-Monostearina	45,896
44	Éter trimetilsilil 1- Monooleoilglicerol	1-Monooleoilglicerol	46,687
45	Éster 2,3- Bis[(trimetilsilil)oxido]propil ácido octadecanoico	Ácido octadecanoico	47,247
46	Éter nonakis(trimetilsilil) maltitol,	Maltitol	49,866
47	Éter trimetilsilil colesterol	Colesterol	54,593
48	(24 α -metilcolest-5-en-3 β -ol) campesterol	Campesterol	56,665
49	Éter trimetilsilil β -Sitosterol	β -Sitosterol	58,416

Fonte: autor

Dentre os compostos avaliados na tabela 4, 8 foram confirmados por meio da comparação dos dados experimentais e da literatura (Tabela 5).

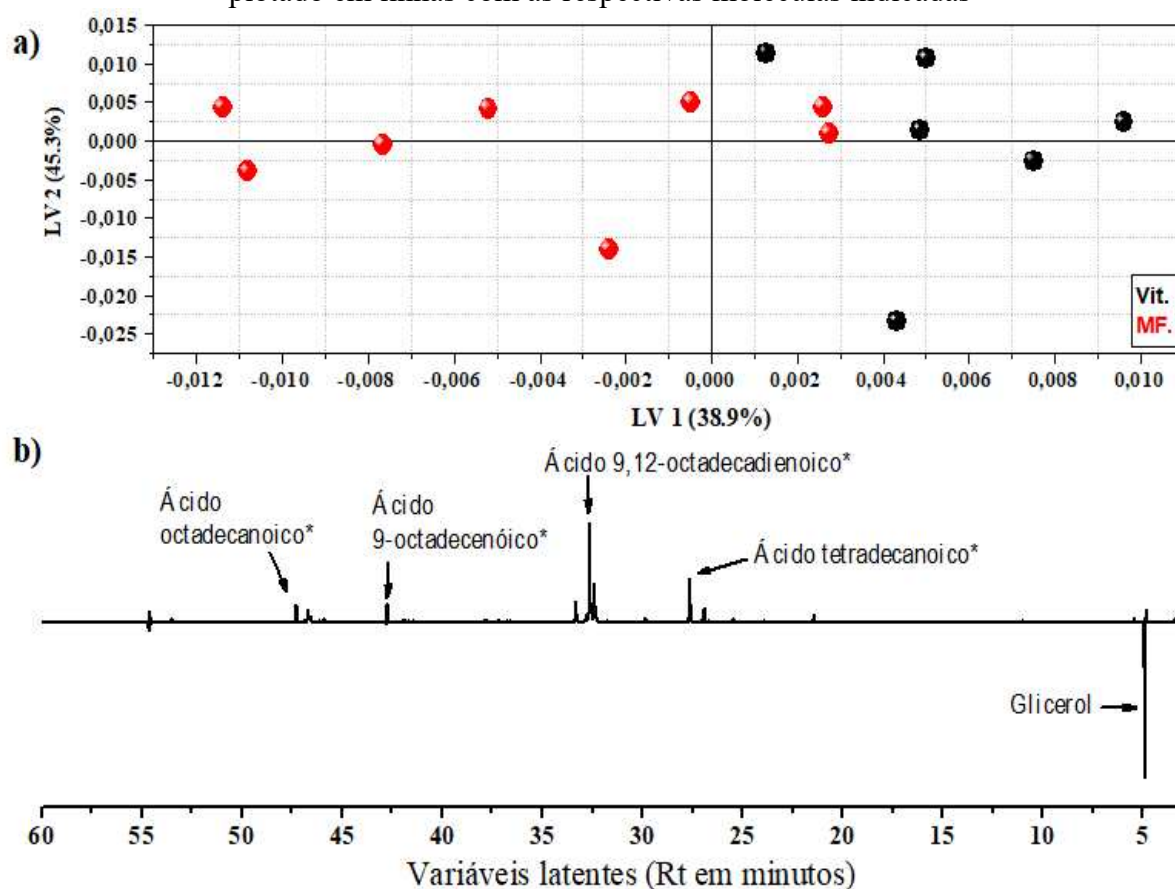
Partindo-se dos dados obtidos, as comparações dos grupos de análise em PLS-DA foram realizadas aos pares nas Figuras 13, 14 e 15 e todos os grupos na Figura 16. Nesses gráficos, pode-se observar a diferenciação das amostras nos gráficos de loads e scores (a) e nos cromatogramas (b), avaliando arbitrariamente apenas o eixo LV1 em cada figura. Os compostos não confirmados estão marcados com asterisco (*).

Tabela 5 - Compostos derivatizados identificados e confirmados, seus respectivos compostos de origem, Rt em minutos, índice de Kovatz (IK) experimental, índice de Kovatz da literatura, *R.Match*, pico base do espectro de massas e área relativas dos compostos referentes aos cromatogramas representativos

Composto	Composto derivatizado	RT (min)	IK Exp.	IK Lit.	<i>R. Match</i> (%)	Major. <i>m/z</i>	Vit. Controle (FEV) (%)	Vit. Spirulina (FEV+MAR) (%)	MF. Controle (FEV+MAR) (%)	MF. Spirulina (MAR) (%)
L-Valina	Éster trimetilsilil- N-(trimetilsilil)-L-Valina	3,84	1224	1221	88,2	144	0,27	1,06	0,33	1,23
Glicerol	Éter tris(trimetilsilil) Glicerol	4,89	1289	1282	93,5	73	6,54	7,63	26,33	23,06
Ácido butanodióico	Bis(trimetilsilil) éster Ácido butanodióico,	5,49	1320	1316	96,0	147	1,24	2,93	1,14	2,04
Ácido azelaico	Bis(trimetilsilil) éster ácido azelaico	19,97	1808	1800	80,1	73	0,30	0,14	0	0,14
D-glicose	2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimetilsilil)-D-Glicose	23,89	1932	1926	98,1	204	0,41	0,41	0,35	0,35
Mio-Inositol	1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimetilsilil)-Mio-Inositol	29,83	2128	2136	93,4	73	0,96	0,82	0,24	0,14
Ácido heptadecanoico	Óster trimetilsilil ácido heptadecanoico	30,45	2149	2148	92,8	73	0,22	0,32	0,20	0,32
Campesterol	(24 α -metilcolest-5-en-3 β -ol) campesterol	56,67	3245	3249.5	66,9	129	0	0	0,13	0,2

Fonte: autor

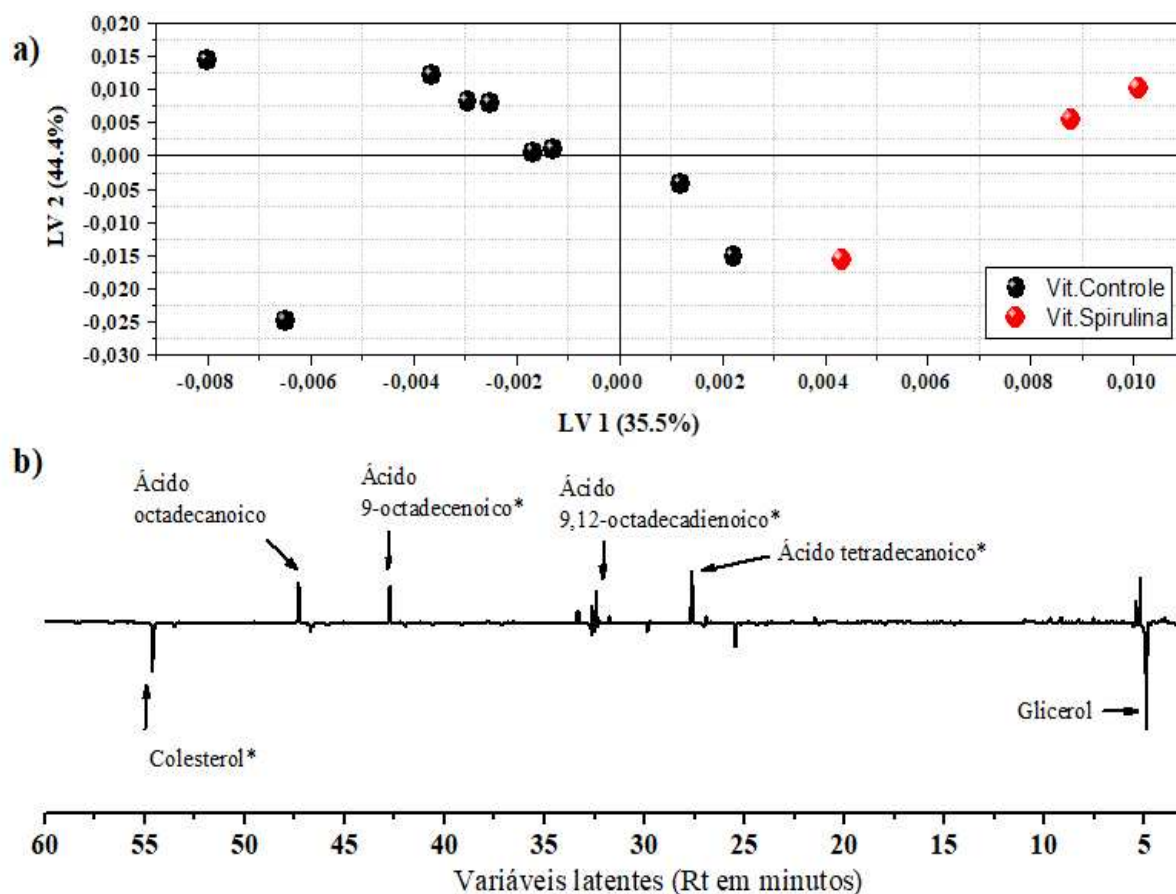
Figura 11- Sistema de coordenadas LV1 \times LV2 das amostras controle em diferentes estágios de maturação (vitelogênese e maturação final) com (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas



Fonte: autor

Na Figura 11, observa-se que a variabilidade química das amostras do grupo controle ocorre de maneira mais acentuada no eixo LV1, eixo escolhido para esta avaliação. Nesse eixo, as ovas foram avaliadas em diferentes estágios de maturação (Vit e MF) as amostras em vitelogêneses (Vit., preto), que estão alocadas em escores positivos, possuem maior concentração de ácidos graxos, enquanto as amostras em maturação final, estão alocadas majoritariamente em escores negativos deste mesmo eixo e possuem teores baixos dos compostos listados. Além disso, os dados indicam que a maturação final (MF., vermelho) induz a produção de mais acentuada de glicerol.

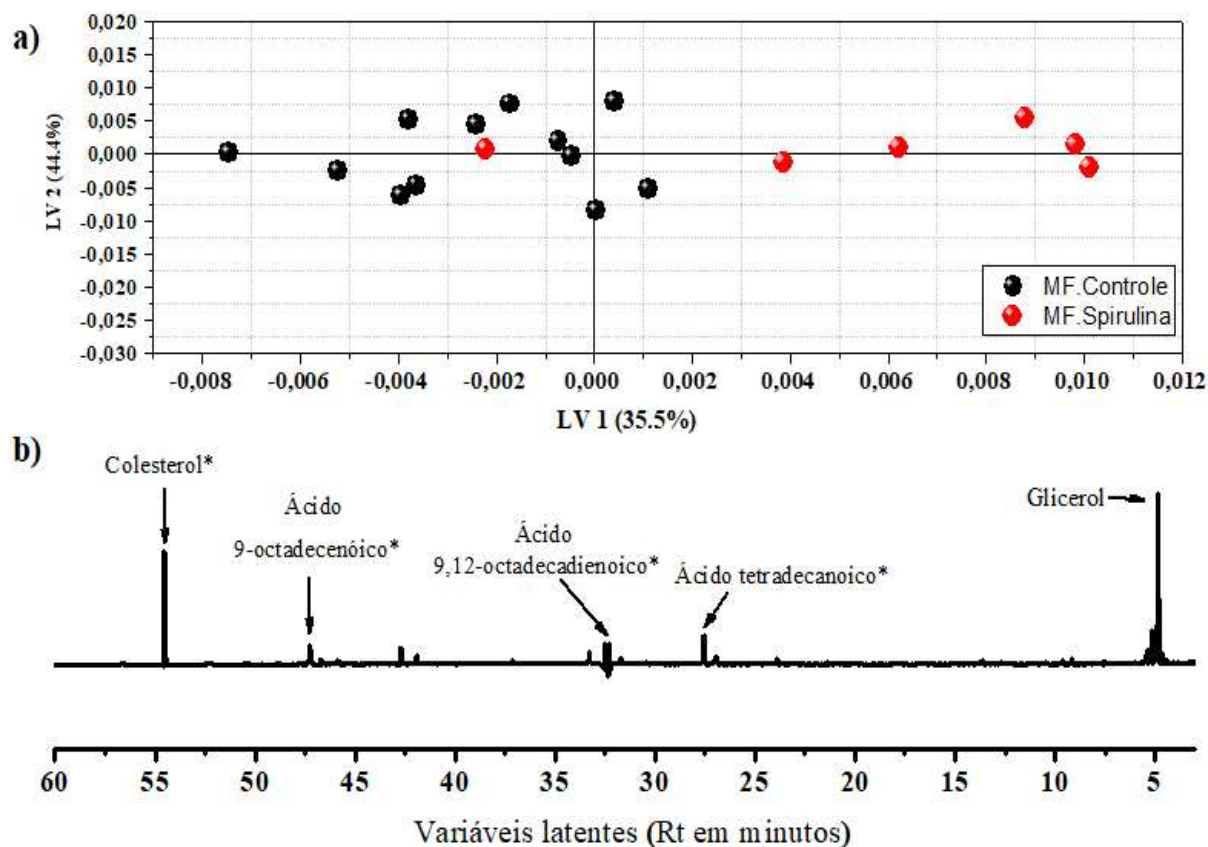
Figura 12- Sistema de coordenadas LV1 \times LV2 das amostras em vitelogênese do grupo controle e suplementadas com spirulina (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas



Fonte: autor

Em relação ao Figura 12, observa-se novamente no eixo, a variabilidade química das amostras em vitelogêneses do grupo suplementado com spirulina (Vit. spirulina, em vermelho) estão alocadas em escores positivos e também possuem maior concentração de ácidos graxos, enquanto as amostras em vitelogênese do grupo controle (Vit. controle, em preto), estão alocadas em escores negativos, exibindo teores mais baixos desses compostos. Os dados indicam que o grupo controle em vitelogênese apresentou maior concentração de colesterol e glicerol.

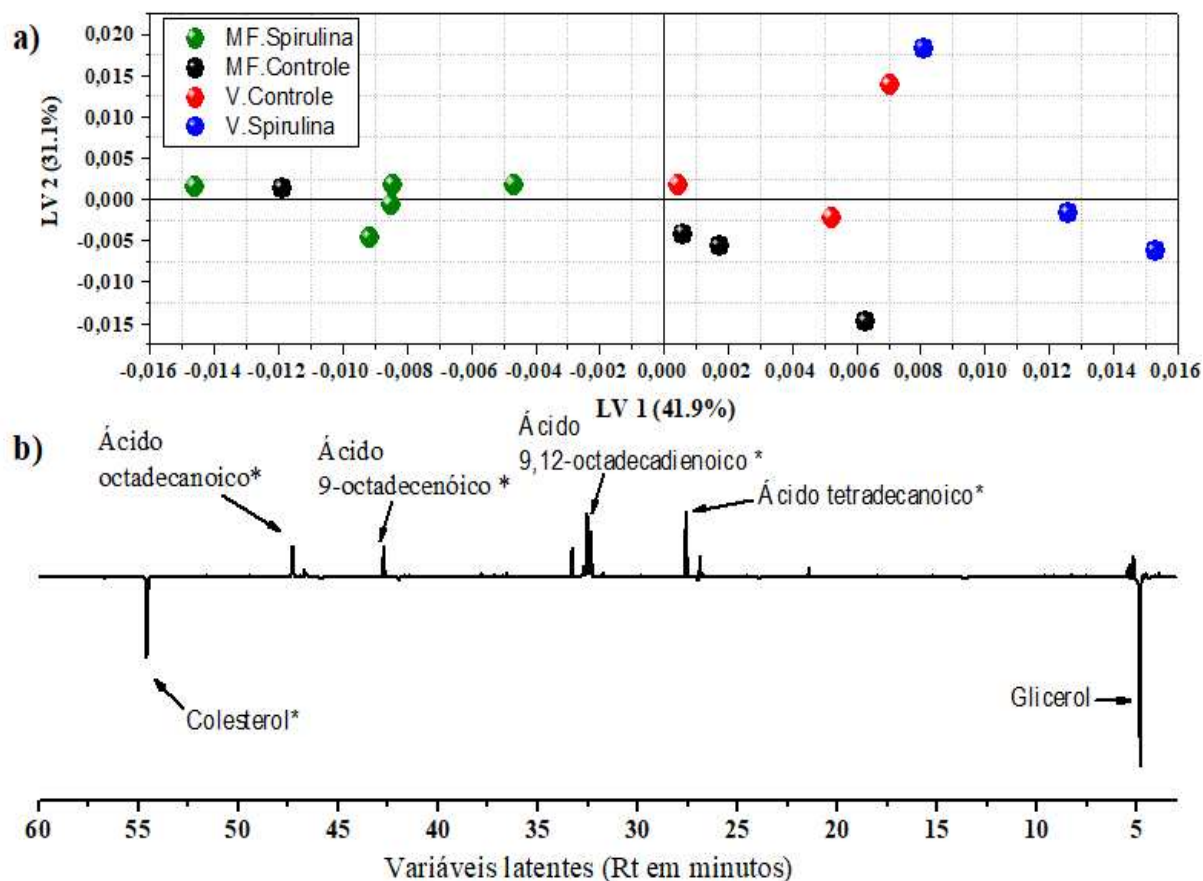
Figura 13- Sistema de coordenadas LV1 × LV2 das amostras em maturação final do grupo controle e suplementadas com spirulina (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas



Fonte: autor

Na Figura 13, compara-se a variabilidade química das amostras em maturação final. O grupo em maturação final e suplementado com spirulina (MF. spirulina, em vermelho) estão alocadas majoritariamente em escores positivos e também possuem maior concentração de ácidos graxos, colesterol e glicerol em relação ao grupo de maturação final controle (MF. controle, em preto). Esse, por sua vez, se concentra em escores negativos e não exibe valores destacáveis dos compostos mencionados, sugerindo diferença de concentração entre o grupo controle e o submetido a suplementação.

Figura 14- Sistema de coordenadas LV1 × LV2 das amostras em diferentes estágios de maturação do grupo controle e suplementadas com spirulina (a); gráficos de variáveis de LV1 (b) plotado em linhas com as respectivas moléculas indicadas



Fonte: autor

Comparam-se os compostos das amostras em todos os grupos no Figura 14. É possível observar que os grupos em vitelogênese se aloca em escores positivos e, portanto, possuem alta concentração relativa de ácidos graxos em relação aos grupos em maturação final, que se concentram nas regiões de escores negativos, apresentando maiores teores de colesterol e glicerol.

Portanto, é possível inferir que há maior concentração relativa de ácidos graxos, compostos normalmente associados a formação da membrana plasmática e revestimento das organelas celulares (NELSON, 2014; KOBLITZ, 2017), são componente majoritários das amostras analisadas no período de maturação de vitelogênese e suplementados com spirulina e, além disso, o grupo suplementado possuem quantidades maiores dessa classe de compostos em relação ao grupo controle. Avaliando separadamente a análise quimiométrica, é possível reafirmar que, realmente, há uma diferenciação significativa entre a composição das amostras frente a suplementação e ao estágio de desenvolvimento dos ovócitos. Em contrapartida, as amostras em MF spirulina aparentam apresentar maior teores de colesterol e glicerol, compostos normalmente associados a produção energética das células (NELSON, 2014;

KOBLITZ, 2017). Isso pode sugerir que spirulina é um suplemento eficiente e contribui essencialmente para a desenvolvimentos celular estrutural dos ovócitos.

6 CONCLUSÃO

Baseando nos resultados obtidos, se pode concluir que os objetivos deste projeto foram atingidos. A partir da técnica de derivatização química empregada, sililação, e análises das amostras por CG-EM, foi possível observar a composição dos extratos hexânico obtidos dos ovócitos. O perfil cromatográfico das amostras se mostrou bastante promissor, uma vez que os picos de interesse estavam, em geral, bem resolvidos e possuíam altas intensidades, suficientes para a leitura do instrumento e suas caracterizações. Além disso, a partir da caracterização dos compostos, se pôde observar que a maioria das moléculas encontradas eram ácido graxos.

As análises quimiométricas revelaram a diferença da variabilidade química entre amostras analisadas, tornando possível a avaliação entre os grupos de interesse e verificação do efeito da suplementação das fêmeas com spirulina nos ovócitos em diferentes estágios de maturação.

Em síntese, os resultados mostraram que referida suplementação eleva a quantidade de ácido graxos nos ovócitos. Esses compostos são vitais na formação da membrana e organelas celulares e, portanto, se pode inferir que a spirulina auxilia na formação dos ovócitos de pirarucu, melhorando sua reprodução e se tornando um importante aditivo a ração do animal em cativeiro

REFERÊNCIAS

ABDEL-GHANY, H. M.; SALEM, M. E. Effects of dietary chitosan supplementation on farmed fish; a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 1, p. 438–452, fev. 2020.

AGRICONLINE. **Pirarucu: o que é e como produzir**. Fotografia. Disponível em: <https://agrimonline.com.br/portal/artigo/pirarucu-o-que-e-e-como-produzir/>

ALI, S. K.; SALEH, A. M. Spirulina-an overview. **International journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences**, v. 4, n. 3, p. 9-15, mar. 2012.

ALTMANN, B. A.; ROSENAU, S. Spirulina as Animal Feed: Opportunities and Challenges. **Foods**, v. 11, n. 7, p. 965, jan. 2022.

ANDRADE, G. S. **Inclusão de Spirulina sp. (Arthrospira) na alimentação de Arapaima gigas (Schinz, 1822): Efeitos na maturação gonadal**. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Tocantins, 2024. Disponível em: https://repositorio.uft.edu.br/handle/11612/7206?locale=pt_BR

ATAPATTU, S. N.; TEMERDASHEV, A. Recent advances in gas chromatography injection port derivatization in analytical method development. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 168, p. 117334, nov. 2023.

BAUERMEISTER, A. *et al.* Análise de Dados de Metabolômica em Produtos Naturais: uma Revisão-Tutorial. **Revista Virtual de Química**, v. 16, n. 2, abr. 2024.

BELINATO, J. *et al.* Metabolômica Microbiana: Inovações e Aplicações. **Química Nova**, v. 42, n. 5, p. 546-559, fev. 2019.

BERLINCK, R. G. S. *et al.* A Química de Produtos Naturais do Brasil no Século XXI. **Química Nova**, 3 jul. 2017.

CANTRELL, C. L.; DAYAN F. E.; DUKE S. O. Natural Products As Sources for New Pesticides. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 6, p. 1231–1242, jun. 2012.

CANUTO, G. *et al.* Metabolômica: Definições, Estado-Da-Arte e Aplicações Representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.

CARLOS, T. A. V. **Extração Pressurizada de Ficobiliproteínas da Microalga *Arthrospira Platensis* e Avaliação da Sua Atividades Antioxidante e Citotoxicidade In Vitro em Linhagens Cancerígenas**. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará (UFC), Ceará, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/51538>

DIXON, R. A.; DICKINSON, A. J. A century of studying plant secondary metabolism—From “what?” to “where, how, and why?” **Plant Physiology**, v. 195, n. 1, p. 48–66, 30 abr. 2024.

EL-SEEDI, H. R. *et al.* Marine natural products as a source of novel anticancer drugs: an updated review (2019–2023). **Natural Products and Bioprospecting**, v. 15, n. 1, p. 13, 24 jan. 2025.

EMBRAPA, **Piscicultura de Pirarucu**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2017.

FERNANDES, R. *et al.* Exploring the Benefits of Phycocyanin: From Spirulina Cultivation to Its Widespread Applications. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 4, p. 592, abr. 2023.

FILHO, J. V. D. *et al.* Fatty acid profile, omegas and lipid quality in commercial cuts of pirarucu (*Arapaima gigas* Schinz, 1822) cultivated in excavated tanks. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 45, p. e61186, ago. 2023.

GERASSI, D. **Tudo sobre o peixe pirarucu nas vitrines de moda e no cardápio de grandes chefs**. Fotografia. Disponível em: <https://www.denisegerassi.com.br/blogs/news/tudo-sobre-o-peixe-pirarucu-nas-vitrines-de-moda-e-no-cardapio-de-grandes-chefs>.

GONÇALVES, A. C. T.; SANTOS, L. C. R. Bioeconomia na Amazônia Central: Manejo Participativo de Pirarucu (*Arapaima Gigas*). **Revista de Administração Contemporânea**, v. 28, p. e240195, 17 fev. 2025.

HARRIS, D. C. **Análise Quantitativa de Harris**. 9. ed. Porto Alegre: AMGH, 2018.

HASHIMOTO, A. J. *et al.* Biochemical and hematological characterization of pirarucu (*Arapaima gigas* Schinz, 1822) juveniles fed with different nutritional feeding systems. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 46, p. e66797, ago. 2024.

HUANG, M.; LU, J.; DING, J. Natural Products in Cancer Therapy: Past, Present and Future. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 11, n. 1, p. 5–13, fev. 2021.

IMBIRIBA, E. P. Potencial de Criação de Pirarucu. **Acta Amazônica**. v. 31, n. 2, p. 299-316, 2001.

KAZMAIER, U. Syntheses of Marine Natural Products via Matteson Homologations and Related Processes. **Marine Drugs**, v. 23, n. 1, p. 20, jan. 2025.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos - Teoria e Aplicações Práticas**. 1. ed. Guanabara Koogan, 2008.

LAGES, A. S. *et al.* Quimiometria aplicada à avaliação química do igarapé que cruza o polo industrial de Manaus/AM. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**. v. 12, n.10, p.328-338, out. 2021.

LEE, D. Y. *et al.* Effects of diet supplementation with plant juice processing by-products on juvenile black rockfish (*Sebastes schlegelii*) growth performance, feed utilization, non-specific immunity, and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture Reports**, v. 21, p. 100831, 1 nov. 2021.

LIMA, F. A. *et al.* **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos.** Portal Embrapa, 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/publicacao/1082280/piscicultura-de-agua-doce-multiplicando-conhecimentos>

LIU, J.-K. Natural products in cosmetics. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 12, n. 1, p. 40, 28 nov. 2022.

LYRIO, M. *et al.* Perfil Volátil do *Coffea arabica* e *Coffea canephora* var. *conilon* por SHS-GC-MS e Quimiometria. **Química Nova**, v. 47, n. 5, p. 1-10, nov. 2024.

MECHALY, A. S. *et al.* Spawning induction for Latin American Fishes. **Reviews in Aquaculture**, v. 16, n. 1, p. 337–356, jun. 2024.

MOHD, M. A. **Advanced Gas Chromatography - Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications.** 1. ed. InTech Design Team, 2012.

MORO, G. V. *et al.* **Espécies de peixe para piscicultura.** Portal Embrapa, 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/publicacao/1082280/piscicultura-de-agua-doce-multiplicando-conhecimentos>

NASCIMENTO, R. F. *et al.* **Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos.** São Paulo: Editora Blucher, 2010.

NELSON, D. L. **Princípios de Bioquímica de Lehninger.** 6. ed. Rio Grande do Sul: Artmed, 2014.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 27 mar. 2020.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST). **NIST Chemistry WebBook.** Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry/>.

OLIVEIRA, T. J. A. UMMUS, M. E.; SOUSA, D. N. Bioeconomia na Amazônia: A Criação de Tambaqui como Alternativa Sustentável. **Revista de Administração e Negócios da Amazônia**, v. 16, n. 1, p. 66–88, 9 ago. 2024.

PAVIA, D. L. **Introdução à espectroscopia.** 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

PEREIRA, R. G. A. Produção e Comercialização de Peixes Nativos em Rondônia. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 12, p. e6810–e6810, 3 dez. 2024.

PILON, A. *et al.* Metabolômica de Planta: Métodos e Desafios. **Química Nova**, v. 43, n. 3, p. 329-354, mar. 2020.

RAMÍREZ-CARMONA, M. *et al.* Fish Food Production Using Agro-Industrial Waste Enhanced with *Spirulina* sp. **Sustainability**, v. 14, n. 10, p. 6059, jan. 2022.

RAMOS, A. R.; MOYANO LÓPEZ, F. J. Digestive Physiology, Nutrition and Feeding of *Arapaima gigas*: A Review. **Fishes**, v. 9, n. 12, p. 507, dez. 2024.

SILVA, J. G. A. *et al.* Chemical Profile and Cytotoxic Activity of Leaf Extracts from *Senna* spp. from Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 1872–1880, out. 2016.

SKOOG, D. A. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

SOUZA, A. M. D.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223–229, jul. 2012.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, abr. 2006.

TORATI, L. S. *et al.* **Canulação como técnica de baixo custo para identificação do sexo e condição reprodutiva em fêmeas de pirarucu *Arapaima gigas***. Tocantins: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2022.

VERAS, G. *et al.* Perfil Cientométrico da Quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v. 45, n. 10, p. 1315-1321, ago. 2022.

VIANA, J. T.; SANTOS, A. L. B. Parasitos nos cultivos de Pirarucu (*Arapaima gigas*). **Arq. Ciên. Mar**, v.55, n. 1, p. 140 – 149, ago. 2022.

WAHEED, D. M.; EL-DIASTY M.; GABR E. M. Spirulina as an animal feed and its effect on animal health and productivity. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v. 14, n. 2, p. 342–344, fev. 2024.