

**QUALIDADE DE SILAGENS ÁCIDAS DE
RESÍDUOS DA FILETAGEM DE TILÁPIA
(*Oreochromis niloticus*) ELABORADAS COM
ÁCIDOS ORGÂNICOS**

JULIANA RIBEIRO DO CARMO

2009

JULIANA RIBEIRO DO CARMO

**QUALIDADE DE SILAGENS ÁCIDAS DE RESÍDUOS DA
FILETAGEM DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) ELABORADAS
COM ÁCIDOS ORGÂNICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

PROF. DR. CARLOS JOSÉ PIMENTA

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Carmo, Juliana Ribeiro do.

Qualidade de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápia (*Oreochromis niloticus*) elaboradas com ácidos orgânicos / Juliana Ribeiro do Carmo. – Lavras : UFLA, 2009.

157 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Carlos José Pimenta.

Bibliografia.

1. Silagens ácidas de pescado. 2. Digestibilidade dos nutrientes.
3. Tempo de armazenamento. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 664.946

JULIANA RIBEIRO DO CARMO

**QUALIDADE DE SILAGENS ÁCIDAS DE RESÍDUOS DA FILETAGEM
DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) ELABORADAS COM ÁCIDOS
ORGÂNICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 20 de Fevereiro de 2009.

Prof^a Dr^a. ANA CARLA MARQUES PINHEIRO

UFMT

Prof^a. Dr^a. MARIA EMÍLIA DE SOUSA GOMES PIMENTA

DCA/UFLA

PROF. DR. CARLOS JOSÉ PIMENTA
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009**

A Deus, por tudo que tenho e tudo que sou.
Ao “seu” Dimas (“in memoriam”), exemplo de luta pela vida.

OFEREÇO

Aos meus pais, Nildo e Janice, por fazerem dos meus sonhos seus objetivos e lutas. Aos meus sobrinhos, Matheus, Giovana e Ana Luiza, por tê-los comigo e por me fazerem a pessoa mais feliz do mundo com as suas presenças. Ao meu namorado, Bruno, por estar ao meu lado e entender as minhas ausências. A vocês, esse trabalho feito com todo carinho!

DEDICO

“...E ainda, se vierem noites traiçoeiras, se a cruz pesada for, Cristo estará contigo e o mundo pode até fazer você chorar, mas Deus te quer sorrindo...”

(Noites Traiçoeiras, Padre Marcelo Rossi).

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e da providência.

Aos amigos e orientadores Carlos José Pimenta e Maria Emília de Sousa Gomes Pimenta pela disposição ao me ensinarem, pela confiança e pela paciência.

À minha família, em especial Papai, Mamãe, Fê e Dri, pelo amor, apoio e confiança, fundamentais a minha vida durante essa caminhada.

Aos amores da minha vida, Teteu, Giovaninha e Ana Luiza, os quais, com seus sorrisos, me fazem seguir sempre em frente. Por vocês, para vocês. Mais uma vez, vocês moram em meu coração... Amo mais que tudo!

Ao confidente, namorado e sobretudo amigo, Bruno, pela força, pela confiança e pela grande ajuda nas análises de campo. Te amo!

À professora Ana Carla Marques Pinheiro pelo aceite do convite de participação como membro da banca examinadora e pelas valiosas sugestões.

A Sara Maria Chalfoun e a todos os funcionários da EPAMIG/CTSM por disponibilizarem materiais, instalações e atenção, muito obrigada!

Aos funcionários Constantina, Sandra, Creuza e “seu” Miguel, do DCA; Suelba, Márcio, Zé Virgílio, Zé e Elecir, do DZO; e Vicentina, da EPAMIG/CTSM, pelo sadio convívio, por me receberem e me ensinarem tantas coisas!

Ao doutorando Cleiton Antônio Nunes, do DQI, pela grande ajuda na análise cromatográfica, pela imensa prestatividade e bom humor ao me ensinar e, acima de tudo, por ser tão amigo. Mais uma vez, muito obrigada!

Às amigas Betania Diniz Volpi Cândido e Danielly Mesquita Figueiredo, que conheci no mestrado e levarei no coração por onde for. Obrigada por alegrarem os meus dias, em especial as nossas quintas.

A Larissa e Gustavo pelo compromisso e presteza, fundamentais a esse trabalho.

A Marinez Moraes de Oliveira pelo conhecimento transmitido, pela confiança em mim depositada, pelos momentos alegres, por me acompanhar e ajudar em todos os momentos desse trabalho e por se tornar uma amiga tão especial.

Ao amigo “engenheiro” Ricardo Augusto Diniz Cabral Ferreira pela grande ajuda com os programas estatísticos.

Aos amigos Humberto e Renato por me ajudarem e pelo companheirismo.

Ao professor Mário César Guerreiro, do DQI, exemplo de doação, de pesquisador e de sabedoria. Por servir de inspiração e pela enorme prestatividade. Obrigada por me ensinar sempre!

À professora Priscila Vieira Rosa Logato (DZO) por disponibilizar materiais e instalações, além de aceitar a participação como membro da banca examinadora.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo e à FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho.

MUITO OBRIGADA! DEUS OS ABENÇOE!!!

“Sempre darei um passo avante. Se este for em vão, darei outro e mais outro. Até onde o fôlego resistir, persistirei.”

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral	2
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 Resíduos de pescado	4
2.2 Considerações sobre a tilápia.....	6
2.3 O processo de filetagem e o gerenciamento de resíduos	7
2.4 Silagem de pescado.....	10
2.4.1 Silagem enzimática de pescado	11
2.4.2 Silagem biológica de pescado.....	12
2.4.3 Silagem ácida de pescado	13
2.4.3.1 Ácidos orgânicos na elaboração de silagem ácida	15
2.5 Variáveis de qualidade das silagens de pescado	17
2.5.1 Potencial hidrogeniônico (pH).....	17
2.5.2 Temperatura.....	18
2.5.3 Composição centesimal	18
2.5.3.1 Umidade.....	19
2.5.3.2 Extrato etéreo (lipídios totais).....	20
2.5.3.3 Proteínas	26
2.5.3.4 Cinzas (resíduo mineral fixo)	29
2.5.4 Características microbiológicas	29
2.6 Digestibilidade de silagens de pescado na alimentação de peixes.....	32
3 Referências Bibliográficas.....	37
CAPÍTULO 2: Caracterização de diferentes silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias ao longo do armazenamento	51
1 Resumo	52
2 Abstract.....	53
3 Introdução	54
4 Material e Métodos	56
4.1 Matéria-prima	56
4.2 Preparo das silagens.....	56
4.3 Coleta de amostras.....	58
4.4 Determinações realizadas	58
4.4.1 Observação de características visuais e odores.....	58
4.4.2 Determinações físico-químicas.....	58
4.4.3 Determinações químicas	58

4.4.3.1 Composição centesimal	58
4.4.3.2 Determinação de nitrogênio total, não protéico e protéico	61
4.4.3.3 Determinação dos minerais cálcio e fósforo	62
4.4.3.4 Análises de caracterização dos óleos brutos	63
4.4.3.5 Perfil de ácidos graxos	64
4.4.4 Determinações microbiológicas	66
4.4.4.1 Contagem total de microorganismos aeróbios mesófilos	66
4.4.4.2 Contagem total de bolores e leveduras	67
4.4.5 Custo das silagens e farinha de peixe	67
4.4.6 Análises estatísticas	68
5. Resultados e Discussão	69
5.1 Observação de características visuais e de odores	69
5.2 Determinações físico-químicas	73
5.2.1 Monitoramento da temperatura	73
5.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)	75
5.3 Determinações químicas	80
5.3.1 Composição centesimal	80
5.3.2 Nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio protéico (NP)	95
5.3.3 Determinação dos minerais cálcio e fósforo	101
5.3.4 Características físicas dos óleos brutos das silagens	102
5.3.5 Perfil de ácidos graxos	109
5.4 Análises microbiológicas	112
5.5 Custo das silagens e da farinha de peixe	113
6 Conclusões	114
7 Referências Bibliográficas	115
CAPÍTULO 3: Digestibilidade <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	122
1 Resumo	123
2 Abstract	124
3 Introdução	125
4 Material e Métodos	127
4.1 Comparação entre a matéria-prima e as silagens ácidas após 28 dias de ensilagem	127
4.1.1 Matéria-prima	127
4.1.2 Elaboração das silagens	127
4.1.3 Determinação da composição centesimal	128
4.2 Digestibilidade protéica <i>in vitro</i>	128
4.3 Digestibilidade <i>in vivo</i> das silagens e da farinha de peixe em juvenis de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	129
4.3.1 Localização e caracterização do experimento	129
4.3.2 Dietas experimentais	130

4.3.3 Período experimental	133
4.3.4 Análises bromatológicas (composição centesimal)	134
4.3.5 Teor de cromo e cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes.....	134
4.4 Determinações estatísticas	135
5 Resultados e Discussão	136
5.1 Comparação da composição bromatológica entre a matéria-prima de origem e as silagens ácidas após 28 dias de ensilagem.....	136
5.2 Digestibilidade <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de silagens ácidas após 28 dias de armazenamento	138
6 Conclusões.....	143
7 Referências Bibliográficas.....	144
CONSIDERAÇÕES FINAIS	147
ANEXOS	148

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
μL	Micro litro
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
C	Cinzas
c	cis
CDA	Coefficiente de digestibilidade aparente
CDA EB	Coefficiente de digestibilidade aparente do nutriente energia bruta
CDA EE	Coefficiente de digestibilidade aparente do nutriente extrato etéreo
CDA MS	Coefficiente de digestibilidade aparente do nutriente matéria seca
CDA PB	Coefficiente de digestibilidade aparente do nutriente proteína bruta
CgI/g	Centigrama de iodo por grama
CV	Coefficiente de variação
EE	Extrato Etéreo
FAO	Food and Agriculture Organization
FB	Fibra Bruta
g.L^{-1}	Grama por litro
$\text{gI}/100\text{g}$	Grama de iodo por 100 g de óleo
IA	Índice de acidez
II	Índice de Iodo
IP	Índice de peróxidos
IS	Índice de saponificação
Kcal.kg^{-1}	Quilocaloria por quilograma
Kg	quilograma
mgNaOH.g^{-1}	Miligrama de hidróxido de sódio por grama de óleo
mgKOH.g^{-1}	Miligrama de hidróxido de potássio por grama de óleo
MI	Matéria Integral
mL	Mililitros
mL.min^{-1}	Mililitros por minuto
MS	Matéria Seca
<i>n</i>	Ômega
N	Normal
NNP	Nitrogênio não-protéico
NP	Nitrogênio protéico
NT	Nitrogênio total
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius

p/p	Peso por peso
PB	Proteína Bruta
PG	Propilgalato
pH	Potencial hidrogeniônico
RFP	Ração elaborada com 30% de farinha de peixe
RFT	Resíduo da filetagem de tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>)
RR	Ração referência
RSAA	Ração elaborada com 30% de silagem de ácido acético
RSAF	Ração elaborada com 30% de silagem de ácido fórmico
RSAP	Ração elaborada com 30% de silagem de ácido propiônico
SAA	Silagem de resíduos da filetagem de tilápias utilizando ácido acético
SAF	Silagem de resíduos da filetagem de tilápias utilizando ácido fórmico
SAP	Silagem de resíduos da filetagem de tilápias utilizando ácido propiônico
t	trans
TBHQ	Terc-butilhidroquinona
U	Umidade
UFC/g	Unidade formadora de colônia por grama
v/p	Volume por peso
Σ	Somatório

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1	
TABELA 1	Diferentes formulações para a silagem ácida de pescado..... 17
TABELA 2	Composição percentual de vários peixes com uso de diferentes ácidos 19
TABELA 3	Índices de qualidade e identificação do óleo de tilápia obtido no processamento da farinha pescado 21
TABELA 4	Ácidos graxos presentes em silagem ácida de resíduo da filetagem de tilápia..... 22
CAPÍTULO 2	
TABELA 1	Componentes necessários à manipulação do meio PCA (Ágar padrão para Contagem) e suas respectivas quantidades..... 66
TABELA 2	Componentes necessários à manipulação do meio BDA-cloranfínicol (Batata-Dextrose-Ágar-Cloranfínicol) e suas respectivas quantidades..... 67
TABELA 3	Valores médios de pH nas silagens SAF, SAA e SAP em cada período de armazenamento..... 75
TABELA 4	Valores médios de umidade (%) nas silagens SAF, SAA e SAP em cada período de armazenamento 80
TABELA 5	Valores médios de extrato etéreo (%) na matéria seca e integral das silagens ácidas..... 83
TABELA 6	Valores de proteína bruta na matéria seca e na matéria integral ao longo do processo de ensilagem. 87
TABELA 7	Valores médios do teor de cinzas na matéria integral e seca das silagens ácidas SAF, SAA e SAP nos 5 tempos de armazenamento..... 93
TABELA 8	Médias das variáveis NT, NP e NNP nas silagens ácidas com base na matéria integral..... 96
TABELA 9	Médias das variáveis NT, NP e NNP nas silagens ácidas com base na matéria seca..... 97
TABELA 10	Conteúdo de cálcio e fósforo nas silagens SAF, SAA e SAP após 28 dias de armazenamento..... 102
TABELA 11	Médias dos índices de iodo (gI/100g) nas silagens ácidas SAF, SAA e SAP ao longo dos 5 períodos de armazenamento..... 104

TABELA 12	Médias dos índices de saponificação (mgKOH. g ⁻¹) nas silagens ácidas SAF, SAA e SAP.....	105
TABELA 13	Valores médios dos índices de acidez (mgNaOH.g ⁻¹) para as silagens SAF, SAA e SAP nos 5 períodos de armazenamento.....	107
TABELA 14	Perfis de ácidos graxos nas silagens ácidas após 28 dias de armazenamento (%)......	109
TABELA 15	Custo da farinha de peixe e das silagens ácidas.....	113
CAPÍTULO 3		
TABELA 1	Ração basal (referência) a ser utilizada no experimento de digestibilidade das silagens ácidas para juvenis de tilápia.....	132
TABELA 2	Composição bromatológica e energética dos ingredientes das dietas experimentais.....	132
TABELA 3	Composição bromatológica do resíduo da filetagem de tilápias e das silagens ácidas após 28 dias de armazenamento.....	136
TABELA 4	Composição bromatológica das dietas experimentais.....	138
TABELA 5	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i> das silagens e da farinha de peixe utilizadas na elaboração das dietas experimentais.....	140
TABELA 6	Coefficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e da energia para as silagens ácida e a farinha de peixe comercial.....	141

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1		
FIGURA 1	Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	7
FIGURA 2	Fluxograma geral de um frigorífico de processamento de tilápia.....	9
FIGURA 3	Mecanismo da autoxidação lipídica proposto Farmer (1942).....	23
FIGURA 4	Estrutura química do BHT (Butilhidroxitolueno)...	25
FIGURA 5	Nitrogênio solúvel como porcentagem do nitrogênio total durante o armazenamento de silagem de <i>Clupea sprattus</i>	29
FIGURA 6	Faixa aproximada de pH de crescimento de alguns microorganismos encontrados em alimentos.....	31
CAPÍTULO 2		
FIGURA 1	Resíduos de filetagem de tilápias nilóticas (<i>Oreochromis niloticus</i>) antes a moagem (A) e após a moagem (B).....	56
FIGURA 2	Fluxograma das etapas seguidas para a elaboração de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	57
FIGURA 3	Avaliação visual da liquefação ocorrida nas silagens em função do tempo de armazenamento	71
FIGURA 4	Separação de fases após 28 dias de armazenamento: (A) SAF, (B) SAA e (C) SAP.....	72
FIGURA 5	Variação das temperaturas máximas e mínimas ambiente durante os dias de armazenamento.....	74
FIGURA 6	Variação do pH das silagens ácidas nos diferentes tempos de armazenamento.....	78
FIGURA 7	Variação do percentual de umidade ao longo dos dias de armazenamento.....	81
FIGURA 8	Variação do teor de extrato etéreo (MI) ao longo dos dias de armazenamento nas silagens ácidas.....	85
FIGURA 9	Variação da proteína bruta ao longo dos dias de armazenamento da silagem elaborada com ácido fórmico (SAF).....	89
FIGURA 10	Variação da proteína bruta ao longo dos dias de armazenamento da silagem elaborada com	

	ácido acético (SAA).....	89
FIGURA 11	Varição da proteína bruta ao longo dos dias de armazenamento da silagem elaborada com ácido acético (SAP).....	90
FIGURA 12	Varição das cinzas ao longo dos dias de armazenamento.....	94
FIGURA 13	Mudanças no teor de nitrogênio não protéico nas silagens ácidas ao longo dos períodos de armazenamento.....	99
FIGURA 14	Relação inversa entre os teores de nitrogênio protéico (NP) e nitrogênio não protéico (NNP) nas silagens SAF, SAA e SAP.....	101
FIGURA 15	Varição do índice de saponificação ao longo dos dias de armazenamento.....	106
FIGURA 16	Varição da acidez ao longo dos dias de armazenamento.....	108
CAPÍTULO 3		
FIGURA 1	Incubadora adaptada para o ensaio de digestibilidade.....	130

RESUMO

CARMO, Juliana Ribeiro do. **Qualidade de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápia (*Oreochromis niloticus*) elaboradas com ácidos orgânicos**. 2009. 157 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG¹.

A silagem ácida de pescado é uma técnica antiga de preservação da matéria orgânica, elaborada a partir de peixes inteiros ou partes desses, aos quais são acrescentados ácidos. O estudo do tipo de ácido e do tempo de armazenamento que proporcione um produto final de bom valor nutricional, assim como a viabilidade da aplicação desses resíduos na alimentação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), traduziram-se no principal objetivo da presente pesquisa. Para tanto, foram elaborados três tipos silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias utilizando os ácidos orgânicos fórmico (SAF), acético (SAA) e propênico (SAP) na concentração de 5% v/p e 0,1% p/p de butilhidroxitolueno (BHT). As biomassas foram monitoradas semanalmente quanto às características físicas, químicas e microbiológicas. As variáveis umidade e extrato etéreo aumentaram em relação ao tempo inicial de ensilagem. Em contrapartida, o conteúdo de proteína e de cinzas sofreu decréscimo. Os óleos extraídos das silagens mantiveram-se estáveis durante todo o experimento, não sendo detectada a formação de peróxidos. Verificou-se a digestibilidade protéica *in vitro* e em juvenis de tilápia nilótica. Os elevados resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), acima de 75%, assim como os altos valores de digestibilidade protéica *in vitro*, indicam que as silagens ácidas foram bem utilizadas pela tilápia do Nilo. Todas as silagens apresentaram bons valores nutricionais (bromatológicos) e boas digestibilidades.

Palavras-chave: silagens ácidas de pescado, digestibilidade dos nutrientes, tempo de armazenamento.

¹ Comitê Orientador: Dr. Carlos José Pimenta - UFLA (Orientador).

ABSTRACT

CARMO, Juliana Ribeiro do. **Quality of acid silage produced from waste from the filleting of tilapia (*Oreochromis niloticus*) elaborated with organic acids**. 2009. 157 p. Thesis (Master degree in Food Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG².

The acid fish silage is a ancient preservation technique for organic matter, produced from whole fish or fish parts , to which acids are added. The study of the type of acid and storage time providing a final product with good nutritional value, and the feasibility of these residues in the diet of juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) led to the main objective of this research. Thus, we developed three types of acid silage waste from tilapia fillet using organic acids: formic (SFA), acetic (SAA) and propionic (SPA), at the concentration of 5% v/p and 0.1% p/p butylhydroxytoluene (BHT). Biomass was monitored weekly as to physical, chemical and microbiological aspects. The moisture and ether extract parameters increased in relation to the time of initial storage. In contrast, the protein and ash content decreased. Oils extracted from silages remained stable throughout the experiment and the formation of peroxides was not detected. The *in vitro* protein digestibility of Nile tilapia juveniles was verified. The high performance of the apparent digestibility coefficients (ADC), above 75% and the high values of *in vitro* protein digestibility indicate that the acidic silages were well used by the Nile tilapia. All silages showed good nutritional (bromatological) value and good digestibility

Key words: fish acid silage, nutrient digestibility, storage time.

² Guidance Committee: Dr. Carlos José Pimenta - UFLA (Advisor).

CAPÍTULO 1

1 Introdução Geral

Atualmente, a humanidade vive preocupada com a qualidade de vida, preocupação esta que traz atenção especial à conservação ambiental. Dentro desta realidade torna-se inadmissível que qualquer atividade degrade, em qualquer aspecto, o ambiente. O aproveitamento de resíduos (sólidos, líquidos e gasosos) contribui para a minimização dos impactos ambientais, além de gerar, na maioria das vezes, subprodutos com alto valor agregado.

Os processos de beneficiamento de tilápias, que visam principalmente à produção de filés, geram aproximadamente 67% de resíduos, sendo que apenas 33% do pescado é aproveitado em filés (Souza et al., 1999). Esses resíduos são ricos em materiais orgânicos e inorgânicos, e se forem lançados ao meio ambiente, sem tratamento prévio, podem poluir os recursos naturais (ar, água e solo).

Além da questão ambiental, atenção especial deve ser dada à qualidade nutricional dos resíduos de pescado, os quais, devidamente manipulados, constituem boas fontes de nutrientes de baixo custo. Dessa maneira, para o aproveitamento dos resíduos da piscicultura surge a necessidade do desenvolvimento de tecnologias que tenham o objetivo de aproveitar esse material, rico em proteínas e lipídios (Oetterer et al., 2002; Arruda, 2004).

A ensilagem de resíduos de pescado é uma tecnologia antiga de preservação da matéria orgânica. A preservação do material ensilado é dada pela redução do pH, o que pode ser obtido quimicamente através da acidificação direta utilizando ácidos orgânicos, tais como fórmico, acético, propiônico, entre outros, e/ou minerais, tais como clorídrico e sulfúrico (silagem ácida), pela adição de microorganismos produtores de ácido lático (silagem biológica) ou pela combinação dos dois métodos (Kompang, 1981; Nunes, 1999; Riviero &

Viana, 1996; Tatterson & Windsor, 1974; Vizcarra-Magaña et al., 1999; Zahar et al., 2002 citados por Borghesi, 2004).

As silagens ácidas são de mais fácil elaboração quando comparadas às demais. Existem diversos trabalhos na literatura empregando diferentes tipos de ácidos. Entretanto, a busca da metodologia que melhore as características nutricionais, facilite o armazenamento e viabilize a utilização das silagens ácidas na alimentação animal com base no tipo de ácido utilizado é pouco explorada. Dessa maneira, há uma necessidade premente do desenvolvimento de pesquisas nessa área, a fim de conhecer as condições de ensilagem que resultem em melhor produto final.

Com base no exposto acima, este trabalho teve como objetivo o estudo das modificações ocorridas nas silagens de pescado utilizando os ácidos orgânicos acético, propiônico e fórmico durante 28 dias de armazenamento, bem como o conhecimento da digestibilidade do material ensilado final em dietas para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

O presente trabalho encontra-se dividido em capítulos. O primeiro relaciona um selecionado referencial teórico geral; o segundo refere-se às mudanças físico-químicas, químicas e microbiológicas ocorridas nas silagens ácidas em função do armazenamento e do tipo de ácido utilizado em sua confecção; e o terceiro e último capítulo traz a comparação das silagens prontas, ou seja, após 28 dias de armazenamento, com a matéria-prima utilizada em sua elaboração e as digestibilidades *in vitro* e *in vivo*, esta última utilizando juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2 Referencial Teórico

2.1 Resíduos de pescado

A aquicultura pode ser definida como o cultivo dos seres que têm na água o seu principal ou mais frequente ambiente de vida. É uma das alternativas mais viáveis no mundo para a produção de alimento de alto valor protéico destinado ao consumo humano (Camargo & Pouey, 2005).

O pescado é um produto com alto potencial de deterioração; por isso, grande quantidade é perdida durante os processos de captura, comercialização e industrialização (Ogawa & Maia, 1999). Os resíduos provenientes da industrialização dependem do processamento utilizado, que pode gerar: peixe inteiro eviscerado, eviscerado e descabeçado e filé, entre outros produtos (Vidotti & Gonçalves, 2006).

O consumo de peixes ainda é baixo no Brasil, em torno de 6 kg/habitante/ano (Macedo-Viegas et al., 2000). Uma das maneiras de se reverter este quadro é o uso de mecanismos que estimulem as diferentes formas de apresentação dos pescados, uma vez que o consumidor busca alimentos de fácil e rápido preparo (Souza et al., 2004).

O processo de beneficiamento de pescado pode oferecer, além de um alimento de alto valor nutricional, uma grande quantidade e variedade de rejeitos que normalmente são descartados, provavelmente devido à falta de interesse e conhecimento do setor pesqueiro sobre procedimentos tecnológicos para um melhor aproveitamento destes materiais (Stori, 2000).

Segundo a NBR 10004 (Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT, 2004), resíduos nos estados sólido e semi-sólido são os que resultam de atividades da comunidade de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviço e de varrição e podem ser classificados em (Gutierrez, 2008):

- Resíduos Classe I - perigosos. São os que apresentam riscos à saúde pública e ao meio ambiente, exigindo, assim, tratamento e disposição especiais devido a suas propriedades relacionadas a inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade;
- Resíduos Classe IIA - não inertes. São aqueles que não apresentam periculosidade, mas não são inertes. Podem possuir propriedades como combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água.
- Resíduos classe IIB - inertes. São aqueles que, quando submetidos a um contato com a água destilada, não tiverem nenhum de seus constituintes solubilizados a concentrações superiores aos padrões de potabilidade da água.

Os resíduos Classe IIA, não inertes ou orgânicos, estão intimamente relacionados a problemas ambientais como a poluição dos recursos naturais (ar, água e solo). Grande quantidade de matéria orgânica, que poderia ser reaproveitada, é descartada pelas indústrias de alimentos, tornando-se fonte potencial de proteínas para consumo humano e animal, com alto valor nutricional (Stori, 2000).

Nesse contexto, o termo resíduo refere-se a todos os subprodutos e sobras do processamento de alimentos que são de valor relativamente baixo. No caso de pescado, o material residual pode ser constituído de aparas do “toilete” antes do enlatamento, carne escura, peixe fora do tamanho ideal para industrialização, cabeças e carcaças (Oetterer, 1993).

No Brasil, grande quantidade de resíduo de pescado é gerada, principalmente em virtude do clima tropical, pois os subprodutos do pescado são extremamente perecíveis, fato que os tornam fontes altamente contaminantes para o meio ambiente (Morales-Ulloa & Oetterer, 1997; Miranda et al., 2005).

Os resíduos alimentares são mal aproveitados, sendo, por consequência, desvalorizados (Benites, 2003). Entretanto, novos olhares têm sido lançados aos rejeitos de pescado, pois grandes quantidades de proteína de qualidade são descartadas nos subprodutos da pesca (Santana-Delgado et al., 2008).

2.2 Considerações sobre a tilápia

Tilápia é o nome comum a três gêneros de peixes da família Ciclidae: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia* (Wantanabe et al., 2002). São reconhecidas mais de 70 espécies de tilápias, sendo esses três gêneros os principais em importância comercial. Desses três gêneros, o de maior destaque na aquicultura mundial é o gênero *Oreochromis*. As tilápias são naturais da África, Israel e Jordânia e, devido a seu potencial para a aquicultura, tiveram sua distribuição expandida nos últimos cinquenta anos (Boscolo et al., 2002; Borghesi, 2004). A tilápia foi introduzida no Brasil em 1971, sendo hoje a espécie de pescado de água doce mais cultivada no território nacional (Mainardes-Pinto et al., 1995; Borghesi, 2004).

Na produção de tilápias é preconizado o cultivo somente de machos (monossexo) para evitar perdas de produtividade (Furuya, 2000), já que as fêmeas podem apresentar uma taxa de crescimento até cinco vezes menor, dependendo do manejo adotado. Para a obtenção de populações monossexo, é empregado o método de reversão sexual das larvas, fazendo-se uso de rações contendo hormônios masculinizantes (Varadaraj et al., 1994; Borghesi, 2004).

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nation, FAO (2005) citada por Bueno (2006), a produção mundial de tilápia em 2003 foi acima de 1.500.000 toneladas, tendo o Brasil contribuído com 62.558 toneladas.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) destaca-se como uma das espécies mais importantes devido a sua alta taxa de crescimento, adaptabilidade em diversas condições, criação e boa aceitação pelo consumidor (Kubitza,

2000). A tilápia tem coloração cinza azulada, corpo curto e alto, cabeça e cauda pequena (Figura 1). É um peixe de baixo nível trófico (onívora), destacando-se em relação às espécies carnívoras, que necessitam em grande quantidade de farinha de peixe nas rações (Fitzsimmons, 2000).



FIGURA 1 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).
Fonte: Pesca Pará (2008).

A tilápia do Nilo, segundo Vannuccini (1999), tem sido etiquetada como o “novo pescado branco”. É atualmente a segunda espécie mais cultivada mundialmente (Jory et al., 2000) e apresenta requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, tais como carne branca de textura firme, sabor delicado e fácil filetagem, não tendo espinhos em “Y” nem odor desagradável (Souza, 2002).

2.3 O processo de filetagem e o gerenciamento de resíduos

Uma das principais deficiências da aquicultura é a falta de padronização do produto para o consumidor, o que acarreta dificuldades quanto às características de sabor, presença ou não de espinhos, forma de preparo e valor nutricional. Entretanto, se o produto tiver boa apresentação (postas ou filés) e embalagem (com especificação do produto), torna-se mais fácil o trabalho de *marketing* e, conseqüentemente, a colocação do pescado no mercado. Sem

dúvida, a procura por um alimento de qualidade e de fácil preparo é uma das maiores estratégias de *marketing* explorada por indústrias de alimentos (Souza, 2002).

Com o avanço tecnológico, o processo de industrialização do pescado vem crescendo com o surgimento de indústrias de beneficiamento, as quais visam o aprimoramento no processo de obtenção do filé, principal produto das tilápias para a comercialização. De acordo com Jory et al. (2000), os principais exportadores de tilápia inteira e filés congelados são os países asiáticos, como a Tailândia, Taiwan e Indonésia; e de filés frescos, os países latino-americanos como a Costa Rica, o Equador e Honduras.

Um dos grandes problemas desse desenvolvimento está no descarte dos resíduos de peixes, o qual, quando realizado de forma incorreta, constitui problema sanitário e ambiental para os produtores e indústrias.

O processo de filetagem pode ser visualizado pela Figura 2.

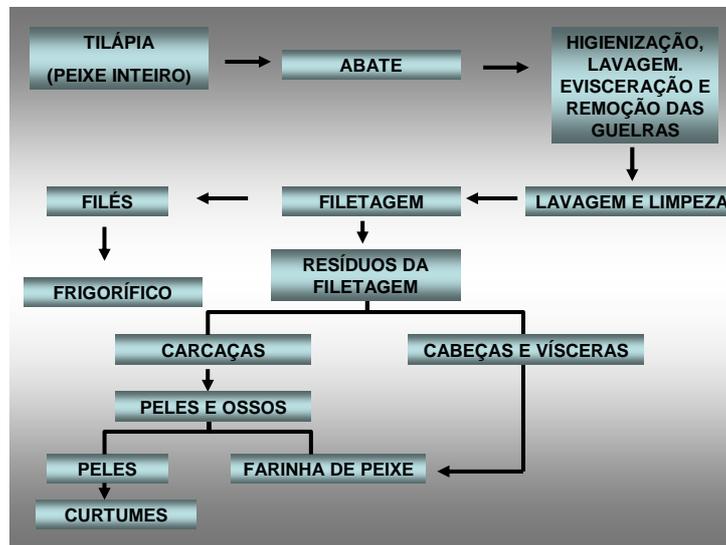


FIGURA 2 Fluxograma geral de um frigorífico de processamento de tilápia. Fonte: Bressan (2002) adaptado por Minozzo (2005).

Os resíduos provenientes da filetagem de tilápias são atualmente subutilizados ou descartados pelas indústrias de filetagem por causa do desconhecimento sobre o seu potencial como alimento para peixes (Boscolo, 2003) e para outros animais.

As indústrias são legalmente obrigadas a se adequar às leis ambientais e, por tal razão, o tratamento dos resíduos sólidos acarreta custos extras na produção de pescado (Benites, 2003).

O aproveitamento dos resíduos do processo de filetagem de tilápias é fundamental para a redução do impacto ambiental. Sendo assim, há necessidade de serem criados sistemas de processamento de resíduos industriais que sejam econômicos e que visem à conservação de energia, proporcionando maior aproveitamento da matéria-prima até o produto final, além do desenvolvimento de novos produtos a partir de resíduos líquidos e sólidos.

Vidotti & Gonçalves (2006), listam, como formas de aproveitamento dos resíduos de pescado, extração de colágeno (escamas e peles) para a indústria farmacêutica e alimentícia; curtimento de pele para a indústria mobiliária, vestuário, artesanato e diferentes objetos; produção de polpa para fabricação de empanados, produtos semiprontos, cozinha institucional (da merenda escolar, restaurantes universitários, restaurantes de empresas, hospitais, presídios, etc.); compostagem, farinha e silagem de pescado.

2.4 Silagem de pescado

A silagem de pescado é um método antigo de preservação da matéria orgânica (Shirai et al., 2001). É definida por Tatterson & Windsor (1974), como um produto líquido elaborado a partir de peixes inteiros ou partes desses aos quais são acrescentados ácidos, enzimas ou bactérias produtoras de ácido lático, em que a liquefação da massa é oriunda da ação de enzimas naturalmente presentes no pescado.

A técnica para a elaboração da silagem de pescado foi modificada por Edin na década de 30, a partir da adaptação de um método patenteado por Virtanen, que visava à preservação de forragens por meio da adição dos ácidos inorgânicos sulfúrico e clorídrico (Raa & Gilberg, 1982). Surgiu nos países escandinavos, sendo a Suécia o primeiro país a produzi-la, em 1936, em experimentos utilizando misturas de ácido sulfúrico, clorídrico, fórmico e outros ingredientes, como melão (Disney & James, 1980; Oetterer & Borghesi, 2007).

Na Noruega, Polônia e Dinamarca, a preservação dos resíduos pela técnica de silagem vem sendo estudada desde 1930. Países como o Canadá, Inglaterra e Alemanha iniciaram a produção de silagem a partir da década de 40. No Brasil, o interesse por este processo só apareceu na década de 80 (Sales, 1995; Ogawa & Maia, 1999; Benites, 2003).

De acordo com Benites (2003) e Gonçalves & Viegas (2007), o princípio da preservação dos resíduos do processamento de pescado utilizando a técnica de silagem deve-se principalmente à redução do pH e à hidrólise protéica da massa residual, por três métodos principais: adição de ácidos orgânicos e/ou minerais (silagem ácida); processo biológico de fermentação por bactérias lácticas, o qual gera ácido lático, aumentando, conseqüentemente, a acidez do meio (silagem biológica); e uso de enzimas proteolíticas (silagem enzimática).

Como vantagens da tecnologia de silagem destacam-se a conservação das propriedades nutricionais em relação ao produto de origem, uma vez que o conteúdo protéico não sofre tratamento térmico; a produção é independente da escala, não requerendo altos custos para a sua fabricação; os odores produzidos são praticamente imperceptíveis e o produto ensilado não necessita de refrigeração para a sua conservação, mantendo-se estável por mais de um ano à temperatura ambiente. A necessidade de grandes espaços para o armazenamento do produto final semilíquido constitui a principal desvantagem da técnica (Tatterson & Windsor, 1974; Raa & Gildberg, 1982; Windsor & Barlow, 1984; Barral et al., 1989).

2.4.1 Silagem enzimática de pescado

O uso de enzimas no tratamento de resíduos de alimentos é amplamente estudado. As enzimas são altamente seletivas; as reações que as envolvem são eficientes e controláveis, específicas e evitam o aparecimento de reações indesejáveis (Oetterer et al., 1992).

Valério (1994) relata que as enzimas comumente utilizadas no reaproveitamento dos subprodutos da pesca são as proteases, de origem vegetal ou microbiana. Apesar de o produto obtido ser mais nobre que a silagem ácida, seu preparo é mais complexo e exige maior cuidado (Beraquet & Galacho, 1983; Benites, 2003).

Borghesi (2004), avaliando a composição química da silagem enzimática feita de resíduos de tilápia acrescidos de enzima protease tipo II de *Aspegillus oryzae*, assumindo como pré-tratamento a silagem ácida, encontrou a seguinte composição centesimal: 25,01% de matéria seca (MS), 54,50% de proteína bruta na MS, 12,17% de extrato etéreo na MS e 27,17% de cinza na MS. Os valores encontrados indicam o alto valor nutricional da silagem enzimática.

Valério (1994) produziu silagens enzimáticas adicionando as enzimas pepsina A e protease fúngica de *Aspegillus oryzae* ao material residual comestível de *Sardinella brasiliensis* (sardinhas evisceradas, descabeçadas e sem calda). Foi utilizada uma mistura dos ácidos fórmico e propiônico (1:1) na concentração de 3% v/p da mistura de ácidos, originando as silagens com adição de pepsina A (SEP) e com adição de protease fúngica (SEF). A SEP foi armazenada por um período de 3 semanas e a SEF foi armazenada por 2 semanas. Após o período de ensilagem, a composição centesimal com base na matéria seca, para SEP e SEF, respectivamente, foi de 66,01% e 65,07% de proteína bruta; 8,08% e 7,17% de lipídeos e 11,53% e 12,68% de cinzas. A liquefação ocorreu rapidamente (em 24 horas), o que, de acordo com a autora, torna a silagem enzimática aceleradora do processo químico.

2.4.2 Silagem biológica de pescado

As silagens biológicas, também denominadas silagens fermentadas, são produzidas pelo processo de fermentação anaeróbia, por meio da adição de microrganismos (normalmente bactérias ácido lácticas *Lactobacillus*) e uma fonte de carboidrato aos peixes inteiros ou às partes de peixes (Wyk & Heydenrych, 1985; Bello et al., 1993; Coelho et al., 2000; Vidotti & Gonçalves, 2006). As bactérias ácido-láticas podem exercer um papel considerável, melhorando as características sensoriais, nutricionais e higiênicas dos subprodutos de pescado (Raa & Gildberg, 1982; Dapkevicius et al., 2000).

O decréscimo do pH (em torno de 4,0), oriundo da produção de ácido láctico, inibe o crescimento de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Citrosactu*, *Achromobacter* e *Pseudomonas* (Wyk & Hydenryck, 1985; Samuels et al., 1991; Dapkevicius et al., 2000; Borghesi, 2004).

De acordo com Borrensen (1990) e Lindgren & Pleje (1983), mencionados por Borghesi (2004), acredita-se que as bacteriocinas, compostos antibacterianos produzidos por bactérias ácido-láticas, ajudam na inibição de microorganismos patogênicos.

A qualidade do ensilado fermentado é dependente da capacidade dos *Lactobacillus* em promover a estabilidade do produto, da quantidade do resíduo de pescado e do tempo de estocagem (Vidotti & Gonçalves, 2006).

A composição química da silagem fermentada de resíduo proveniente da filetagem de tilápia, segundo Geron (2003), preparada pelo uso de 5,0% (p/p) de iogurte natural, 15,0% (p/p) de melaço e 0,25% (p/p) de ácido sórbico para cada kg de resíduo, apresentou teor de matéria seca de 36,69%, proteína bruta de 31,64% na MS, extrato etéreo de 32,19 na MS e cinzas de 18,5% na MS, mostrando alto valor nutricional.

2.4.3 Silagem ácida de pescado

A silagem ácida (ou química) de pescado é o produto resultante da mistura de ácido aos subprodutos da pesca. O princípio fundamental para que ocorra a preservação do ensilado de pescado é que o ácido utilizado diminua o pH e evite a putrefação bacteriológica do pescado, enquanto as enzimas presentes se encarregam da liquefação. Dessa maneira, o ensilado permanece química e microbiologicamente estável por um longo período de tempo (Göhl, 1982).

Nas silagens ácidas, os reagentes de preservação utilizados podem ser ácidos orgânicos, ácidos inorgânicos ou uma mistura desses dois. Tais reagentes são adicionados aos resíduos de pescado picados ou moídos com o objetivo de diminuir o pH, provocando inibição do crescimento bacteriano (Beraquet & Galacho, 1983).

A ensilagem ácida é um processo seguro nos países tropicais, sendo produzida com muita facilidade. Podem ser utilizados quaisquer tipos de pescado ou de resíduos de pescado.

A atividade das enzimas proteolíticas presentes no pescado, responsáveis pela autólise protéica e lipídica do material ensilado, é acelerada por meio da adição de ácidos fracos ou fortes, sendo que essas enzimas alcançam atividade mais alta em valores de pH na faixa de 2,0 a 4,0 (Santana-Delgado et al., 2008).

Ao sofrer um tratamento mais brando do que os outros tipos de silagens, o processo de ensilagem química origina um produto com bom valor nutricional. Além disso, o produto poderá apresentar melhor qualidade higiênica, já que planta processadora pode se localizar no mesmo local da filetagem e o resíduo não fica muito tempo armazenado, evitando, assim, contaminação microbiológica (Costa et al., 2001; Benites, 2003).

Um dos pontos cruciais na elaboração da silagem química de pescado é a escolha do agente acidificante. Segundo Benites (2003), a escolha depende basicamente do custo, da disponibilidade e da ação bactericida. Podem ser usados ácidos inorgânicos (clorídrico, sulfúrico, etc.), orgânicos (acético, propiônico, fórmico, fosfórico, etc.) ou uma mistura desses dois.

As silagens produzidas apenas com ácidos inorgânicos devem ter pH próximos de 2 a fim de evitar a ação bacteriana (Dias, 1996). O uso de ácido clorídrico torna a silagem salgada, enquanto o ácido sulfúrico precipita o sulfato de cálcio (Costa et al., 2001).

O pH de silagem produzida com mistura de ácido fórmico com ácido sulfúrico e clorídrico fica na faixa de 4,0 a 5,0. Já a silagem produzida apenas com ácido inorgânico apresenta um pH em torno de 2,0, sendo necessária a neutralização do material ensilado antes do uso (Geron, 2003).

Kompiang (1981) destaca que, apesar do alto custo em relação aos ácidos minerais, os ácidos orgânicos produzem silagens menos ácidas e, por tal motivo, não exigem neutralização antes do uso.

O produto ensilado pelo processo químico possui odores ácidos agradáveis, responsáveis por manterem distantes os insetos, e não apresentam problemas em relação a alguns microorganismos patogênicos, como as salmonelas (Vidotti & Gonçalves, 2006).

2.4.3.1 Ácidos orgânicos na elaboração de silagem ácida

Devido à baixa solubilidade, à intensidade de sabor e à baixa toxicidade ao organismo humano, os ácidos orgânicos de cadeia curta, como o acético, benzóico, cítrico, propiônico, sórbico e láctico, são os mais comumente utilizados em alimentos (Soccol, 2002).

De acordo com a legislação brasileira, segundo o Decreto nº 55871 de 23/06/1965, os ácidos orgânicos são classificados como conservadores ou acidulantes (Brasil, 2001).

Os ácidos orgânicos são formalmente denominados ácidos carboxílicos. A presença do grupo carboxila (COOH) confere aos ácidos carboxílicos, entre outras propriedades, a de serem ácidos fracos em meio aquoso (Solomons, 1996).

Os ácidos orgânicos apresentam diversas aplicações na indústria de alimentos. Suas funções são variadas e amplas, mas nem todas são relacionadas à nutrição. Podem ser utilizados como aditivos, como agentes de processamento, sendo adicionados para o controle da alcalinidade de muitos produtos, e agir

como tampões ou simplesmente como agentes neutralizantes. Como conservantes, podem atuar desde agentes antimicrobianas até antioxidantes (Fiorucci et al., 2002).

A atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos de cadeia curta está relacionada ao fato de eles provocarem redução do pH e à capacidade de dissociação de suas carboxilas. Em estado não dissociado, os ácidos orgânicos de baixo peso molecular possuem a habilidade de penetração passiva na célula microbiana. Após a penetração, ocorre a liberação de prótons e ânions, o que acarreta o abaixamento do pH intracelular. O aumento da força iônica aumenta a pressão no interior da célula, causando a morte do microorganismo (Cherrington et al., 1991; Russel, 1992; Rodriguez-Palenzuela, 2000; Viola & Vieira, 2007).

Ácidos orgânicos como o fórmico, o acético, o propiônico, o butírico, o láctico, o cítrico e o fumárico são usados na nutrição animal há alguns anos (Cherrington et al., 1991; Dibner & Buttin, 2002; Viola & Vieira, 2007).

A presença de 1 a 2% de ácido acético não dissociado na carne, pescado e vegetais é geralmente eficiente para inibição bacteriana (Pardi et al., 1994; Soccol, 2002). De acordo com Luck (1981) mencionado por Soccol (2002), sobre um substrato acidificado a pH 3,0, a atividade antimicrobiana do ácido acético é de 10 a 100 vezes superior à de qualquer outro ácido. Atribui-se essa diferença ao fato de o ácido não dissociado penetrar mais intensamente na célula devido à sua lipossolubilidade.

Encontram-se, na literatura, diferentes formulações utilizadas para a obtenção de silagem ácida, muitas das quais sumarizadas na Tabela 1.

TABELA 1 Diferentes formulações para a silagem ácida de pescado

Matéria-prima	Ácido empregado	Referência
Rejeitos de peixe de água doce	Sulfúrico 5% (v/p)	Alvarez (1972)
Pescados confiscados	Fórmico 3% (v/p)	Tatterson & Windsor (1974)
Fauna acompanhante do camarão	Sufúrico+Fórmico (1:1) 3,5%v/p	Cordova & Bello (1990)
Tilápia (<i>Sarotherodon niloticus</i>)	Fórmico 3% (p/p)	Sales (1992)
Sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>)	Fórmico+Propiônico (1:1) 3% v/p	Valério (1994)
Resíduos a filetagem de tilápias e descartes de peixes de água doce	Sulfúrico 2%+ Fórmico2%	Secco et al. (2002)
Sardinha (<i>Sardinella longiceps</i>)	Fórmico+Propiônico (1:1) 1,5mL kg ⁻¹	Goddard & Perret (2005)
Cabeça, carcaça e vísceras de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Fosfórico (2%v/p)+ Acético (3%).	Bueno (2006)
Cavala Espanhola (<i>Scomberomorus maculatus</i>)	Sulfúrico (1,3%) + Propiônico (1,0%)	Santana-Delgado et al. (2008).

2.5 Variáveis de qualidade das silagens de pescado

Os autores que trabalham com silagem são unânimes ao dizer que o material ensilado apresenta composição química muito semelhante ao material de origem, sendo de alto valor nutricional. As transformações químicas que ocorrem durante o armazenamento nos atributos químicos e nutricionais influenciam diretamente na qualidade do produto final, sendo de primordial interesse o conhecimento dessas transformações. Entre as principais variáveis de qualidade das silagens têm-se:

2.5.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH é um importante indicativo da qualidade das silagens ácidas, uma vez que as enzimas que liquefazem a matéria-prima, tornando-a mais digestível pela transformação das proteínas em peptídeos, são ativadas a baixos valores de

pH, além de contribuir para a preservação da biomassa ensilada inibindo o crescimento de microorganismos deteriorantes. O pH convencional dos ensilados químicos varia entre 3,9 e 4,2. Essa faixa pode variar de acordo com o tipo de ácido utilizado. Para o ácido acético Espe et al. (1989), constataram que os processos hidrolíticos podem ocorrer em pH de 4,0 a 4,5 devido à ação antimicrobiológica desse ácido. Já para ácidos inorgânicos essa faixa é menor, visto que se dissociam em pH menores.

2.5.2 Temperatura

Em temperaturas ambiente de 27 a 30^o C ocorre hidrólise da biomassa ensilada, separando a camada de lipídeos e conservando a atividade enzimática por muitos meses (Backhoff, 1976 citado por Vidotti, 2001). O aumento da temperatura aumenta a velocidade das reações, diminuindo o tempo de hidrólise, fato confirmado por trabalhos de Jackson et al. (1984) e Santana-Delgado et al. (2008), o que melhora a digestibilidade do material ensilado.

2.5.3 Composição centesimal

A análise de composição centesimal dos alimentos começou em 1864 com base em métodos propostos por Weende, sendo utilizada até os dias atuais, com algumas modificações. Exprime o valor nutritivo dos alimentos, de forma grosseira, correspondendo à proporção dos grupos homogêneos de substâncias pesentes em 100 g do mesmo (Vilas Boas, 1999).

A composição centesimal varia de uma espécie de pescado para outra e até entre a mesma espécie, dependendo da época do ano, tipo de alimentação, grau de maturação gonadal e sexo. Além disso, pode apresentar variação no mesmo peixe, dependendo da parte analisada (Sales, 1995). Apesar das alterações nas estruturas física e química do peixe, o valor nutricional da silagem assemelha-se ao material que lhe deu origem (Borghesi et al., 2007).

A Tabela 2 mostra a composição centesimal de diferentes silagens ácidas.

TABELA 2 Composição percentual de vários peixes com uso de diferentes ácidos.

Material usado	Tratamento com ácido*	Umidade (%)	Extrato etéreo (%)	Proteínas (%)	Cinzas (%)
Arenque inteiro	3% HCOOH	10,3	9,1	12,4	4,0
Arenque inteiro	pH 2,0 (HCL) +1% HCOOH	10,2	8,6	11,3	3,9
Cavala inteira	pH 3,0 (HCL) +1% HCOOH	9,8	1,1	19,8	-
Peixe inteiro	pH 3,0 (HCL) +1% HCOOH	9,9	2,6	18,8	6,9
Cabeça e vísceras	pH 3,0 (HCL) +1% HCOOH	10,1	3,7	15,4	8,4
Esqueleto (c/ cabeça)	pH 3,0 (HCL) +1% HCOOH	11,3	4,0	14,1	12,1
Somente cabeças	pH 3,0 (HCL) +1% HCOOH	8,5	4,8	17,5	9,3
Vísceras	pH 2,0 (HCL) +1% HCOOH	8,3	8,3	10,2	2,4
Músculos	pH 2,0 (HCL) +1% HCOOH	8,8	0,4	17,3	2,7
Camarão	pH3,0(HCL)+ 0,5%HCOOH	8,6	11,0	15,6	7,5

*HCOOH: ácido fórmico ou metanóico; HCL: ácido clorídrico

Fonte: Disney & Hoffman (1978) adaptado de Sales (1995).

2.5.3.1 Umidade

A capacidade da molécula de água formar pontes de hidrogênio e de participar de outras interações eletrostáticas explica porque ela é um solvente eficaz para uma ampla gama de compostos (Pratt & Cornely, 2006). A água participa de muitas reações químicas (Araújo, 2004), podendo causar transformações nos demais nutrientes de um alimento. Oliveira et al. (2006),

explicam que a obtenção de silagem com teor mais baixo de umidade é importante para a formulação de rações, visando melhor estabilidade microbiológica do material.

2.5.3.2 Extrato etéreo (lipídios totais)

Uma das variáveis de qualidade das silagens é seu conteúdo em lipídios. Os lipídios compreendem uma mistura de tri, di e monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, glicolipídios, fosfolipídios, esteróis e outras substâncias (Cosgrove et al., 1987; Arruda, 2004; Ramalho & Jorge, 2006). O termo extrato etéreo descreve o grupo de gorduras, óleos e todas as substâncias solúveis em éter (Cecchi, 2003). O óleo de pescado contém os mesmos tipos de ácidos graxos que outros óleos e gorduras, diferindo apenas em seu conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (Barlow & Young, 1996; Morais et al., 2001).

O teor de lipídio nas silagens de pescado varia com o tipo de espécie utilizada e com a estação de captura (Brown & Summer, 1985; Arruda, 2004). A fração lipídica obtida pelo processo de silagem pode ser desacidificada e caracterizada como óleo de pescado no estado bruto (Nunes, 2001).

Esse produto pode ser obtido a partir do processo de ensilagem ácida de resíduos de pescado. Tal óleo constitui uma importante fonte de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) essenciais, principalmente da família ω -3 (Burr, 1989; Morais, 2000; Cunha, 2001).

A Tabela 3 sumariza os índices de identificação do óleo de tilápia obtido no processo de fabricação da farinha de pescado, na qual se verifica a predominância de ácidos graxos insaturados (com destaque aos monoinsaturados).

TABELA 3 Índices de qualidade e identificação do óleo de tilápia obtido no processamento da farinha pescado.

Índice de identificação	%
Lípido Total	96,00
Índice de iodo (CgI/g)	77,18
Ácidos graxos:	
Saturados (AGS)	34,78
Monoinsaturados (AGMI)	41,41
Poliinsaturados (AGPI)	19,50
Ácidos Graxos série ômega 3	3,08
Ácidos Graxos série ômega 6	16,11
Relação n3 : n6	19,10
Relação AGPI : AGS	56,06
Índice de qualidade	
Ácidos graxos livres (g/100g)	2,45
Índice de peróxido (meq/kg)	6,80

Fonte: Vidotti & Gonçalves (2006).

O perfil de ácidos graxos da silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias foi avaliado por Borghesi (2004). Os teores de ácidos graxos observados pelo autor encontram-se listados na Tabela 4. Os resultados obtidos pelo autor (Borghesi, 2004), evidenciam o elevado teor de ácidos graxos insaturados em silagens, como foi observado por Vidotti & Gonçalves (2006), com o óleo de peixe proveniente do processamento da farinha de peixe, indicando que a silagem ácida pode ser fonte promissora de óleo de pescado.

TABELA 4 Ácidos graxos presentes em silagem ácida de resíduo da filetagem de tilápia.

Ácidos Graxos	Teor de ácidos graxos (g/100g de lipídeos)
Dodecanóico	0,11
Mirístico	4,74
Pentadecanóico	0,81
Palmítico	33,19
Palmitoléico	9,94
Margárico	0,56
Esteárico	5,60
Oléico	28,60
Linoléico	16,30
Linolênico	3,10
Octadecatetraenóico	1,50
Araquídico	1,30
Cis-11-eicosenóico	1,60
eicosapentaenóico	<0,01
Docosahexaenóico	<0,01

Fonte: Borghesi (2004).

Os ácidos graxos que participam do óleo de pescado são altamente insaturados, sendo esses mais susceptíveis ao processo oxidativo, o que pode afetar a qualidade nutricional das silagens, indisponibilizando proteínas e aminoácidos ou afetando negativamente o sabor do produto (Arruda, 2004; FAO, 2008). As enzimas bacterianas que atuam no pescado (principalmente após o *rigor mortis*) iniciam o processo de putrefação e os peróxidos se decompõem, causando a rancidez oxidativa (Nunes, 2001).

O período de abertura dos silos constitui um ponto importante na manutenção das propriedades nutricionais dos lipídeos presentes na silagem. Nessa etapa, a presença do oxigênio pode acelerar o processo de oxidação (rancidez) dos ácidos graxos livres insaturados, formados no processo de ensilagem (Carvalho et al., 2006).

A oxidação lipídica consiste na cisão oxidativa de ácidos graxos, que pode ser iniciada por via enzimática (ação da lipoxigenase) ou não enzimática por fatores como calor, luz, oxigênio e traços de metais, além de processos hidrolíticos catalisados por umidade (água). A oxidação lipídica está associada com o desenvolvimento do ranço (Araújo, 2004; Stevanato et al., 2007).

Todavia Ramalho & Jorge (2006), ressaltam que a autoxidação é o principal mecanismo de degradação de óleos e gorduras. A Figura 3 propõe um mecanismo para esse processo.

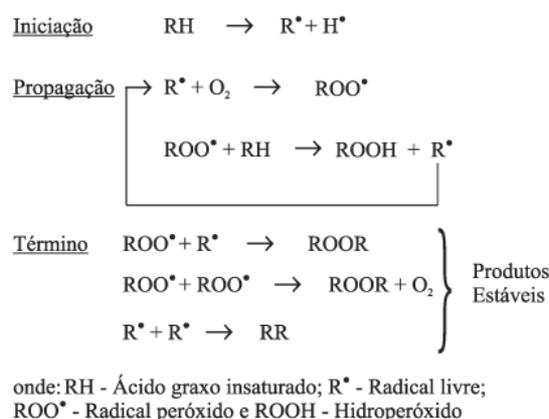


FIGURA 3 Mecanismo da autoxidação lipídica proposto Farmer (1942).
Fonte: Ramalho & Jorge (2006).

Os principais efeitos da oxidação sobre o valor nutritivo dos alimentos são degradação lipídica a produtos primários, como os hidroperóxidos, e reações subseqüentes, que alteram diversas propriedades biologicamente importantes, como a qualidade sensorial (Stevanato et al., 2007).

Após a fase de iniciação, caracterizada pela remoção do hidrogênio do ácido graxo insaturado por ação do radical livre, ocorre a formação de mais de 60 produtos finais, muitos dos quais citotóxicos (Piedade, 2007).

Radicais oriundos da oxidação lipídica podem afetar negativamente o valor nutricional das silagens pelo fato de reagirem com as proteínas (Raa & Gilbert, 1982). A oxidação produz compostos carbonílicos, ácidos graxos de cadeia curta e radicais, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de ranço e perda de valor nutritivo (Papas, 1999; Araújo, 2001).

A oxidação lipídica pode ser evitada adotando-se medidas preventivas, tais como manter ao mínimo os níveis de energia (temperatura e calor); evitar a presença de metais traço no material e o contato com o oxigênio. Entretanto, o processo autocatalítico da oxidação lipídica só pode ser interrompido pela ação de antioxidantes.

Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, seqüestrando radicais livres e quelando íons metálicos. Os antioxidantes mais utilizados na indústria de alimentos são butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG) (Rodrigues et al., 2003; Ramalho & Jorge, 2006; Piedade, 2007).

Santana-Delgado et al. (2008), realizaram um estudo sobre a influência de antioxidante na silagem ácida de cavala espanhola. Os autores utilizaram o antioxidante TBHQ na concentração de 200 mg.kg⁻¹ em relação ao teor lipídico. Foi observado que após 60 dias de ensilagem, o teor de malonaldeído, composto formado pela decomposição dos peróxidos lipídicos, sofreu decréscimo (de 42 mg kg⁻¹ para 24 mg kg⁻¹), indicando a proteção da silagem realizada pelo TBHQ.

O potencial antioxidante do extrato de cebola (*Allium cepa*) foi estudado por Fagbenro & Jauncey (1998), no controle da oxidação lipídica em silagem biológica utilizando tilápia (*Oreochromis niloticus*) como matéria-prima. Foram preparadas 3 silagens: A- com o uso da etoxiquinona como antioxidante referência (250mg.kg⁻¹); B- com uso de extrato de cebola (50mL. kg⁻¹); e C-

controle (silagem sem antioxidante). As silagens foram estocadas por 180 dias. Os autores observaram que a adição de antioxidantes (etoxiquinona e extrato de cebola) não inibiu a formação dos peróxidos, entretanto preveniu a formação futura do hidroperóxido, protegendo as silagens desse forte agente oxidante. O teste de TBA (ácido tiobárbítico) indicou que o uso de 50mL.kg⁻¹ de extrato de cebola foi tão efetivo quanto o uso de 250mg.kg⁻¹ de etoxiquinona.

Diversos autores têm optado pelo uso de BHT na confecção de silagens. O BHT é um antioxidante sintético que possui estrutura fenólica (Figura 4) e atua doando um próton ao radical livre, interrompendo o mecanismo da oxidação (Ramalho & Jorge, 2006).

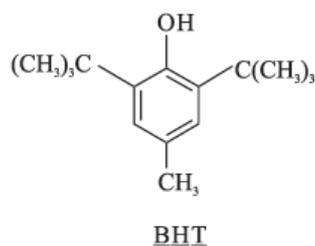


FIGURA 4 Estrutura química do BHT (Butilhidroxitolueno).
Fonte: Ramalho & Jorge (2006).

Kompiang (1981) destaca que existe relação direta entre o escurecimento provocado por reações de lipídeos e a diminuição do valor nutritivo, sendo o valor nutricional das silagens afetado negativamente durante o armazenamento.

As características físico-químicas dos óleos de pescado e demais óleos podem ser medidas através das variáveis:

- Índice de peróxido: indica o grau de oxidação do óleo. Quando as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados são oxidadas, formam-se peróxidos que oxidam o iodeto de potássio, liberando o

iodo. A quantidade de iodo liberado é uma medida da quantidade de peróxidos existentes que estão relacionados com o grau de oxidação do óleo (Ribeiro & Seravalli, 2004).

- Índice de acidez: mede a quantidade de ácidos graxos livres, que são hidrolisados por água (a elevadas temperaturas) ou por enzimas lipolíticas naturais nos alimentos. A acidez é medida pela titulação com NaOH utilizando fenolftaleína como indicador (Araújo, 2004).
- Índice de saponificação: indica a proporção entre ácidos graxos de cadeia longa e de ácidos graxos de cadeia curta. Mensura a quantidade de base necessária para saponificar determinada quantidade de óleo (Araújo, 2004).
- Índice de Iodo: é a medida da insaturação de óleos ou gorduras, expresso em número de gramas de iodo absorvido por 100g de amostra (Araújo, 2004).

Grunenvaldt et al. (2005) caracterizaram físico-quimicamente óleos refinados de pescado da espécie corvina (*Micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de silagem ácida (OSA) e termomecânico (OT). Os valores encontrados para os índices de peróxido (meq O₂/kg), de saponificação (mgKOH/g) e de iodo (cgI₂/g) para os óleos (a) OSA e (b) OT foram de: (a)1,7 (b) 1,8; (a)182,6 (b) 182,7 e (a)135,3 (b) 134,8; respectivamente. Os autores concluíram que o óleo de pescado refinado de corvina obtido pela silagem ácida apresentou características semelhantes ao obtido via processo termodinâmico.

2.5.3.3 Proteínas

O uso das proteínas de pescado, de espécies de baixo valor comercial ou de subprodutos de sua industrialização constitui excelente alternativa para a

elaboração de produtos alimentícios de alta qualidade nutricional e economicamente viáveis (Vaz, 2005).

O valor biológico de uma proteína refere-se à qualidade dos aminoácidos presentes. Os aminoácidos presentes no pescado são considerados de primeira ordem, sendo justificado o elevado valor nutritivo designado ao alimento (Machado, 1984).

A alta susceptibilidade à hidrólise e a composição balanceada em aminoácidos, particularmente daqueles que costumam ser os limitantes em proteínas de origem vegetal, como a metionina e a cisteína, caracterizam o alto valor biológico das proteínas de pescado (Neves et al., 2004).

Espe et al. (1989) mencionam que o grau de hidrólise protéica pode ser usado como critério químico para avaliar a silagem de pescado. Essa variável mensura a extensão da degradação da hidrólise da proteína e é definida por Mahmoud (1994) citado por Holanda (2004), como o número de cadeias de peptídios clivados ou o número dos grupos α -amino livres formados durante a proteólise, expresso em hidrólise equivalente (h), em relação ao número total das cadeias de peptídios (h_{total}).

As proteínas podem ser hidrolisadas por via química (por meio da adição de ácido ou base) ou por via enzimática. Como resultados da hidrólise surgem pequenos peptídeos de tamanhos diversos, obtendo-se produtos com características específicas, distribuição de aminoácidos e de peso molecular variado e certa quantidade de proteína residual intacta (Lahl & Braun, 1994; Holanda, 2004).

Enzimas endógenas como a pepsina, presente no estômago do pescado, e as enzimas lisossomais, como as catepsinas, atuam na hidrólise protéica (An et al., 1994; Viana et al., 1996; Kuhn & Soares, 2002).

Durante o processo de ensilagem, as proteínas são hidrolisadas pelas enzimas e o nitrogênio torna-se mais solúvel. Essa autólise é acelerada ao se

acrescentarem ácidos fracos ou fortes, sendo que a mais alta atividade proteolítica é alcançada em pH entre 2 e 4. A proteólise é mais acentuada durante a primeira semana de ensilagem. Nesse período, a maioria das proteínas presentes na biomassa é transformada em peptídeos e aminoácidos livres. Estas alterações podem melhorar a digestibilidade da silagem (Hassan & Heath, 1987; Morales-Ulloa & Oetterer, 1997).

Todavia, alguns aminoácidos livres podem ser precursores de amins biogênicas, compostos que podem representar um risco potencial na silagem de peixe, podendo ser tóxicos a alguns animais (Krizek, 1991; Dapkevicius et al., 2000).

Valério (1994), estudando as modificações do nitrogênio protéico durante a ensilagem ácida de sardinha (*Sardinella brasiliensis*), verificou que ao final do experimento (4 semanas), 36,28% do nitrogênio total estavam sob a forma de nitrogênio não protéico.

A solubilização de nitrogênio na silagem ácida de *Micrometisus poutassou* foi avaliada por Dapkevicius et al. (1998). No experimento foram elaboradas três silagens ácidas: (1) pescado+ ácido fórmico (97:3); (2) pescado + ácido fórmico + formaldeído (96,75:3:0,25); e (3) pescado + ácido fórmico + formaldeído (96,57:3:0,43). Segundo os autores, a solubilização da proteína na silagem foi mais rápida nos dois primeiros dias, entretanto continuou até o fim do experimento (15 dias). Após esse período, o teor de nitrogênio não protéico para as combinações (1), (2) e (3) foi de 85, 35 e 27%, respectivamente. Esses valores indicam que o formaldeído provocou redução na solubilização da proteína.

Tatterson (1982), salienta que a solubilidade do nitrogênio é dependente da temperatura. A Figura 5 mostra a variação dos teores de nitrogênio solúvel (em relação ao nitrogênio total) sob diferentes temperaturas em silagens de espadilhas “sprats” (*Clupea sprattus*) ao longo de 20 dias de armazenamento.

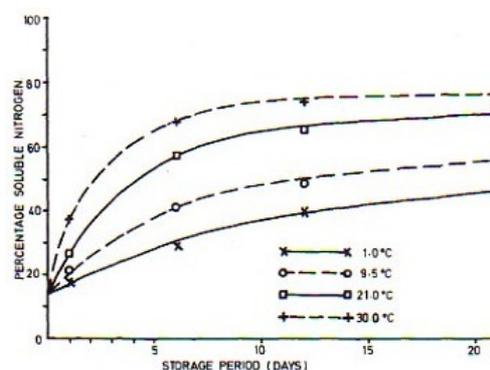


FIGURA 5 Nitrogênio solúvel como porcentagem do nitrogênio total durante o armazenamento de silagem de *Chupea sprattus*.

Fonte: Tatterson (1982).

2.5.3.4 Cinzas (resíduo mineral fixo)

Cinzas são os produtos obtidos após o aquecimento de uma amostra, à temperatura de 500 a 600°C, para a combustão da matéria orgânica (Silva, 1990). A fração cinza é uma importante variável de qualidade por guardar os minerais presentes nas silagens; assim, quanto mais elevado for o seu teor, maior valor nutritivo terá o alimento, tanto para o uso como ração como para o consumo humano (Moralles-Ulloa, 1994).

2.5.4 Características microbiológicas

Os microorganismos estão intimamente associados com a disponibilidade, a abundância e a qualidade dos alimentos, os quais são facilmente contaminados na natureza, durante a manipulação e o processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para o crescimento de microorganismos. Se esses microorganismos tiverem condições de crescer, podem mudar as características físicas e químicas do alimento e causar a sua deterioração. Os microorganismos podem também ser responsáveis por

intoxicações e infecções transmitidas por alimentos (Pelczr Júnior et al., 1997 citados por Silva, 2002).

As condições microbiológicas de produtos pesqueiros dependem de vários fatores, como a natureza do produto, os processos de tratamento a que foram submetidos, as condições sanitárias do ambiente e de processamento pelas indústrias, o tipo de temperatura em que foram armazenados, o tempo de estocagem, os tipos e estágios de crescimento de microorganismos presentes e os processos de descongelamento, entre outros. Tais fatores também devem ser observados nos restos orgânicos gerados pelo processamento do pescado, pois no momento em que se realiza o corte, o resíduo apresenta praticamente as mesmas condições sanitárias do pescado que lhe deu origem.

A viabilidade de se utilizarem resíduos do pescado como matéria-prima para a elaboração de novos produtos está diretamente relacionada com a qualidade dos resíduos gerados nas linhas de produção. Esta pode ser comparada com a qualidade dos produtos oferecidos pelas empresas, uma vez que estes são originados simultaneamente. Dessa forma, alterações *post-mortem* nos tecidos de pescados (processos enzimáticos e contaminação microbiológica) são fatores que podem alterar a qualidade do rejeito e comprometer o processo de aproveitamento deste material (Pessati, 2001).

A maioria dos microorganismos cresce bem em valores de pH em torno de 7,0 (6,6-7,5), apesar de alguns poucos crescerem em pH abaixo de 4,0. As bactérias tendem a ser mais exigentes em termos de pH do que os bolores e leveduras, sendo as bactérias patogênicas ainda mais exigentes (Jay, 2005). A Figura 6 mostra a faixa aproximada de pH de crescimento de alguns microorganismos encontrados nos alimentos. De acordo com Jay (2005), os limites representados na figura abaixo não são precisos, uma vez que esses valores são dependentes de outras variáveis de crescimento.

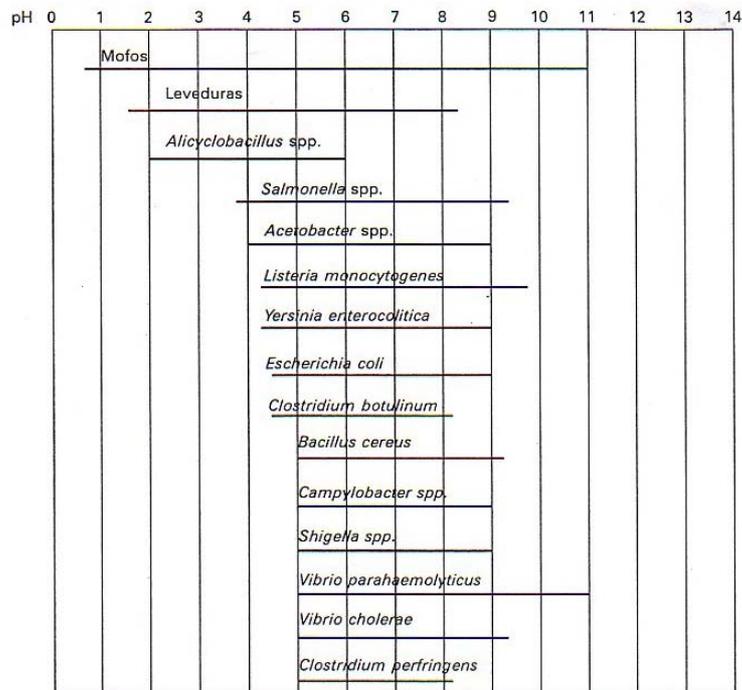


FIGURA 6 Faixa aproximada de pH de crescimento de alguns microorganismos encontrados em alimentos.

Fonte: Jay (2005).

A maioria dos fungos de importância na deterioração dos alimentos é aeróbia e cresce em uma ampla faixa de pH e temperatura (5°C a 35°C), conforme a Figura 8. Algumas espécies podem se desenvolver fora destes limites. Uma vez que o crescimento tenha se estabelecido, poderão ocorrer alterações no pH do produto, para a faixa de pH (4,0 e 6,5) mais favorável ao seu crescimento (Downes & Ito, 2001), podendo ocorrer o desenvolvimento de bactérias patogênicas. A microflora do pescado de água doce, capturado em água sem poluição aparente, é composta principalmente de bactérias Gram negativas como *Moraxella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Actinobacter*,

Micrococcus, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Corynebacterium* (International Commission on Microbiological Specification for Foods, ICMSF, 1978).

De acordo com Beerli et al. (2004), os resíduos de truta, assim como de qualquer outro pescado, contêm grande quantidade de microrganismos e, para ser eficiente, o processo de silagem ácida deve reduzir essa quantidade, tornando o resíduo utilizável para a alimentação animal. Segundo Dias (1996), é necessário que a silagem produzida apenas com ácidos inorgânicos tenha um pH de 2.0 para evitar a ação bacteriana.

Benites (2003), estudando silagens ácidas elaboradas a partir de resíduos castanha (*Umbrina canosai*) e pescada olhuda (*Cynoscion guatacupa*), utilizou o ácido acético glacial (10% p/v) e diluído (ácido acético na concentração de 4% aplicado na proporção 1:1 aos resíduos). A autora concluiu que o ácido acético comercial (vinagre), com concentração de 4%, obteve uma ação satisfatória sobre os microrganismos apenas no início do período de ensilagem. Além disso, em regiões que propiciam que a hidrólise ocorra mais rapidamente, principalmente em função da temperatura média ambiental alta (acima de 25°C), ele tem potencial de utilização. Já em regiões de clima subtropical, o período de silagem torna-se mais longo; como consequência, o emprego de vinagre deve ser cuidadoso, pois o controle dos microrganismos pode não ser efetivo, ou seja, neste caso, o emprego de ácido acético P.A. é mais eficaz.

2.6 Digestibilidade de silagens de pescado na alimentação de peixes

A qualidade do alimento e as considerações econômicas são fundamentais na utilização de subprodutos da industrialização de pescados para a alimentação animal (Fagbenro & Jauncey, 1995).

Para balancear uma ração, visando à determinação das exigências nutricionais de qualquer animal, é necessário que se conheça a habilidade destes em utilizar os alimentos que farão parte da ração, ou seja, a digestibilidade do

alimento. Benites (2003) ressalta que é importante a determinação da qualidade do produto ao término da ensilagem por meio de ensaios biológicos, visando determinar a adequacidade da silagem ao animal desejado.

Uma das principais características das rações para peixes é o elevado conteúdo de proteína, nutrientes necessários à construção do tecido muscular e à produção de outras proteínas fundamentais ao funcionamento do organismo desses animais. Arginina, histidina, treonina, tirosina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina e lisina são os aminoácidos essenciais requeridos pelas tilápias, que devem ser obtidos via alimentação (Kubitza, 2000; Guilherme et al., 2007).

Para Hiquera (1987), o valor nutritivo de um alimento depende não somente de seu conteúdo em nutrientes, mas também da capacidade do animal para digerir e absorver esses nutrientes, que varia em função da espécie, das condições ambientais, da quantidade e qualidade do nutriente, entre outros fatores. Assim, a digestibilidade descreve a fração do nutriente ou da energia do alimento ingerido que não é excretada nas fezes (National Research Council, NRC, 1993).

Portanto, a utilização da silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápia na alimentação animal requer o conhecimento de sua digestibilidade para as diferentes espécies.

Diversos pesquisadores têm estudado a viabilidade da implementação da silagem na alimentação animal, a qual possui valor nutritivo próximo ao da farinha de pescado e, dependendo da condição higiênico-sanitária em que foi produzida, pode servir de complemento na alimentação humana (Valério, 1994; Benites, 2003). Ogawa & Maia (1999), ratificam o que foi anteriormente enunciado e acrescentam que a complementação com a silagem não deve passar de 20% da proteína total da dieta e o teor de lipídios não deve exceder o teor de 1% (para evitar o odor de pescado na dieta).

A alimentação de peixes representa 50% dos custos de operação na aquicultura intensiva, tendo as proteínas como ingrediente mais caro das dietas (El-Sayed, 1999). A farinha de peixe é a fonte protéica de origem animal mais utilizada em dietas para peixes. Alguns autores reportam um aumento no preço da farinha de peixe nos últimos anos devido à progressiva escassez da mesma no mercado mundial (New & Csavas, 1995; Furuya, 2000; Borghesi et al., 2007).

Uma das metas das indústrias produtoras de rações animais é o uso de subprodutos agrícolas visando à minimização dos custos operacionais, agregando valor e qualidade nutricional ao produto (Pezzato et al., 1995; Benites, 2003).

Um dos usos alternativos da silagem de pescado na aquicultura é proveniente da semelhança com a matéria-prima que lhe originou, apresentando proteínas de alta digestibilidade e baixo custo (Fagbenro & Jauncey, 1995; Goddard & Al-Yahyai, 2001 citados por Borghesi et al., 2007).

Oliveira et al. (2006), estudando o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), da proteína bruta (CDAPB), do extrato etéreo (CDAEE) e da energia bruta (CDAEB) de silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias para alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) encontraram CDAMS=95,49%, CDAPB=96,66%, CDAEE=97,18% e CDAEB=95,44%. Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes indicaram que a silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápia pode ser eficientemente utilizada pela tilápia nilótica.

A alta digestibilidade da silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias também foi verificada em girinos de rã touro por Oliveira et al. (2008). Os valores dos Coeficientes de Digestibilidade Aparente para os nutrientes matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e energia bruta foram de 95,48; 95,90; 99,25 e 95,75%, respectivamente.

Dois tipos de silagens fermentadas de resíduos de camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), uma utilizando melaço (SM) e outra utilizando resíduos da produção de farinha láctea (SF) como fonte de carboidrato, foram comparadas por meio do teste de digestibilidade *in vivo* com juvenis de tilápia do Nilo por Gonçalves & Viegas (2007). Os Coeficientes de Digestibilidade Aparente em termos de proteína bruta foram semelhantes para as duas silagens (SM=78,25% e SF=73,12%), apontando que, independentemente da fonte de carboidrato utilizada para a obtenção da silagem fermentada, ambas apresentaram bons valores de digestibilidade.

Borghesi (2004), ao avaliar o coeficiente de digestibilidade de silagem ácida, fermentada e enzimática de resíduos da filetagem de tilápias em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), chegou à conclusão de que a silagem ácida e a enzimática, de maneira geral, apresentaram melhores resultados que a silagem biológica. O autor acrescenta que a silagem ácida é de mais fácil elaboração, sendo, assim, recomendado o uso desta em dietas para peixes.

Akeson & Stahmann (1964) propõem o método da digestibilidade protéica *in vitro*. Segundo tais autores, o teste *in vitro* é mais rápido e adequado à seleção de novos alimentos protéicos, o qual tem como base submeter a amostra à digestão enzimática (pepsina e pancreatina), sendo a digestibilidade da amostra obtida através da relação entre os teores de nitrogênio total da amostra, de nitrogênio digerido, de nitrogênio produzido pela autodigestão das enzimas (branco enzima) e de nitrogênio originalmente solúvel na amostra.

Valério (1994) realizou análises de digestibilidade *in vitro* de silagem ácida (AS), silagem enzimática-pepsina (SE1) e silagem enzimática-protease fúngica (SE2) de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) após uma semana de ensilagem. Para a confecção de SE1 e SE2, foi utilizado ácido como pré-tratamento. A autora observou os seguintes percentuais de digestibilidade protéica: 68,00% (AS); 66,90% (SE1) e 71,70% (SE2). A SE2 apresentou o

maior percentual de digestibilidade protéica *in vitro*, sugerindo a utilização de protease como aceleradora do processo e ensilagem química.

3 Referências Bibliográficas

AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 83, n. 3, p. 257-261, Nov. 1964.

ALVAREZ, R. J. Estudio comparativo del valor nutricional de la proteína del ensilaje de pescado. **Revista Cubana Ciencia Agricola**, Havana, v. 6, p. 231-237, 1972.

AN, H.; WEERASINGHE, V.; MORRISSEY, M. T. Cathepsin degradation of pacific whiting surimi proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 5, p. 1013-1017, Sept. 1994.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2001. 416 p.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. 478 p.

ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 2004. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Classificação de resíduos**: NBR 10004. Rio de Janeiro, 2004. p. 71.

BARLOW, S. M.; YOUNG, V. **World fish oils: an update**. [S.l.]: International Fishmeal and Oils Manufacturers Association, 1996. p. 33-37.

BARRAL, A.; CASTAÑON, C.; BERGAMASCHI, N. Y ROTH, R. Ensilados ácidos de pescado. **La Indústria Cárnica**, v. 17, n. 76, p. 43-47, 1989.

BEERLI, E. L.; BEERLI, K. M. C.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 196-200, 2004.

BELLO, R.; CARDILLO, E.; MARTÍNEZ, R. Estudio sobre la elaboración de ensilado microbiano a partir de pescado eviscerado. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 43, n. 3, p. 221-227, 1993.

BENITES, C. I. **Farinha de silagem de resíduo de peixe**: elaboração, complementação com farelo de arroz e avaliação biológica em diferentes espécies. 2003. 159 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

BERAQUET, N. J.; GALACHO, S. A. A. **Composição, estabilidade e alterações na fração protéica e no óleo de ensilados de resíduos de peixe e camarão**. Campinas: ITAL, 1983. p. 149-174. (Coleção ITAL, 13).

BORGHESI, R. **Avaliação físico-química, nutricional e biológica das silagens ácida, biológica e enzimática elaboradas com descarte e resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2004. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

BORGHESI, R.; PORTZ, L.; OETTERER, M.; CYRINO, J. E. P. Apparent digestibility coefficient of protein and amino acids of acid, biological and enzymatic silage for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 1-7, Feb. 2007.

BOSCOLO, W. R. **Farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápia na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2003. 83 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 539-545, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto 50.040 de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS. **Compêndio de legislação de alimentos**. São Paulo: ABIA, 2001. v. 1.

BROWN, N.; SUMMER, J. Fish silage. In: RELLY, A. **Spoilage of tropical fish and products development**. Roma: FAO, 1985. p. 404-413.

BUENO, R. J. **Silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias em dietas de alevinos de piauçu *Leporinus macrocephalus***. 2006. 54 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jabotical, SP.

BURR, M. L. Fish and the cardiovascular system. **Progress in Food Nutrition Science**, v. 13, n. 3/4, p. 291-316, 1989.

CAMARGO, S. G. O.; POUHEY, J. L. O. F. Aqüicultura: um mercado em expansão. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 393-396, out./dez. 2005.

CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. da; CARVALHO, B. M. A. de. Silagem de resíduo de peixes em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 126-130, jan./fev. 2006.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. rev. Campinas: UNICAMP, 2003. 207 p.

CHERRINGTON, C. A.; HINTON, M.; CHOPRA, I. Organic acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications. **Advances Microbiological Physiology**, v. 32, p. 87-108, 1991.

COELLO, N.; BRITO, L.; NONUS, M. Biosynthesis of L-lysine by *Corynebacterium glutamicum* grown on fish silage. **Bioresource Technology**, Essex, v. 73, n. 3, p. 221-225, July 2000.

CORDOVA, E.; BELLO, R. Obtención de ensilado a partir de la fauna de acompañamiento del camarón. **Archivos Latinoamericano de Nutrición**, Caracas, v. 36, n. 3, p. 522-536, 1990.

COSGROVE, J. P.; CHURCH, D. F.; PRYOR, W. A. The kinetics of the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Lipids**, v. 22, n. 5, p. 299-304, 1987. Disponível em:
<<http://www.springerlink.com/content/5468347807q7w240/fulltext.pdf>>.
Acesso em: 12 fev. 2008.

COSTA, C. S.; SCHOFFEN, D. B.; SILVA, L. A. **Estudo do processamento de silagem e da possibilidade de sua implantação industrial.** 2001. 112 p. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

CUNHA, D. C. **Estudo da etapa de “winterização” no processo de refino do óleo de pescado para fins farmacêuticos.** 2001. 122 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

DAPKEVICIUS, M. L. E.; BATISTA, I.; NOUT, M. J. R.; ROUMBOUTS, F. M. Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micrometisus poutassou* Risso) by acid and biological methods. **Food Chemistry**, London, v. 63, n. 1, p. 92-102, Sept. 1998.

DAPKEVICIUS, M. L. N. E.; NOUT, M. J. R.; ROUMBOUTS, F. M.; HOUBEN, J. H.; WYMENGA, W. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 57, n. 1/2, p. 107-114, June 2000.

DIAS, J. L. S. **Silagem ácida de peixe: manuseio de salmonídeos.** [S.l.: s.n.], 1996. 40 p.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 11, n. 4, p. 453-463, 2002.

DISNEY, J. G.; JAMES, D. **Fish silage production and its use.** Rome: FAO, 1980. 105 p. (FAO. Fisheries Report, 230).

DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4. ed. Washington, DC: ASM, 2001. 676 p.

EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1/4, p. 149-168, Sept. 1999.

ESPE, M.; RAA, J.; NJAA, L. R. Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 49, n. 3, p. 259-270, 1989.

FAGBENRO, O. A.; JAUNCEY, K. Physical and nutritional properties of moist fermented fish silage pellets as a protein supplement for tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 71, n. 1/2, p. 11-18, Mar. 1998.

FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K. Water stability, nutrient leaching and nutritional properties of moist fermented fish silage diets. **Aquaculture Engineering**, v. 14, n. 2, p. 143-153, 1995. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science?>>. Acesso em: 05 mar. 2008.

FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. G.; SUNDRALINGAM, S.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. **Transactions of the Faraday Society**, London, v. 38, p. 348-358, 1942.

FIORUCCI, A. R.; HERBERT, M.; SOARES, F. B.; CAVALHEIRO, A. T. G. Ácidos orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em nosso cotidiano. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 15, p. 51-56, maio 2002.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: most important aquaculture species of the 21st century. In: PROCEEDINGS INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 2000, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ISTA, 2000. p. 3-8.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION. Feeding Pigs in the Tropics. **FAO Animal Production and Health**, n. 132. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/publications/en>>. Acesso em: 10 set. 2008.

FURUYA, W. M. **Digestibilidade aparente de aminoácidos e substituição da proteína da farinha de peixe pelo farelo de soja com base em proteína ideal em rações para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2000. 69 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP.

GERON, L. J. V. **Produção e utilização da silagem do resíduo da filetagem de tilápias na alimentação de ruminantes**. 2003. 86 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade de Estadual de Maringá, Maringá, PR.

GODDARD, J. S.; PERRET, J. S. M. Co-drying fish silage: for use in aquafeeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 118, n. 3/4, p. 337-342, Feb. 2005.

GÖHL, B. **Piensos tropicales**: resúmenes informativos sobre piensos y valores nutritivos. Santiago: FAO, 1982. 500 p. (Colección FAO, 12).

GONÇALVES, L. U.; VIEGAS, E. M. M. Produção, caracterização e avaliação biológica de silagens de resíduos de camarão para tilápia-do-Nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 1021-1028, ago. 2007.

GRUNENVALDT, F. L.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. Refino de óleos de pescado provenientes dos processos de silagem ácida e termomecânico de produção de farinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2005. v. 1, p. 1-8. Disponível em: < <http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/top03.pdf> >. Acesso em: 19 jul. 2008.

GUILHERME, R. F.; CAVALHEIRO, J. M. O.; SOUZA, P. A. S. Caracterização química e perfil aminoácídico da farinha de silagem de cabeça de camarão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 793-797, maio/jun. 2007.

GUTIERRES, N. Resíduos industriais: quais os procedimentos que as empresas estão desenvolvendo. **Revista Banas Qualidade**, São Paulo, v. 17, n. 189, p. 66-69, fev. 2008.

HASSAN, T. E.; HEATH, J. L. Chemical and nutritive characteristics of fish silage produced by biological fermentation. **Biological-Wastes Working**, v. 20, n. 3, p.187-201, 1987.

HIQUERA, M. de la. Diseños y métodos experimentales de evaluación de dietas. In: MONTEROS, J. E. de los.; LABARTA, M. (Ed.). **Nutricion en acuicultura II**. Madri: Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, 1987. p. 291-318.

HOLANDA, H. D. **Hidrólise enzimática do resíduo do camarão sete-barbas (*xiphopenaeus kroyeri*) e caracterização dos subprodutos**. 2004. 162 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microorganisms in foods 1: their significance and methods of enumeration**. 2. ed. Toronto: University of Toronto, 1978. v. 1.

JACKSON, A. J.; KERR, A. K.; CROWEY, C. B. Fish silage as a dietary ingredient for salmon: I. nutritional and storage characteristics. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 211-220, May 1984.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JORY, D. E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T. R. Mercado y comercialización de tilápia en los Estados Unidos de Norteamérica. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 5, p. 50-53, 2000.

KOMPIANG, I. P. Fish silage: its prospect and future in Indonesia. **Indonesian Agriculture Resource & Development Journal**, v. 3, n. 1, p. 9-12, 1981.

KRIZEK, M. The determination of biogenic amines in silage. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 1, p. 97-104, 1991.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 285 p.

KUHN, C. R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processamento de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 1, p. 5-11, jan./abr. 2002.

LAHL, W. J.; BRAUN, S. D. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 10, p. 68-71, 1994.

MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R.; BACCARIN, A. E.; BORBA, M. R.; ARAUJO, M. C.; VAZ, M. M. M.; DIAS, M. T. Aspectos mercadológicos de pescados e derivados em algumas cidades das regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Infopesca Internacional**, Montivideo, v. 6, p. 13-22, out. 2000.

MACHADO, Z. L. Composição química do pescado. In: _____. **Tecnologia de recursos pesqueiros, parâmetros, processos, produtos**. Recife: DAS/DA, 1984. 277 p.

MAINARDES-PINTO, C. S. R.; VERANI, J. R.; ANTONIUTTI, D. M. Estudo comparativo do crescimento de machos de *Oreochromis niloticus* em diferentes períodos de cultivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 22, p.73-87, 1995.

MINOZZO, M. G. **Elaboração de patê cremoso a partir de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e sua caracterização físico-química, microbiológica e sensorial** 2005. 127 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

MIRANDA, O. M.; LÓPEZ, M. C.; FERNÁNDEZ, M. O. Conservación in vitro de ensilaje de pescado (*Ophistonema oglinum*) com ácido sulfúrico comercial. Temperatura, pH e composição química. **Revista de Producción Animal**, Havana, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2005.

MORAIS, M. M. **Estudo do processo de refino de óleo de pescado**. 2000. 107 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

MORAIS, M. M.; PINTO, L. A. A.; ORTIZ, S. C. A.; CREXI, V. T.; SILVA, R. L.; SILVA, J. D. Estudo do processo de refino do óleo de pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 1, p. 23-33, 2001.

MORALES-ULLOA, D. F. **Bioconversão de resíduos da indústria pesqueira**. 1994. 127 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

MORALES-ULLOA, D. F.; OETTERER, M. Composição em aminoácidos de silagens químicas, biológicas e enzimáticas preparadas com resíduos de sardinha. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 252-258, set./dez. 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of warm water, fishes and shellfishes**: nutrient requirements of domestic animals. Washington, DC: National Academy, 1993. 114 p.

NEVES, R. A. M.; MIRA, N. V. M. de; MARQUEZ, U. M. L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 101-108, jan./mar. 2004.

NEW, M.; CSAVAS, I. Will there be enough fish meal for fish meals?
Magazine of the European Aquaculture Society, v. 19, n. 3, p. 6-13, 1995.

NUNES, J. A. R. **Estudo preliminar do aproveitamento de resíduo e descarte da industrialização de pescado a partir de silagem ácida**. 2001. 115 p.
Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

OETTERER, M. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado.
Alimentos e Nutrição, Marília, v. 5, p. 119-134, 1993.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba:
Agropecuária, 2002. 200 p.

OETTERER, M.; BORGHESI, R. A silagem de pescado na alimentação de organismos aquáticos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 329-339, 2007.

OETTERER, M.; VALÉRIO, A. C. R.; SZENTTAMASY, E. R.; BARBOSA, S. M. B.; MORENO, I. A. M. Aproveitamento da biomassa residual da industrialização do pescado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 13., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SBCTA, 1992. p. 140.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: Varela, 1999. 332 p

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; PIMENTA, C. J.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; LOGATO, P. V. R. Digestibilidade e desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de silagem ácida de pescado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1196-1204, nov./dez. 2006.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; PIMENTA, C. J.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias para girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) digestibilidade e desempenho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 618-625, mar./abr. 2008.

PAPAS, A. M. Diet and antioxidant status. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 37, n. 9/10, p. 999-1007, Sept. 1999.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência e tecnologia da carne: tecnologia da carne e subprodutos**. Goiânia: CEGRAF/UFG, 1994. v. 2, p. 638-675.

PESCA PARÁ. **Imagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Disponível em: <<http://pescapara.vilabol.uol.com.br/peixes/Tilapia.jpg>>. Acesso em: 15 nov. 2008.

PESSATI, M. L. Aproveitamento dos sub-produtos do pescado. In: UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ. Grupos de Estudos Pesqueiros. **Meta 10 - Convênio MA-UNIVALI** (MAPA/SARC/DPA/03/2001). Itajaí, RS, 2001. Disponível em: <<http://siaiacad04.univali.br/download/pdf/Docpescado8.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2007.

PEZZATO, L. E.; MILANESI, C.; BARROS, M. M.; CARROTE, C. R.; PEZZATO, A. C. Estabilidade química de dietas para organismos aquáticos confeccionadas com aglutinantes nutritivos. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 22, n.1, p. 125-131, jan./jun. 1995.

PIEIDADE, K. R. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*)**. 2007. 160 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

PRATT, C. W.; CORNELLY, K. **Bioquímica essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 716 p.

RAA, J.; GILDBERG, A. Fish silage: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, Flórida, v. 16, n. 4, p. 383-419, 1982.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, jul./ago. 2006.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: E. Blücher, 2004. 184 p.

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 315-320, jul./set. 2003.

RODRIGUEZ-PALENZUELA, P. Los ácidos orgánicos como agentes antimicrobianos. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA EL DESARROLLO DE LA NUTRICIÓN ANIMAL: AVANCES IN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL, 16., 2000, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona: FEDNA, 2000. p. 155-167.

RUSSELL, J. B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 73, n. 5, p. 363-370, Nov. 1992.

SALES, R. O.; OLIVEIRA, A. C.; GUIMARÃES, J. G. L. Elaboração de autolisado ácido (silagem) de tilápia (*Sarotherodon niloticus*) e acompanhamento do processo de autólise. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 13., 1992, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: SBCTA, 1992. p. 100.

SALES, R. O. **Processamento, caracterização química e avaliação nutricional da despesca da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) em dietas experimentais com ratos.** 1995. 174 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

SAMUELS, W. A.; FONTENOT, J. P.; ALLEN, V. G.; ABAZINGE, M. D. A. Seafood processing wastes ensiled with straw: utilization and intake by sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 12, p. 4983-4992, Dec. 1991.

SANTANA-DELGADO, H.; AVILA, E.; STELO, A. Preparation of silage from Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 141, n. 1/2, p. 129-140, Mar. 2008.

SECCO, M. E.; VERARDINO, M. Y.; VIDOTTI, R. M. Substituição da farinha de peixe pela silagem de peixe na alimentação de girinos de Ra-Touro (*Rana Catesbeiana*). **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 32, n. 3, p. 24-30, jun. 2002.

SHIRAI, K.; GUERRERO, I.; HUERTA, S.; SAUCEDO, G.; CASTILLO, A.; GONZALEZ, R. O.; HALL, G. M. Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 28, n. 4/5, p. 446-452, Mar. 2001.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** Viçosa: UFV, 1990. 160 p.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. 2002. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

SOCCOL, M. C. H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. 2002. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

SOLOMONS, T. W. G. **Organic chemistry**. 6. ed. New York: J. Wiley, 1996. 1218 p.

SOUZA, M. L. R.; BACCARIN, A. E.; VIEGAS, E. M. M.; KRONKA, S. N. Defumação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e filé: aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.1, p. 27-36, jan./fev. 2004.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p.1076-1084, jun. 2002.

SOUZA, M. L. R.; VIEGAS, E. M. M.; KRONKA, S. N. Influência do método de filetagem e categorias de peso sobre o rendimento da carcaça, filé e pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 1, p.1-16, 1999.

STEVANATO, F. B.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Aproveitamento de resíduos, valor nutricional e avaliação da degradação de pescado. **PUBVET**, Londrina, v. 1, n. 7, nov. 2007. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=74>>. Acesso em: 10 set. 2008.

STORI, F. T. **Avaliação dos resíduos da industrialização do pescado em Itajaí e Navegantes (SC), como subsídio à implementação de um sistema gerencial de bolsa de resíduos**. 2000. 145 p. Monografia (Graduação em Oceanografia) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC.

TATTERSON, I. N. Fish silage: preparation, properties and uses. **Animal feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 7, n. 2, p. 153-159, Mar. 1982.

TATTERSON, I. N.; WINDSOR, M. L. Fish silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 25, n. 4, p. 369-379, Apr. 1974.

VALÉRIO, A. C. R. **Elaboração de silagem enzimática de pescado como alternativa ao processo tradicional**. 1994. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia: en el mundo Occidental. **Panorama Acuícola**, v. 4, n. 3, p. 22-25, 1999.

VARADARAJ, K.; KUMARI, S.; PADIANT, J. Comparisons of conditions for hormonal sex reversal of mozambique tilapias. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 56, n. 2, p. 81-90, Apr. 1994.

VAZ, S. K. **Elaboração e caracterização de lingüiça fresca “tipo toscana” de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. 105 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

VIANA, M. T.; LÓPEZ, L. M.; GRACÍA-ESQUÍVEL, Z.; MENDEZ, E. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. **Aquaculture**, Amsterdam, v.140, n. 1/2, p. 87-98, Mar. 1996.

VIDOTTI, R. M. **Produção e utilização de silagens de peixe na nutrição de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2001. 65 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. **Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal**. São Paulo, 2006. Disponível em:
<ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/producao_caracterizacao.pdf>. Acesso em: 18 maio 2008.

VILAS BOAS, E. V. de B. **Avaliação nutricional dos alimentos**. Lavras, MG: UFLA/FAEPE, 1999. 51 p.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 1097-1104, jul./ago. 2007. Suplemento 4.

WANTANABE, W. O.; LOSORDO, T. M.; FITZSIMMONS, K.; HANLEY, F. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trend, and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, n. 3/4, p. 465-498, 2002.

WINDSOR, M. Y.; BARLOW, S. **Introducción a los subproductos de pesquería**. Madrid: ACRIBIA, 1984. 209 p.

WYK, H. J.; HEYNDENRYCH, C. M. S. The production of naturally fermented fish silage using various Lactobacilli and different carbohydrate sources. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London v. 36, n. 11, p. 1093-1103, Nov. 1985.

CAPÍTULO 2
CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES SILAGENS ÁCIDAS DE
RESÍDUOS DA FILETAGEM DE TILÁPIAS AO LONGO DO
ARMAZENAMENTO

1 Resumo

O presente estudo teve o objetivo de elaborar e caracterizar diferentes silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias utilizando os ácidos orgânicos fórmico (SAF), acético (SAA) e propiônico (SAP) nas concentrações de 5% v/p e 0,1% p/p, e de butilhidroxitolueno (BHT). As silagens foram armazenadas à temperatura ambiente (máxima: 21°C, mínima: 15°C) por 28 dias e amostradas semanalmente (0, 7, 14, 21 e 28 dias), sendo monitoradas físico-química, química e microbiologicamente. Foram realizadas observações de características visuais e de odores durante todo o experimento. Os resultados demonstraram que o armazenamento provocou alterações em grande parte das variáveis analisadas. A mudança de fases foi observada em todos os sistemas e o odor despreendido por todas as silagens foi pungente, característico de cada ácido utilizado. A umidade sofreu aumento linear, sendo as médias das silagens SAA e SAF estatisticamente semelhantes e superiores à média da SAP. O conteúdo de extrato etéreo aumentou em todos os sistemas, atingindo um máximo em torno do 19º dia de ensilagem. Não foi detectada formação de peróxidos nos óleos extraídos das silagens em nenhum período de amostragem, evidenciando o poder antioxidante do BHT. Os teores de proteína bruta sofreram decréscimo durante o armazenamento em todas as silagens, ocorrendo os menores teores nos tempos 18, 28 e 19 dias para SAF, SAA e SAP, respectivamente. Após 28 dias de armazenamento, o maior teor de proteína bruta na matéria integral foi observado na SAF (25,45%). O conteúdo de cinzas diminuiu até o fim do período experimental, sendo os maiores valores encontrados no último período de amostragem na SAF (13,64%) e na SAP (13,76%). Não foram detectados microorganismos aeróbios mesófilos, nem bolores e leveduras, em todos os tempos de análise. Devido à alta eficiência de preservação, os três ácidos (fórmico, acético e propiônico) são indicados na elaboração de silagens ácidas de pescado.

Palavras-chave: silagens ácidas de pescado, ácidos orgânicos, tempo de armazenamento.

2 Abstract

The object of this study was to develop and characterize different acid silage wastes from tilapia fillet using the organic acids: formic (SFA), acetic acid (SAA) and propionic (SPA), at the concentration of 5% v/p and 0.1% p/p butylhydroxytoluene (BHT). The silages were stored at room temperature (maximum: 21°C, minimum: 15°C) for 28 days, sampled weekly (0, 7, 14, 21 and 28 days), and monitored physico-chemicaly, chemically and microbiologically. Results showed that storage caused changes in most variables. Phase changes were observed in all systems and smell released from all the silages was pungent, characteristic of each acid used. The moisture had a linear increase, and the average of silages SAA and SFA were statistically similar and higher than average of silage SPA. Content of ether extract increased in all systems, reaching a maximum around the 19th ensiling day. The formation of peroxides in oils extracted from silages in any sampling period was not detected, showing the power of the BHT antioxidant. Crude protein decreased in all silages during storage, with the lowest levels at 18, 28 and 19 days for SFA, SAA and SPA, respectively. After 28 days of storage, the highest level of crude protein in the moist matter was observed in the SFA (25.45%). Ash content decreases by the end of the trial period, with the highest values found in the last sampling period in the SFA (13.64%) and SPA (13.76%). There were no aerobic mesophilic microorganisms, and yeasts and molds at any analysis times. Due to the high efficiency of preservation, the three acids (formic, acetic and propionic) are indicated in the preparation of acid fish silage.

Key words: acid fish silages, organic acids, storage time.

3 Introdução

O uso de resíduos alimentares vem ganhando espaço no cenário mundial, embora a questão cultural, que normalmente desvaloriza esses rejeitos, ainda prevaleça sobre a questão científica.

Incluem-se no termo resíduos de pescado: aparas do “toilete” antes do enlatamento, carne escura, peixe fora do tamanho ideal para industrialização, cabeças e carcaças (Oetterer, 1993). As condições em que foram gerados e as manipulações após a despesca definem a qualidade do resíduo de pescado, que, a princípio, é a mesma do material de origem, caracterizado pelo alto valor nutricional, principalmente no tocante à proteína.

Os resíduos de pescado apresentam dois destinos principais: fabricação de farinha de peixe e descarte (Nunes, 2001). Um processo alternativo, economicamente viável e ambientalmente favorável, pode ser assumido com base na conservação da matéria orgânica através da técnica de ensilagem.

A silagem de pescado é um produto líquido que pode ser obtido de peixes inteiros ou partes desses (Tatterson & Windsor, 1974), aos quais são acrescentados ácidos, enzimas ou bactérias, originando as silagens ácidas, enzimáticas ou biológicas, respectivamente. Essa técnica, por ser artesanal, pode ser empregada no local onde o resíduo é obtido, prevenindo gastos com o transporte (Sales, 1995).

A investigação dos efeitos do armazenamento sobre as características nutricionais dos produtos ensilados é tão importante quanto saber seu valor nutricional após o preparo. O uso de diferentes tipos de ácidos, matéria-prima, temperatura ou tipo de armazenamento levam à obtenção de produtos finais distintos, tornando-se fundamental a escolha de variáveis que produzam um bom produto ao término do armazenamento.

Dessa maneira, o objetivo desse trabalho foi produzir, observar as características visuais e de odores e caracterizar físico-química, química e microbiologicamente três tipos de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias elaboradas com ácido acético, propiônico e fórmico ao longo de 28 dias de armazenamento.

4 Material e Métodos

4.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada na elaboração das silagens constituiu-se de resíduos da filetagem de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) compostos por espinhas, nadadeiras, caudas, aparas (entre as espinhas) e poucas escamas. Tais resíduos foram adquiridos de produtores da região de Boa Esperança-MG. Os resíduos foram transportados em estado congelado até o Laboratório de Nutrição Animal (LNA) do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (Figura 1).



FIGURA 1 Resíduos de filetagem de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) antes a moagem (A) e após a moagem (B).

4.2 Preparo das silagens

Os resíduos descritos no item 2.1 foram moídos em máquina elétrica de moer carne. O conteúdo total após a moagem foi pesado em balança analítica. O peso total de resíduo triturado foi de 29,1 kg. Após a homogeneização manual, a biomassa foi dividida em três partes iguais de 9,70 kg. Adicionou-se 0,1% (p/p) de BHT (butilhidroxitolueno) a cada parte. Foram utilizados os três primeiros ácidos orgânicos: fórmico (ácido metanóico), acético (ácido etanóico) e

propiónico (ácido propanóico), todos polares, diferindo entre si pelo tamanho da cadeia carbônica. Esses ácidos foram adicionados na concentração de 5% v/p, conforme a Figura 2.

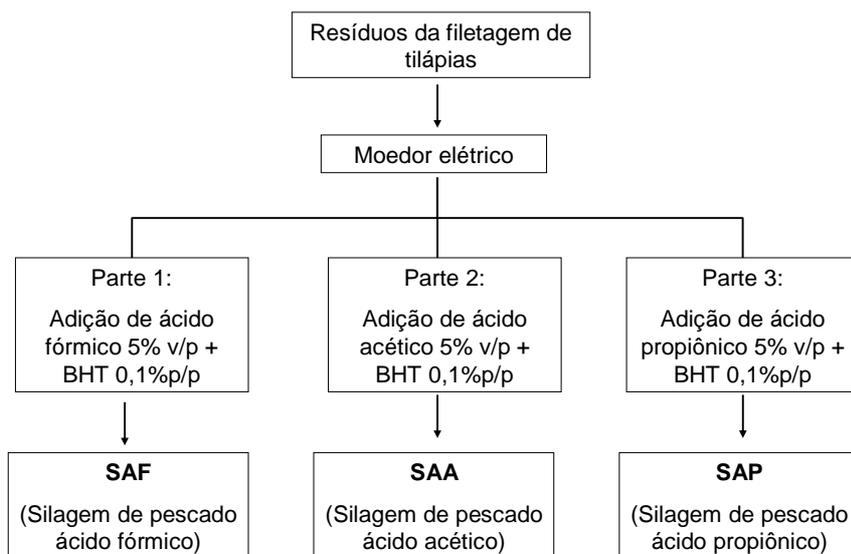


FIGURA 2 Fluxograma das etapas seguidas para a elaboração de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias (*Oreochromis niloticus*).

As silagens produzidas, representadas pelo fluxograma descrito na Figura 2, foram armazenadas em baldes de polietileno com capacidade para 15 kg. Nas tampas desses recipientes foram abertos 3 orifícios por onde os gases escapavam. O contato entre a tampa e o balde foi vedado com fita adesiva.

As silagens foram armazenadas por 28 dias à temperatura ambiente. O armazenamento teve início no dia 01 de julho de 2008 e término no dia 28 de julho de 2008. Durante todos os dias de armazenamento os sistemas foram agitados a fim de provocar o maior contato possível entre ácido (agente de preservação) e a biomassa.

4.3 Coleta de amostras

Antes de cada coleta os sistemas foram revolvidos. Foram coletadas amostras logo após o preparo das silagens e semanalmente, ou seja, 0, 7º, 14º, 21º e 28º dia do processo de ensilagem.

4.4 Determinações realizadas

4.4.1 Observação de características visuais e odores

A observação de características visuais e de odores foi realizada de acordo com Valério (1994), observando-se os atributos: separação de fases, coloração da fase sedimentada e odor durante todos os dias de armazenamento.

4.4.2 Determinações físico-químicas

A temperatura ambiente do local de armazenamento das silagens foi acompanhada diariamente utilizando um termômetro de máxima e mínima. A temperatura no interior da biomassa foi medida por meio de um termômetro de mercúrio antes de cada revolvimento diário. O pH foi determinado em pHmetro digital, com resultados compostos de duas casas decimais. Essas determinações foram realizadas no Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras.

4.4.3 Determinações químicas

4.4.3.1 Composição centesimal

A composição centesimal das silagens foi realizada no Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras, utilizando os seguintes métodos propostos pela Association of Official Analytical Chemists, AOAC (1990).

a) Umidade (U)

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico. Cerca de 10g do material foram pesados em cápsulas de porcelana em balança analítica (com resultados expressos em 4 casas decimais) e submetidos à secagem em estufa regulada a 105°C até peso constante (aproximadamente por 12 horas). Após esse período, as cápsulas foram retiradas da estufa com o auxílio de pinças tipo tenaz e armazenadas em dessecadores contendo sílica até que esfriassem (de 20 a 30 minutos). Por meio da diferença entre o peso da cápsula com a amostra integral (úmida) e o peso da cápsula mais a amostra seca, obteve-se a quantidade de umidade presente na amostra.

b) Extrato etéreo (EE)

O extrato etéreo foi determinado pelo método de Soxhlet. Aproximadamente 2 g de cada amostra seca foram pesados em cartuchos de papel filtro semi-qualitativo (em balança analítica com resultados expressos em 4 casas decimais) e submersos em éter etílico dentro de reboilers, previamente secos e de peso conhecido. Os reboilers foram acoplados ao extrator de Soxhlet, ficando em refluxo por 3 horas. Depois desse período, os cartuchos contendo as amostras secas e desengorduradas foram suspensos para drenagem do excesso de solvente e/ou óleo por 30 minutos. Após a retirada dos cartuchos, o éter foi recuperado por um tempo médio de 1 hora. Os reboilers foram secos em estufa regulada a 105°C por um período de 12 horas para a retirada do éter, restando apenas os lipídeos (extrato etéreo). Após a secagem, os reboilers foram retirados da estufa com o auxílio de pinças tipo tenaz e armazenados em dessecadores contendo sílica até que esfriassem (de 20 a 30 minutos), sendo pesados logo em seguida, na mesma balança que os reboilers vazios foram pesados. A diferença entre o peso do reboiler com o extrato etéreo e o peso do reboiler vazio forneceu a quantidade de extrato etéreo presente em 2g de amostra seca. Para o

conhecimento do conteúdo de extrato etéreo na matéria integral utilizou-se o conteúdo de umidade obtido pelo procedimento descrito no item 2.4.3.1.

c) Proteína bruta (PB)

Para a determinação do conteúdo de proteína bruta presente nas silagens ácidas utilizou-se o método Microkejdhal. Aproximadamente 50mg de amostras secas e desengorduradas foram pesadas em papel manteiga (utilizando balança analítica com resultados expressos em 4 casas decimais) e transferidos (amostra+papel) aos tubos de Microkejdhal, aos quais foram adicionados 600mg de sulfato de potássio, 300 mg de sulfato de cobre e 5 mL de ácido sulfúrico. Os tubos contendo as amostras e os reagentes recém-mencionados foram submetidos à digestão em blocos digestores (instalados dentro de uma capela) por um período de 4 horas, sendo a temperatura inicial do bloco digestor de 100°C, gradativamente aumentada, chegando a 360°C. As amostras, após esfriarem à temperatura ambiente, foram acopladas ao aparelho de destilação Microkejdhal. Em seguida, a elas foram adicionados 25 mL de hidróxido de sódio (50%). O destilado foi recebido em erlenmeyers de 250 mL contendo 10mL de solução saturada de ácido bórico (contendo 1% de solução indicadora: verde de bromocresol-vermelho de metila). Procedeu-se à destilação até 100 mL de destilado. O destilado foi titulado utilizando ácido clorídrico 0,02N até o aparecimento da cor vermelha, obtendo-se o conteúdo de nitrogênio total na amostra seca e desengordurada. Para a transformação em conteúdo de proteína bruta, o teor de nitrogênio foi multiplicado pelo fator 6,25. Os resultados foram transformados em teor de proteína na matéria seca e na matéria integral utilizando o conteúdo de extrato etéreo e de umidade, respectivamente.

d) Cinzas (C)

O conteúdo de cinzas, ou resíduo mineral fixo, foi determinado pelo método gravimétrico baseado na determinação da perda de peso do material submetido a aquecimento a 550°C. Para tanto, cerca de 1,5 g de matéria seca e desengordurada foram pesados em cadinhos calcinados e tarados (em balança analítica com resultados expressos em 4 casas decimais). O material foi incinerado em fogão sobre telas de amianto. Após a carbonização, os cadinhos foram transferidos à mufla a 550°C e deixados por cerca de 8 horas. Esperou-se a mufla abaixar para 80°C para a retirada dos cadinhos, os quais foram colocados no dessecador. Após 1 hora os cadinhos foram pesados. A diferença entre o cadinho com as cinzas e os cadinhos vazios forneceu o conteúdo de cinza na matéria seca e desengordurada. Esses resultados foram transformados em teor de cinza na matéria seca e na matéria integral utilizando o conteúdo de extrato etéreo e de umidade, respectivamente.

4.4.3.2 Determinação de nitrogênio total, não protéico e protéico.

a) Determinação de nitrogênio total (NT)

O teor de nitrogênio total foi obtido pelo método Microkjeldhal, descrito no item 2.4.3.3, sem a multiplicação pelo fator 6,25, de acordo com a AOAC (1990) e medido no Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras.

b) Determinação de nitrogênio não protéico (NNP)

O teor de nitrogênio não protéico foi determinado utilizando o ácido tricloroacético para precipitar o nitrogênio oriundo da porção protéica (AOAC, 1990). Para tanto, cerca de 5 g de amostra integral foram homogeneizados a

40mL de água destilada, por meio de um politron, por 7 minutos. O volume foi completado para 100 mL com água destilada. Tomou-se uma alíquota de 25 mL, à qual foram adicionados 25 mL de ácido tricloroacético (24% m/v). Após 15 minutos, tempo necessário para a precipitação do nitrogênio de origem protéica, procedeu-se à filtração em papel filtro semi-qualitativo. Retiraram-se 5 mL do filtrado (que continha o nitrogênio não protéico), os quais foram transferidos para tubo de de Microkejdhal para a determinação de nitrogênio não protéico, conforme metodologia descrita no item 2.4.3.3 (lembrando que, ao invés da amostra de 50 mg, têm-se os 5 mL de filtrado). Esses procedimentos foram realizados nas instalações do Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras.

c) Determinação de nitrogênio protéico

O teor de nitrogênio protéico foi determinado pela subtração do conteúdo de nitrogênio não protéico do teor de nitrogênio total, conforme realizado por Valério (1994).

4.4.3.3 Determinação dos minerais cálcio e fósforo

Os minerais cálcio e fósforo foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, no Laboratório de Análise Foliar no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, apenas nas amostras do último tempo de armazenamento, sendo o material (0,5g) previamente digerido com 6 mL de solução nitroperclórica por cerca de 2 horas, a 140°C. Os resultados foram expressos em porcentagem e não foram submetidos a testes estatísticos (foram apenas descritivos).

4.4.3.4 Análises de caracterização dos óleos brutos

Para caracterizar o óleo proveniente das silagens, procedeu-se à extração do conteúdo lipídico por centrifugação de 10 g de amostra a 3000 xG (Arruda, 2004). Foram efetuadas as seguintes análises:

a) Índice de peróxido

Aproximadamente 0,2 g do óleo bruto foram transferidos a erlenmeyers, aos quais foram acrescentados ácido acético (30mL) e solução saturada de iodeto de potássio (1mL). Deixou-se o sistema em repouso por 1 hora no escuro. Após esse período, acrescentaram-se 30mL de água destilada e 4 mL de solução de amido. Titulou-se com tiosulfato de sódio 0,1N até o desaparecimento da cor azul. Os resultados foram expressos em meq.kg⁻¹.

b) Índice de iodo

Cerca de 0,2g do óleo bruto foram pesados em vidro de relógio e, logo após, transferidos a erlenmeyer contendo 10 mL de clorofórmio. Ao material foram adicionados 25 mL da solução de Wijs, o qual foi deixado em repouso, ao abrigo de luz, por 30 minutos. Após o repouso, adicionaram-se 10 mL de solução de iodeto de potássio (15%) e 100 mL de água recentemente fervida e esfriada. Titulou-se o material com tiosulfato de sódio (0,1N) até fraca coloração amarela. Os resultados foram expressos em gI/100g.

c) Índice de saponificação

Adicionaram-se 10 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio (4%) a cerca de 2 g de óleo bruto, em erlenmeyer refrigerante de refluxo. O material foi fervido brandamente por 30 minutos. Após resfriamento, foram adicionadas 5 gotas de fenolftaleína. Titulou-se o material com HCl 0,5N até o

desaparecimento da coloração rósea. Os resultados foram expressos em mgKOH. g⁻¹.

d) Índice de acidez

Aproximadamente 2g da amostra foram armazenados em erlenmeyer de 125mL, aos quais foram acrescentados 25 mL de solução (2:1) de éter etílico + etanol. Em seguida o sistema foi agitado. Adicionaram-se duas gotas de indicador fenolftaleína e procedeu-se à titulação com NaOH 0,1N até o aparecimento da coloração rósea. Os resultados foram em mg NaOH.g⁻¹.

Todas as análises acima descritas foram realizadas no Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras. Para o índice de peróxido, a metodologia utilizada foi proposta pela Lovern (1965) e American Oil Chemists' Society, AOCS (1995). Para os demais índices, seguiu-se a metodologia proposta por Moretto & Alves (1986).

4.4.3.5 Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos foram extraídos das silagens ácidas de resíduos de pescado de acordo com a metodologia proposta por Folch et al. (1957), após 28 dias de armazenamento. Para tanto, homogeneizaram-se 5 gramas de amostra com 50 mL de solução clorofórmio/metanol (2:1) + butilhidroxitolueno (0,025g.L⁻¹) por aproximadamente 3 minutos em polítron na velocidade média. Após homogeneização, procedeu-se à filtração da amostra utilizando filtros semi-qualitativos (de filtração rápida), transferindo-se o filtrado ao funil de separação (500 mL), ao qual foram acrescentados 10 mL de solução de cloreto de potássio (0,72%); após agitação manual, a solução permaneceu em repouso por 3 horas. Após o repouso, foi observada a formação de duas fases com diferentes polaridades (polar e apolar). A parte polar foi descartada do funil de

separação, restando apenas a parte apolar. À parte remanescente foram acrescentados 6 mL de solução de cloreto de potássio (0,72%), permanecendo 12 horas em repouso. Após esse período, novamente descartou-se a parte polar, recolhendo-se a parte apolar em balão volumétrico de 50mL, completado-se o volume com clorofórmio. Para a esterificação, 5 mL da solução obtida ao final das etapas anteriormente descritas foram transferidos a tubo de centrifuga. Logo em seguida, o clorofórmio foi evaporado em banho-maria (55°C) com nitrogênio gasoso. Foram adicionados 4 mL de NaOH 0,5M em metanol, levando-se, na seqüência, a amostra ao banho fervente por 5 minutos. Resfriou-se o material em água gelada. Em seguida, a ele foram adicionados 5 mL de reagente esterificante, o qual foi levado por mais 5 minutos ao banho fervente e novamente resfriado em água gelada. Após resfriamento, foram adicionados 4 mL de NaCl saturado e 5 mL de hexano. Deixaram-se os sistemas em repouso por 10 minutos. A parte sobrenadante foi recolhida para frasco âmbar. Evaporou-se o hexano com nitrogênio gasoso, em banho-maria a 55°C.

Os ésteres resultantes da etapa de esterificação foram submetidos à análise de cromatografia gasosa em aparelho Shimadzu GC 2010, com detector de ionização em chama (FID), utilizando-se coluna capilar (100m x 0,25mm x 0,2µm). Foram utilizadas as seguintes condições cromatográficas:

- Injetor: trabalhou no modo “split”, utilizando o hélio como gás de arraste, num fluxo de 1,09mL.min⁻¹. Foi injetado 1µL de amostra, sendo o tempo de corrida de 60 minutos.
- Coluna: temperatura inicial de 140°C, mantendo-se nessa temperatura por 5 minutos, elevando-se a uma taxa de 4°C. min⁻¹ até 240°C. A fase estacionária da coluna era composta por bis-cianopropil polisiloxano.

A identificação e quantificação dos ácidos graxos foram feitas por comparação dos tempos de retenção dos ésteres contidos no padrão SupelcoTM 37 FAME MIX com os da amostra.

4.4.4 Determinações microbiológicas

As análises de contagem total de microorganismos mesófilos e a contagem total de bolores e leveduras foram realizadas com base em Silva et al. (1997). Os ensaios microbiológicos foram desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Centro Tecnológico do Sul de Minas - EPAMIG/CTSM, localizado no campus da UFLA.

4.4.4.1 Contagem total de microorganismos aeróbios mesófilos

Para a contagem total de microorganismos aeróbios mesófilos foi utilizado o meio PCA (Ágar Padrão para Contagem), manipulado segundo as concentrações da Tabela 1:

TABELA 1 Componentes necessários à manipulação do meio PCA (Ágar padrão para Contagem) e suas respectivas quantidades.

Componente	Quantidade
Triptona	5,0 g
Extrato de levedura	2,5 g
Dextrose	1,0 g
Ágar	15 g
Água destilada	1000 mL

Fonte: Silva et al. (1997).

Aproximadamente 20 mL do meio PCA foram fundidos a 40°C utilizando aparelho de microondas, os quais, logo em seguida, foram vertidos em placas de petri esterilizadas, deixadas em repouso sob luz UV em capelas até a solidificação do meio (cerca de 15 minutos).

Aproximadamente 25,0 g de cada silagem foram diluídos em 225 mL de água peptonada (0,1% p/v). Utilizaram-se as diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} ,

incubado-se 100 µL com três repetições para cada diluição (plaqueamento em superfície). As placas foram armazenadas em estufa do tipo Biochemistry Oxygen Demand (BOD), à temperatura de 35°C por 48 horas. Transcorrido o tempo de incubação fez-se a contagem do número de colônias, tirando-se a média aritmética de cada diluição e multiplicando-se o resultado pelo fator de diluição. Os resultados foram expressos em UFC/g de silagem.

4.4.4.2 Contagem total de bolores e leveduras

Para a contagem total de bolores e leveduras foi utilizado o meio BDA-cloranfínicol (Batata-Dextrose-Ágar-Cloranfínicol), manipulado segundo as concentrações da Tabela 2:

TABELA 2 Componentes necessários à manipulação do meio BDA-cloranfínicol (Batata-Dextrose-Ágar-Cloranfínicol) e suas respectivas quantidades.

Componente	Quantidade
Infusão de batatas	200,0 g
Cloranfínicol	0,1g
Dextrose	1,0 g
Agar	15 g
Água destilada	1000 mL

Fonte: Silva et al. (1997).

Os procedimentos para inoculação do material a ser analisado foram os mesmos descritos no item 2.4.5.1, diferindo apenas o tempo e a temperatura de incubação, de 5 dias a 25°C, respectivamente.

4.4.5 Custo das silagens e farinha de peixe

O valor estabelecido para a farinha de peixe foi uma média entre os preços de mercado de seus fornecedores. Para o cálculo das silagens, foi

considerado o valor de R\$ 1,50/kg de resíduo, o preço/L de ácido e 20% de mão-de-obra para elaboração.

4.4.6 Análises estatísticas

O experimento seguiu um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial, sendo os fatores: tipo de silagem ácida (3): Silagem de Ácido Acético (SAA), Silagem de Ácido Propiônico (SAP) e Silagem de Ácido Fórmico (SAF); e tempos de armazenamento (0, 7, 14, 21 e 28 dias). Em cada período de armazenamento foram retiradas 7 repetições de cada tratamento, totalizando 105 parcelas (com exceção das análises de caracterização dos óleos extraídos das silagens, que foram retiradas 4 repetições de cada tratamento). O modelo estatístico utilizado foi:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}, \text{ onde:}$$

y_{ijk} = variável resposta,

μ = constante associada a cada observação;

α_i = efeito do i -ésimo nível do fator tipo de silagem;

β_j = efeito do j -ésimo nível do fator tempo de armazenamento;

$\alpha\beta_{ij}$ = efeito da interação entre os dois fatores;

e_{ijk} = erro observado a cada observação.

Os dados obtidos para cada variável foram armazenados em planilhas eletrônicas utilizando o programa Excel, e posteriormente transformados em arquivos dBase (DBF IV) e processados pelo Sisvar (Ferreira, 2000).

5. Resultados e Discussão

5.1 Observação de características visuais e de odores

As observações de características visuais e de odores foram realizadas durante todo o período de armazenamento com a finalidade de acompanhar as alterações ocorridas nas biomassas ensiladas. Alguns autores (Disney et al., 1977; Haard et al., 1985; Espe et al., 1989 citados por Morales-Ulloa, 1994) destacam que a avaliação visual das silagens é de extrema importância e, juntamente com a análise química, define o tempo necessário para a comercialização do produto ensilado.

Após o processo de moagem, os resíduos da filetagem de tilápias apresentaram consistência pastosa firme, sem separação de fases. Miranda et al. (2005), avaliando a forma física da matéria-prima utilizada para a confecção de silagens ácidas (moída ou picada), constataram que a forma moída propicia melhor hidrólise e estabilização do pH, uma vez que apresenta maior superfície de contato entre os ácidos e o material biológico.

As silagens foram armazenadas em silos de polietileno com orifícios na tampa, por onde saíam os gases formados durante o armazenamento. Em estudo realizado por Beerli et al. (2004), observou-se que o processo não necessita ser anaeróbio como nas silagens de outros produtos, pois os microrganismos deixam de ter o papel principal nas transformações do material.

A adição dos ácidos orgânicos (fórmico, acético e propiônico) e do antioxidante BHT não provocou alterações imediatas visíveis nas texturas das silagens recém-produzidas. Os primeiros sinais de hidrólise das biomassas foram visualizados no 5º dia de armazenamento, para as silagens SAA e SAP; e no 8º dia para a SAF. Tais sinais foram observados por meio de separações de fases ocorridas nas silagens. Formaram-se duas fases distintas em cada silo: uma

pastosa e outra líquida (oleosa para as silagens de ácido acético e propiônico e emulsionada para a silagem de ácido fórmico).

Valério (1994), trabalhando com silagem química de sardinha utilizando solução (1:1) de ácido fórmico e propiônico na concentração de 3% v/p, à temperatura ambiente média de 26 °C, observou a separação de fases a partir do segundo dia de armazenamento. Oliveira et al. (2006), relatam visualizar a separação de fases durante a primeira semana de armazenamento, em silagem de resíduo da filetagem de tilápias usando o ácido fórmico.

As alterações nas texturas das silagens, que as tornam mais liquefeitas durante o armazenamento, são oriundas de processos autolíticos, principalmente proteolíticos, que se pronunciam rapidamente durante a primeira semana de armazenamento, durante a qual cerca de 70% do nitrogênio presente tornam-se solúveis (Disney et al., 1977; Morales-Ulloa & Oetterer, 1997). Tais alterações são dependentes do pH e da temperatura de armazenamento, sendo favorecidas a baixos valores de pH (Tatterson & Windsor, 1974) e a temperaturas próximas a 30° C (Disney et al., 1977).

Se ocorrer um baixo efeito hidrolítico, o material ensilado apresentará, ao final do tempo de armazenamento, textura granulosa ao invés de pastosa. Uma hidrólise efetiva resulta na desintegração e liquefação do material biológico, aparecendo, na superfície da silagem, um líquido sobrenadante de cor caramelo, aparência oleosa e odor de óleo de pescado, enquanto, no fundo, se obtém um sedimento pastoso (Miranda et al., 2001; Miranda et al., 2005).

A hidrólise, processo favorável durante a ensilagem que converte as proteínas em aminoácidos e peptídeos, melhorando a digestibilidade do material ensilado, processou-se até o fim do período experimental, sendo as silagens mais pastosas (liquefeitas) no 28º dia de armazenamento (Figura 3). Esses resultados se assemelham aos obtidos por Haard et al. (1985), os quais afirmam que o material é continuamente hidrolizado durante o armazenamento. De acordo com

esses autores, a proteína de pescado sofre processos hidrolíticos por no mínimo três meses, embora o presente estudo tenha avaliado apenas até o 28º dia.

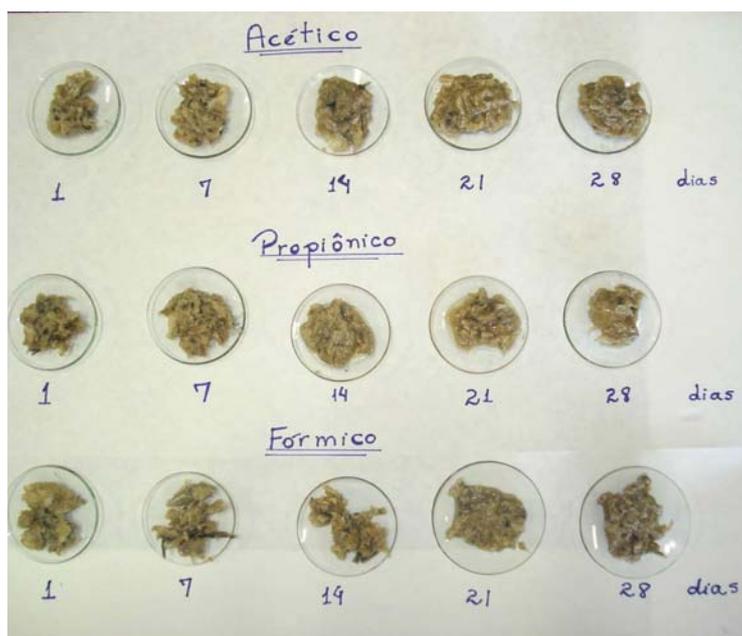


FIGURA 3 Avaliação visual da liquefação ocorrida nas silagens em função do tempo de armazenamento.

As camadas sobrenadantes das silagens de ácido acético e de ácido propiônico diferiram da camada sobrenadante da silagem de ácido fórmico quanto à coloração. Para as primeiras, foi observada a coloração amarelo escuro (caramelo), conforme descrito por Miranda et al. (2005). Nessa porção, não foi visualizada a presença de gotas d'água. Na silagem de ácido fórmico foi observada, em contrapartida, a coloração branca com aspecto leitoso na camada líquida emulsionada, conforme pode ser observado na Figura 4.

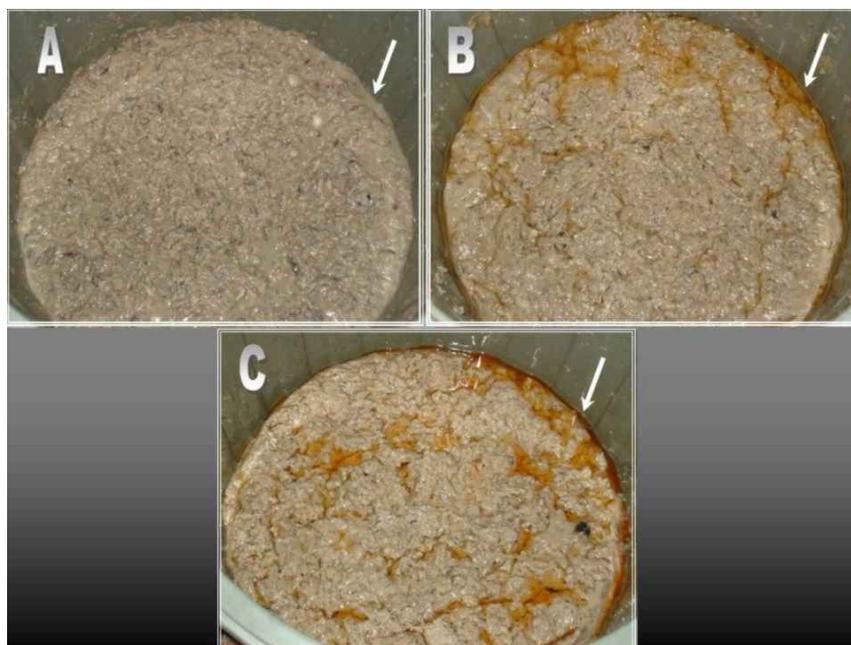


FIGURA 4 Separação de fases após 28 dias de armazenamento: (A) SAF, (B) SAA e (C) SAP.

Os ácidos acético e propiônico apresentam maior cadeia carbônica que o ácido fórmico. Embora todos eles sejam polares, o ácido fórmico é mais polar que os outros, interagindo fortemente com água e com fosfolípidos, carreando-os para a porção sobrenadante junto com os demais lípidos, os quais, por serem menos densos, separam-se da biomassa durante os processos de hidrólise. Todavia, os ácidos acético e propiônico, por possuírem maior cadeia carbônica, podem se associar aos lípidos de forma mais eficiente do que o ácido fórmico, resultando em uma camada sobrenadante predominantemente oleosa (pela análise visual).

A camada pastosa sedimentada apresentou coloração marrom claro em todas as silagens elaboradas. A mesma coloração foi observada por vários

autores, tais como Valério (1994), Benites (2003) e Arruda (2004). Kompiang (1981) ressalta que o escurecimento é resultado de reações lipídicas que ocorrem durante o período de armazenamento.

O odor desprendido pelas silagens foi predominantemente ácido, conforme relatado por diversos autores (Tatterson & Windsor, 1974; Kompiang, 1981; Benites, 2003; Arruda, 2004; Borghesi, 2004). O mais forte foi o odor desprendido pela silagem de ácido propiônico, seguido da silagem de ácido acético e o menos pungente foi o da silagem de ácido fórmico. O odor ácido atua na prevenção da silagem contra ao ataque de insetos (Tatterson & Windsor, 1974; Kompiang, 1981).

Não foi observada a formação de cavidades na massa, como ocorre em silagens biológicas conforme observado por Morales-Ulloa (1994), ou em silagens em estado de putrefação, indicando ausência microorganismos aeróbios.

5.2 Determinações físico-químicas

5.2.1 Monitoramento da temperatura

A Figura 5 mostra as variações de temperatura ambiente (máxima e mínima) durante o armazenamento das silagens. As temperaturas médias observadas, máxima e mínima, foram de 21°C e 15°C, respectivamente.

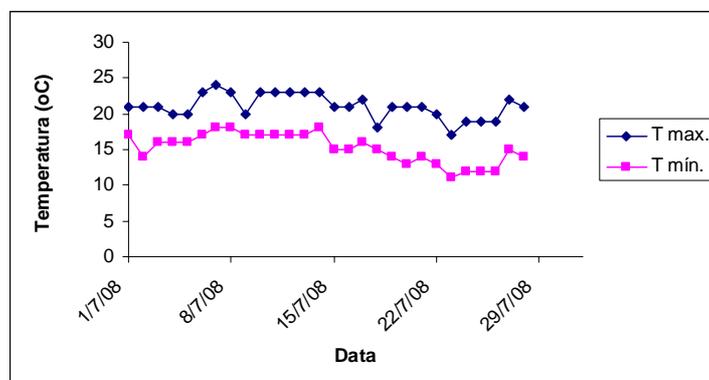


FIGURA 5 Variação da temperatura ambiente durante o armazenamento.

Santana-Delgado et al. (2008) testaram o efeito de duas temperaturas de armazenamento sobre a hidrólise das silagens ácidas (1,3% v/p de ácido sulfúrico + 1% v/p de ácido propiônico): temperatura ambiente e 37°C. Os autores concluíram que ao se armazenar a silagem à temperatura de 37°C ocorre uma diminuição do tempo de hidrólise, evidenciando o efeito da temperatura nos processos hidrolíticos. Jackson et al. (1984), também verificaram a influência da temperatura na hidrólise protéica, em silagem de espadilhas (*Sprattus sprattus*), usando 1,5% de ácido sulfúrico + 1,5% de ácido fórmico. Os autores observaram que as silagens submetidas ao armazenamento sob temperatura de 10°C apresentaram menores teores de proteínas, lipídeos e cinzas quando comparadas à silagem armazenada a 20°C.

É imprescindível salientar que as silagens foram elaboradas no mês de julho, quando a temperatura máxima ambiente foi de 21°C, o que contribui para o retardamento da visualização do início da hidrólise. Todavia, Oliveira et al. (2006), prepararam silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias utilizando ácido fórmico com agente preservante no inverno, quando a temperatura

máxima média ao longo de 30 dias de ensilagem foi de 21,5°C, e observaram os primeiros sinais de liquefação na primeira semana de armazenamento. Benites (2003) salienta que, ao preparar silagens químicas no mês de janeiro (verão), observou alta atividade hidrolítica.

A temperatura média no interior da massa não apresentou diferenças entre os tratamentos em nenhum período de armazenamento, apresentando a média de 16,4°C ao final dos 28 dias de ensilagem. Esse resultado mostra que os três tipos de ácidos (fórmico, acético e propiônico) utilizados na elaboração das silagens se solubilizam de maneira semelhante na matéria-prima e nenhum deles se destacou por ocasionar alterações endo ou exotérmicas nas biomassas.

5.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

Os valores médios de pH para as diferentes silagens durante 28 dias de armazenamento encontram-se sumarizados na Tabela 3. Foi observada interação significativa ($P < 0,01$) entre o tempo de armazenamento e o tipo de ácido, indicando existir relação entre esses dois fatores, ou seja, o efeito de um depende do efeito do outro.

TABELA 3 Valores médios* de pH nas silagens SAF, SAA e SAP em cada período de armazenamento.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
pH	0	2,86 a	4,02 b	4,39 c	3,76
	7	3,06 a	4,09 b	4,40 c	3,85
	14	3,09 a	4,14 b	4,41 c	3,88
	21	3,13 a	4,19 b	4,46 c	3,93
	28	3,17 a	4,38 b	4,43 c	3,99
Média da silagem		3,06	4,16	4,42	
CV (%)			0,74		

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: pH= potencial hidrogeniônico, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

As médias de pH diferentes em todos os tempos de armazenamento em cada tipo de silagem são decorrentes dos diferentes graus de dissociação (pka) dos ácidos em estudo.

Benites (2003) ressalta que o pH limite para manter a qualidade microbiológica das silagens é de 4,5. Durante todos os 5 tempos de amostragem esse limite não foi ultrapassado por nenhuma das silagens em estudo, o que contribui positivamente para a utilização desses ácidos sob concentração de 5% v/p na produção de ensilados químicos de pescado. A maior média de pH foi observada no último tempo de armazenamento na SAP (4,46) e a menor média foi observada na SAF (2,86), no primeiro tempo de amostragem.

O valor de pH encontrado para a SAF após 28 dias de ensilagem (3,17) se distanciou do valor encontrado por Oliveira et al. (2006), ao trabalharem com silagem de resíduos da filetagem de tilápias utilizando a concentração de 3% v/p de ácido fórmico, na qual, após 30 dias de ensilagem, foi verificado o valor de pH igual a 4,25, devido à menor concentração de ácido utilizada para a obtenção da silagem. Todavia, o valor de pH encontrado no presente estudo esteve próximo ao observado por Green et al. (1988), ao trabalharem com silagem ácida de cavala inteira usando o ácido fórmico na concentração de 3,5% v/p, os quais encontraram, após 105 dias de armazenamento, o pH de 3,38.

Para a SAA, o maior valor de pH observado foi 4,38. Esse resultado está acima dos valores encontrados por Benites (2003), a qual encontrou pHs de 4,02 (silagem de resíduo de castanha) e 3,93 (silagem de resíduo de pescada) ao trabalhar com silagens ácidas elaboradas utilizando a concentração de 10% v/p de ácido acético, e dos resultados encontrados por Maia Júnior (1998), utilizando a concentração de 17% v/p de ácido acético na confecção de silagens ácidas, o qual verificou pH na faixa de 3,80 a 4,00 durante 60 dias de armazenamento. Nunes (2001), utilizando a mesma concentração de ácido acético que Maia Júnior (1998), também constatou que o pH durante todo o

experimento manteve-se abaixo de 4,00. Em contrapartida, valores superiores ao do presente estudo foram encontrados por Espíndola Filho et al. (2001), ao estudarem silagens elaboradas utilizando 5% v/p de ácido acético em associação com pó de ostra, os quais observaram o pH de 5,75 após 15 dias de armazenamento.

Encontram-se, na literatura, vários estudos de emprego do ácido propiônico na elaboração de silagem de pescado em combinação com outros ácidos. Não foram encontrados trabalhos em que tal ácido fosse utilizado como único agente de acidificação, provavelmente pelo maior valor de pH em relação aos ácidos fórmico e acético e ao elevado preço.

Santana-Delgado et al (2008), utilizaram o ácido propiônico (1,0% v/p) em combinação com o ácido sulfúrico (1,3% v/p) na elaboração de silagem de cavala espanhola, justificando o uso do ácido sulfúrico para apressar a hidrólise e do ácido propiônico para prevenir o desenvolvimento de microorganismos deteriorantes. Borghesi (2004), ao avaliar o pH de silagens elaboradas utilizando 3% v/p de uma mistura 1:1 de ácido fórmico e propiônico, observou, após 1, 14, 21 e 28 dias de armazenamento, os seguintes valores de pH: 3,80; 4,30; 4,28 e 4,24. Os valores encontram-se próximos aos observados no presente estudo, a partir do 14º dia de armazenamento, e se distanciam dos valores encontrados por Valério (1994), ao utilizar os mesmos ácidos e concentrações que Borghesi (2004), a qual observou a variação de 3,76 a 3,85 nos valores de pH ao longo de 4 semanas de armazenamento.

O comportamento do pH em função do tempo de armazenamento das três silagens produzidas encontra-se na Figura 6, em que se verifica que, ao se avaliarem os diferentes tempos de armazenamento, os dados se ajustaram muito bem ao modelo quadrático, para SAF e SAA, e linear, para SAP ($P < 0,01$).

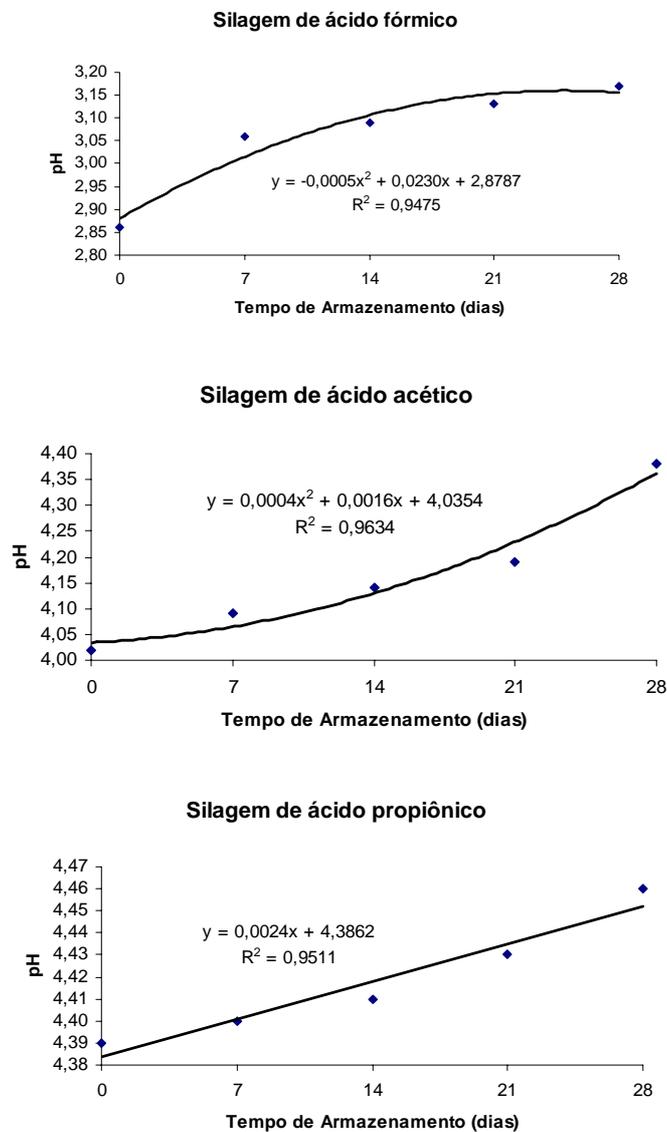


FIGURA 6 Variação do pH das silagens ácidas nos diferentes tempos de armazenamento.

Pelo coeficiente angular negativo da curva de variação do pH ao longo do tempo de armazenamento, para a SAF, nota-se a existência de um ponto de

pH máximo. Verificou-se que o ponto máximo da curva corresponde ao 23º dia de ensilagem e ao valor de pH de 3,14. Por corresponder a um baixo valor de pH, o 23º dia não é visto como crítico para a SAF, mesmo sendo ponto de máximo.

Na SAA foi observado um efeito quadrático com coeficiente angular positivo, e para a SAP, foi observado um efeito linear crescente. Para ambas as silagens, os maiores valores de pH foram observados no 28º dia de armazenamento e corresponderam a 4,38 e 4,46, para SAA e SAF, respectivamente.

As maiores variações de pH ocorrem durante as primeiras 18 horas de ensilagem (Santana-Delgado et al., 2008). Miranda et al. (2004), observaram diferença significativa do pH em relação ao tempo de hidrólise. Conforme ocorreu no presente trabalho para SAF e SAA, o tempo 0 de armazenamento, nos trabalhos dos autores em questão, destacou-se pelo menor valor de pH. Tais autores explicam que o tempo 0 coincide com o início da hidrólise, quando as reações dos ácidos são mais fortes, e complementam que, à medida que transcorre o tempo, os valores de pH começam a aumentar, por diminuição do processo hidrolítico.

A elevação do pH observado ao longo dos dias de ensilagem pode ser atribuída à formação de produtos secundários durante a proteólise, tais como aminoácidos, peptídeos e aminas biogênicas, entre outros. Algumas dessas substâncias podem ter características alcalinas, afetando a capacidade tamponante dos ácidos em estudo, provocando o aumento do pH das biomassas ensiladas (Lindgren & Pleje, 1983; Halasz et al., 1994; Dapkevicius et al., 2000).

5.3 Determinações químicas

5.3.1 Composição centesimal

a) Umidade (U)

Para o teor de umidade, foi observada diferença significativa ($P < 0,01$) para o tipo de silagem e para o tempo de armazenamento, entretanto não foi constatada diferença significativa para a interação entre esses dois fatores ($P > 0,05$).

Os valores médios de umidade observados nas diferentes silagens ácidas durante o armazenamento encontram-se listados na Tabela 4.

TABELA 4 Valores médios de umidade* (%) nas silagens SAF, SAA e SAP em cada período de armazenamento.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
U (%)	0	39,56 a	39,60 a	37,28 b	38,81
	7	39,91 a	40,45 a	39,55 b	39,97
	14	40,77 a	40,82 a	40,10 b	40,56
	21	41,31 a	41,23 a	40,19 b	40,91
	28	41,30 a	42,05 a	40,65 b	41,33
Médias da silagem		40,57 a	40,83 a	39,55 b	
CV (%)			2,63		

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Símbolos utilizados: U= umidade, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

As silagens SAF e SAA apresentaram médias de umidade estatisticamente semelhantes (40,57 e 40,83%, respectivamente) e superiores às da SAP (39,55%).

Quanto menor a cadeia carbônica do ácido, maior será a sua polaridade e, conseqüentemente, maior será a sua solubilidade em água. Após se

solubilizarem na água, os ácidos acético e fórmico podem ser evaporados junto a outras substâncias polares na secagem em estufa a 105°C, sendo detectados como água nessa análise de composição centesimal, contribuindo para o aumento da umidade em relação à matéria-prima *in natura*. O ácido propiônico, por ser mais apolar, tem uma menor porção associada à água, podendo estar associado aos lipídeos, não sendo perdido em proporções semelhantes aos outros ácidos em questão.

O efeito do tempo e armazenamento sobre o teor de umidade nas silagens ácidas pode ser observado pela Figura 7.

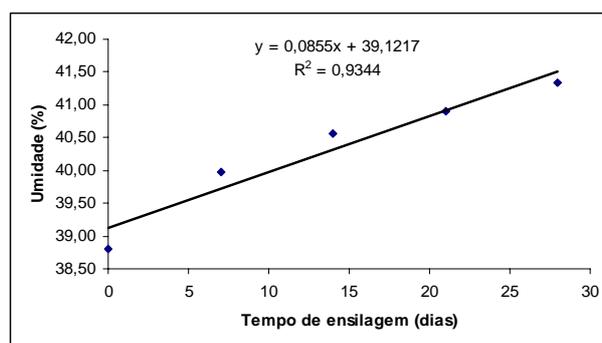


FIGURA 7 Variação do percentual de umidade ao longo dos dias de armazenamento.

Os dias de ensilagem apresentaram um efeito linear crescente (coeficiente angular da reta positivo) sobre o teor de umidade. Durante a hidrólise são formados produtos secundários, tais como ácidos graxos, peptídeos e aminoácidos, os quais, quando solúveis, contribuem para o aumento da umidade ao longo dos períodos de armazenamento.

Oliveira et al. (2006), utilizando ácido fórmico na concentração de 3% v/p na produção de silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias, observaram, assim como no presente estudo, aumento no teor de umidade, o

qual passou de 40,20% (primeiro dia de ensilagem) para 42,09% (trigésimo dia de ensilagem). Dapkevicius et al. (1998), também observaram aumento no teor de umidade de silagens ácidas, de 76,10 no tempo 0 dia de estocagem para 77,20% de umidade no tempo 15 dias de estocagem. Contrariamente, Valério (1994), observou diminuição do teor de umidade com o passar do tempo de armazenamento em sistema aberto em silagem ácida de sardinha, provocada pelo ressecamento da massa.

Oetterer (2002) sugere a diminuição da atividade de água na matéria-prima para a prevenção de alterações em produtos e subprodutos de pescado. Em contrapartida, Miranda et al. (2004), adicionaram água como mais um dos ingredientes utilizados na elaboração de silagens ácidas, o que contribui para o aumento da velocidade dos processos hidrolíticos, resultando em rápida liquefação do material ensilado, favorecendo a proteólise.

b) Extrato etéreo (EE)

Com base no teste de médias para o conteúdo de extrato etéreo, pode-se observar que houve diferença significativa ($P < 0,01$) entre todas as silagens em estudo, tanto para a matéria seca como para a matéria integral. Também foi observada interação significativa para os tempos de ensilagem. Porém, a interação entre o tipo de silagem e o tempo de armazenamento não foi significativa ($P > 0,05$).

Os valores médios de extrato etéreo na matéria seca e integral encontram-se sintetizados na Tabela 5.

TABELA 5 Valores médios* de extrato etéreo (%) na matéria seca (MS) e integral (MI) das silagens ácidas.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
EE(MS)	0	26,53 b	24,80 a	25,94 c	25,76
	7	31,43 b	30,14 a	31,93 c	31,17
	14	33,72 b	33,17 a	35,69 c	34,19
	21	33,58 b	32,58 a	35,61 c	33,92
	28	32,99 b	32,99 a	34,54 c	33,51
Média da silagem		31,65 b	30,74 a	32,74 c	
CV (%)	5,74				
EE(MI)	0	16,03 b	14,98 a	16,27 c	15,76
	7	18,88 b	17,95 a	19,33 c	18,72
	14	19,98 b	19,64 a	21,38 c	20,33
	21	19,71 b	19,15 a	21,30 c	20,05
	28	19,36 b	19,12 a	20,48 c	19,65
Média da silagem		18,80 b	18,17 a	19,75 c	
CV (%)	6,16				

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: EE= extrato etéreo, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

Seguindo novamente a idéia das propriedades físicas dos ácidos orgânicos, baseada no tamanho de cadeia carbônica, era de se esperar que a solubilização dos lipídeos pelos ácidos ocorresse na ordem: propiônico > acético > fórmico. Entretanto, o teor de lipídeos observado na SAF foi superior ao observado na SAA. O alto teor de lipídeos pode prejudicar a amostragem, dificultando a homogeneização do material ensilado, podendo ocorrer erros na determinação dessa variável (Espe & Lied, 1999). É importante ressaltar que antes da coleta de cada período de ensilagem buscou-se homogeneizar os sistemas em análise o máximo possível, a fim de minimizar os erros experimentais.

Os resultados dos testes estatísticos para o teor de extrato etéreo na matéria integral e na matéria seca, como observado na Tabela 5, foram os mesmos. O menor teor de extrato etéreo foi observado na SAA, sendo 18,17 % na MI e 30,74 % na MS, seguido da SAF, que apresentou 18,80 e 31,65% de EE na MS e na MI, respectivamente; finalmente, a maior média de extrato etéreo foi observada na SAP, apresentando os valores de 19,75 % e 32,74% na MS e na MI, respectivamente.

Valores semelhantes aos encontrados no presente trabalho foram obtidos por Paiva et al. (2008), os quais, ao trabalharem com os mesmos ácidos (acético, propiônico e fórmico), concentração (5%v/p) e tipo de resíduo (provenientes da filetagem de tilápias), encontraram, após 30 dias de ensilagem, os valores de: 37,11; 35,53 e 38,63% de EE na matéria seca para SAF, SAA e SAP, respectivamente.

A composição final da silagem varia principalmente quanto ao teor de lipídeos, de acordo com o tipo de resíduo empregado, a época de captura e o sexo dos animais (Haard et al., 1985; Borghesi, 2004).

Pela Figura 8 pode-se observar o aumento crescente do teor de extrato etéreo em função do armazenamento das silagens. Ocorre um ponto de máximo teor de extrato etéreo em torno do 19º dia de ensilagem.

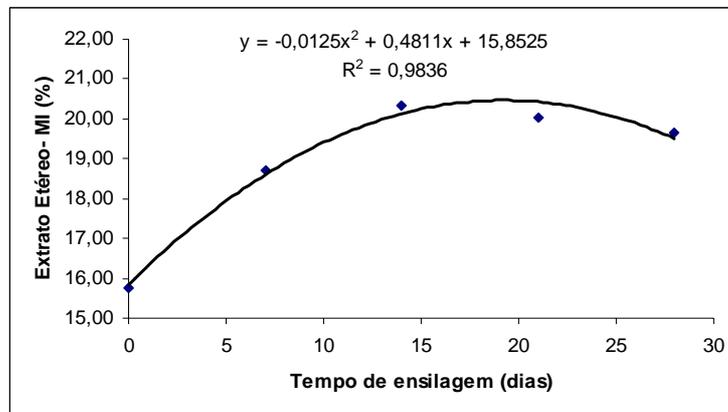


FIGURA 8 Variação do teor de extrato etéreo (MI) ao longo dos dias de armazenamento nas silagens ácidas.

Dapkevicius et al. (1998), observaram um aumento no teor de lipídeos de 11,30 (no tempo 0 dia) para 14,90% (no tempo 15 dias) com base na matéria seca. Um decréscimo no conteúdo de extrato etéreo com o passar dos dias de ensilagem foi observado na silagem ácida estudada por Oliveira et al. (2006), entretanto tais autores não utilizaram antioxidantes como um dos ingredientes para a elaboração da silagem, podendo ter ocorrido oxidações nos lipídeos, acarretando a diminuição no teor de extrato etéreo.

O aumento na liquefação do material ensilado durante o armazenamento resulta na desintegração da biomassa, na qual ocorre a separação de fases, formando uma camada de óleo sobrenadante (Miranda et al., 2001; Miranda et al., 2005). À medida que outros participantes da composição centesimal são perdidos (como a proteína), o conteúdo de EE em relação ao total (100%) aumenta como observado na Figura 8.

Alguns autores (Tatterson & Windsor, 1974; Kompiang, 1981) aconselham a retirada da fração oleosa da biomassa à medida que a mesma se

separa do material a fim de evitar perdas nutricionais iniciadas por metabólitos secundários oriundos da oxidação lipídica. Outros tais como Miranda & Maggi (1991), atentam para a escolha de espécies de menor teor de lipídeos para a produção das silagens de pescado, recomendando a mistura de peixes magros e gordos como matéria-prima. Entretanto, Valério (1994), defende a idéia de não retirada da porção oleosa, uma vez que, em escala piloto, essa etapa seria bastante onerosa. Além disso, o óleo de tilápia proveniente do processo de silagem ácida pode ser utilizado em substituição ao óleo de soja nas rações, por ser fonte de ácidos graxos poliinsaturados (Maia Júnior, 1998).

c) Proteína bruta (PB)

Com relação ao conteúdo de proteína bruta, observou-se interação significativa entre o tempo de armazenamento e o tipo de ácido ($P < 0,01$). A Tabela 6 apresenta as médias de proteína na matéria seca e na matéria integral ao longo do processo de ensilagem para os tratamentos, bem como o resultado das análises estatísticas, por meio dos quais se verifica que o tipo de silagem e o tempo de armazenamento interferiram na variável em questão.

TABELA 6 Valores de proteína bruta (PB) na matéria seca (MS) e na matéria integral (MI) ao longo do processo de ensilagem

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
PB (MS)	0	45,48 a	48,02 b	45,87 a	46,46
	7	41,39 a	45,08 b	41,16 a	42,55
	14	41,69 a	43,32 b	40,45 a	41,82
	21	42,32 a	41,97 a	40,73 a	41,68
	28	43,38 b	40,53 a	41,52 a	41,81
Média da silagem		42,85	43,78	41,95	
CV (%)			3,64		
PB (MI)	0	27,49 a	29,01 b	28,78 b	28,43
	7	26,66 b	26,85 b	24,87 a	26,13
	14	24,70 a	25,63 a	24,24 a	24,86
	21	24,84 a	24,67 a	24,37 a	24,63
	28	25,45 b	23,48 a	24,65 b	24,53
Média da silagem		25,83	25,93	25,38	
CV (%)			4,22		

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados = SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

A escolha do ácido é crucial para a qualidade protéica da silagem. Os ácidos podem desnaturar, quebrar ou precipitar proteínas. A ação do ácido será determinada pelas condições de acidez. Em acidez branda não há praticamente degradação de proteínas, podendo ocorrer perda de solubilidade das proteínas cujos pontos isoeletrônicos estiverem na faixa de pH ligeiramente ácidos. Contudo, em soluções altamente ácidas, as proteínas podem ser parcialmente ou totalmente hidrolisadas. Alguns aminoácidos podem ser totalmente destruídos, como o triptofano, ou parcialmente perdidos, como serina, treonina e cisteína (Sgarbiéri, 1996).

Para os tempos 14 dias e 21 dias, as médias dos valores de proteína bruta na matéria integral de todas as silagens foram estatisticamente semelhantes. No

tempo 0 dia, as maiores médias foram encontradas nas silagens SAA e SAP. Já para o tempo 7 dias, SAF e SAA se destacaram em relação a SAP por possuírem maior conteúdo de proteína bruta. Após 28 dias de armazenamento, a menor média foi observada na SAA (23,48%), enquanto as silagens SAF e SAP apresentaram maiores teores de proteína bruta (25,45 e 24,65 %, respectivamente).

Os teores de proteína bruta encontrados nesta pesquisa, tomando como base a matéria seca, foram inferiores aos encontrados por Oliveira (2003), que ao investigar o teor protéico de silagens ácidas de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) inteiras utilizando 3,5% v/p de uma mistura de ácido sulfúrico e fórmico (3:1), encontrou 58,71 % de proteína bruta; e aos observados por Nunes (2001) e Seibel & Souza-Soares (2003), os quais, analisando silagens ácidas de pescado, encontraram os valores de 73,2 e 56,68%, respectivamente. É importante salientar que diferenças entre o tipo e a composição da matéria-prima podem acarretar diferentes valores de nutrientes nas silagens ácidas, como o valor do conteúdo de proteína bruta.

Geron et al. (2007), ao trabalharem com silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias (2% v/p de ácido sulfúrico + 2% v/p de ácido fórmico) após 180 dias de ensilagem, observaram valores de proteína bruta inferiores aos encontrados no presente experimento (37,01%, com base na matéria seca).

Vidotti (2001) e Arruda (2004), ambas trabalhando com matéria-prima originária da filetagem de tilápias, obtiveram 13,49 e 12,85% de proteína bruta, respectivamente. O tipo de matéria-prima (Arruda, 2004) e diferentes concentrações e tipos de ácidos levam às diferenças nas variáveis de qualidade observadas nas diferentes silagens.

As Figuras 9, 10 e 11 ilustram o comportamento do conteúdo protéico com base na matéria integral das silagens SAF, SAA e SAP, respectivamente, ao longo dos dias de armazenamento. O comportamento da proteína bruta com base

na matéria seca ao longo dos dias de armazenamento em todas as silagens ácidas foi semelhante, sendo, portanto, omitidas as figuras relativas a essas variáveis.

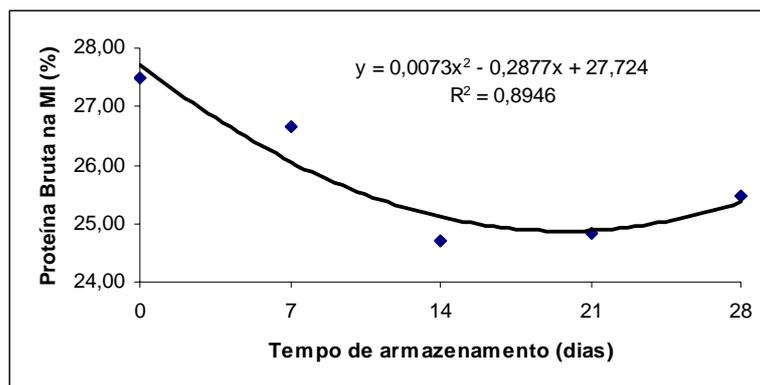


FIGURA 9 Variação da proteína bruta ao longo dos dias de armazenamento da silagem elaborada com ácido fórmico (SAF).

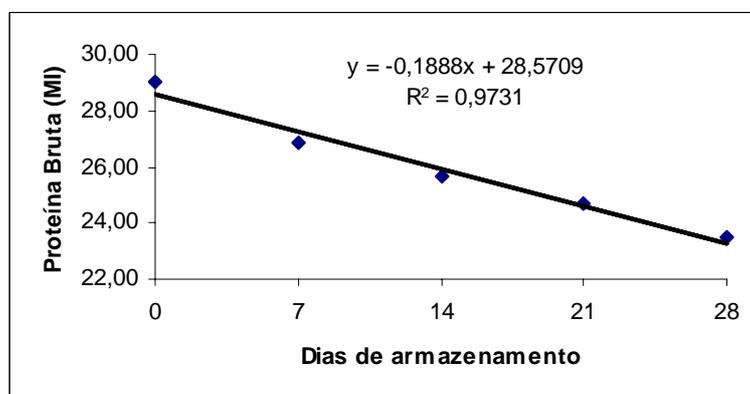


FIGURA 10 Variação da proteína bruta ao longo dos dias de armazenamento da silagem elaborada com ácido acético (SAA).

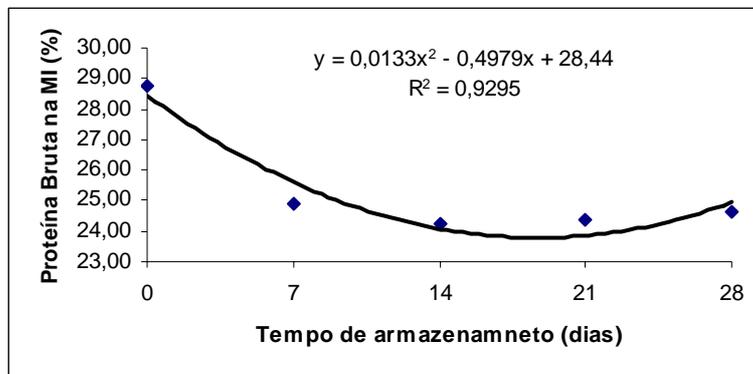


FIGURA 11 Variação da proteína bruta ao longo dos dias de armazenamento da silagem elaborada com ácido acético (SAP).

Os processos proteolíticos são bastante intensos durante a primeira semana de ensilagem, quando a maior parte das proteínas presentes na biomassa é convertida em peptídeos e aminoácidos livres. Essas transformações podem melhorar a digestibilidade da silagem (Morales-Ulloa & Oetterer, 1997). Os aminoácidos resultantes da hidrólise protéica podem ser desaminados e descarboxilados, atuando como precursores de aminas biogênicas, compostos potencialmente tóxicos a alguns animais (Baraquet & Lindo, 1985).

Em todos os sistemas observou-se diminuição do conteúdo protéico ao longo dos dias de armazenamento. Para as silagens SAF e SAP foi observado efeito quadrático ao longo dos dias de ensilagem, ocorrendo valores menores de proteína bruta próximo aos tempos 20 e 19 dias, respectivamente; enquanto, para a SAA, foi observado efeito linear decrescente. A redução no conteúdo protéico é decorrente da hidrólise protéica, a qual converte as proteínas em amônio, que podem se volatilizar durante o processamento e armazenamento da silagem (Santana-Delgado et al., 2008). Geron et al. (2007), observaram queda de 9% do

teor de proteína bruta em silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias, após 180 dias de armazenamento, em relação à matéria-prima.

Pela avaliação dos gráficos acima, pode-se notar que o valor nutritivo, em termos do teor de proteína bruta, está indiretamente relacionado com o tempo de estocagem. O maior valor nutricional é atribuído ao período logo após o preparo, ou seja, a silagem fresca é nutricionalmente superior à silagem estocada (Stone & Haardy, 1986; Espe et al., 1989; Valério, 1994).

A água é o solvente natural das proteínas e seu elevado conteúdo provoca maiores oportunidades de reações químicas e bioquímicas (Sgarbieri, 1996). Em valores de pH menores ou maiores que o ponto isoelétrico, a proteína apresenta carga negativa ou positiva, respectivamente, e as moléculas de água podem interagir com essas cargas, solubilizando a proteína (Ribeiro & Seravalli, 2004).

O aumento do teor de umidade ao longo dos dias de ensilagem em todos os sistemas analisados pode ter contribuição somada à degradação das proteínas. Isso pode ser verificado pela correlação simples entre essas duas variáveis. Os coeficientes de correlação simples (r) do teor de umidade e do teor de proteína total, para as silagens produzidas, foram -0,890 para SAF, -0,989 para SAA e para -0,963 SAP. Os valores acima de 0,8, observados nas silagens em estudo, indicam a existência da correlação entre as variáveis. Duas variáveis estão correlacionadas quando uma mudança no valor de uma das variáveis tende a estar associada com a mudança no valor de outra (Montgomery, 1991). Os valores negativos indicam a existência de uma correlação inversa: à medida que o teor de umidade aumenta, ocorre um decréscimo no teor de proteína bruta.

As proteínas podem agir no sentido de seqüestrar peróxidos e produtos de degradação de lipídeos insaturados. Dessa forma, a degradação de proteínas pode ocorrer antes que o produto revele-se inaceitável do ponto de vista organoléptico (Sgarbieri, 1996).

Cabe ressaltar que, mesmo havendo diminuição do teor de proteína com o tempo de armazenamento, o conteúdo remanescente é alto após 28 dias, e os possíveis benefícios de melhoria na digestibilidade seguramente podem suprir essa pequena perda de valor nutricional.

d) Cinzas (C)

A fração cinza é uma importante variável de qualidade por guardar os minerais presentes nas silagens; assim, quanto mais elevado o seu teor, maior valor nutritivo terá o alimento, tanto para o uso como ração como para o consumo humano (Moralles-Ulloa, 1994).

Foram encontradas diferenças estatísticas ($P < 0,01$) entre os tempos de armazenamento para o teor de cinzas na matéria seca e na matéria integral, e para o tipo de silagem na matéria integral. Não foram encontradas diferenças estatísticas para a interação entre os fatores tempos de armazenamento e tipos de silagem ($P > 0,05$), tanto na matéria seca como na matéria integral.

Os valores médios do teor de cinzas encontram-se sumarizados na Tabela 7.

TABELA 7 Valores médios do teor de cinzas* na matéria integral (MI) e seca (MS) das silagens ácidas SAF, SAA e SAP nos 5 tempos de armazenamento.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
C(MS)	0	25,89 a	24,83 a	25,52 a	25,41
	7	23,21 a	22,80 a	23,30 a	23,10
	14	22,92 a	22,23 a	22,60 a	22,58
	21	22,68 a	22,17 a	22,10 a	22,32
	28	19,97 a	19,46 a	20,20 a	19,88
Média das silagens		22,93 a	22,30 a	22,74 a	
CV (%)		5,13			
C(MI)	0	15,65 b	15,00 a	15,99 b	15,55
	7	13,94 b	13,58 a	14,08 b	13,87
	14	13,58 b	13,16 a	13,53 b	16,46
	21	13,31 b	13,03 a	13,23 b	13,19
	28	11,72 b	11,28 a	12,00 b	11,67
Média das silagens		13,64 b	13,21 a	13,76 b	
CV (%)		5,32			

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Simbolos utilizados: C= cinzas, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

Como explicado anteriormente, com base na matéria seca não foram observadas diferenças significativas entre as silagens em estudo. Contudo, em relação à matéria integral, a SAA apresentou média diferente e menor do que as demais (Tabela 7).

Soluções ácidas podem solubilizar os nutrientes da silagem, o que os desloca para a porção sobrenadante da silagem, fazendo com que os minerais se concentrem na parte sólida e resultando em alta concentração de minerais nas farinhas de silagem (Benites, 2003). O elevado teor de minerais presentes nas silagens pode ser decorrente do uso de carcaças (sem vísceras e cabeças), conforme mencionado por Oliveira et al. (2006).

Os valores encontrados na presente pesquisa estão próximos aos encontrados por Geron et al. (2007), que obtiveram 23,47% de cinzas (com base na matéria seca), e aos relatados por Carmo et al. (2008), os quais observaram, com base na matéria seca de SAA e SAP, os valores de 20,81 e 20,97% de cinzas, respectivamente.

Visualizam-se, pela Figura 12, os efeitos do tempo de armazenamento sobre o conteúdo de cinzas.

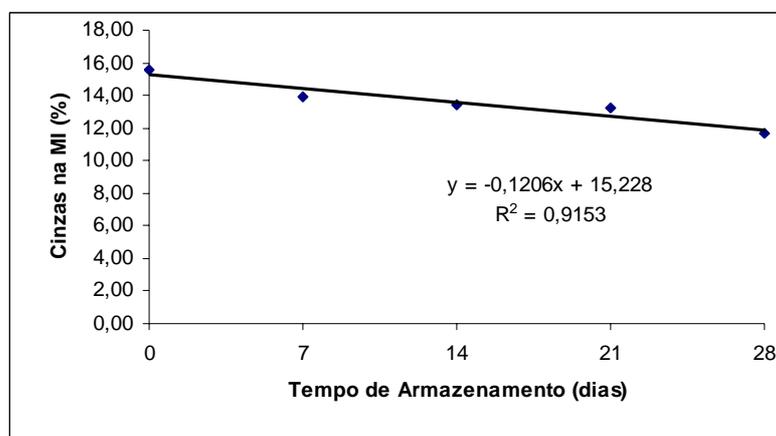


FIGURA 12 Variação do teor de cinzas ao longo dos dias de armazenamento.

Com a Figura 12, percebe-se uma diminuição linear no teor de cinzas ao longo dos dias de armazenamento. O decréscimo no conteúdo de minerais também foi observado por Dapkevicius et al. (1998), que observaram a redução de 13,4 % no tempo 0 dia para 11,8% de cinzas na matéria seca no tempo 15 dias. As maiores concentrações de cinzas observadas nos primeiros períodos de armazenamento podem ter ocorrido em virtude da não solubilização de ossos e escamas, o que dificulta a amostragem. Com o passar dos dias, tais materiais foram se tornando mais solúveis, pois nos trabalhos de Oliveira et al. (2006) e

Valério (1994) a fração cinza durante o tempo de armazenamento foi praticamente invariável.

5.3.2 Nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio protéico (NP)

Foi observada interação significativa ($P < 0,01$) entre os fatores silagem e tempo de armazenamento para as variáveis Nitrogênio Total, Nitrogênio Protéico e Nitrogênio Não Protéico. As médias dessas variáveis para cada tempo de armazenamento em cada uma das silagens, bem como os resultados das análises estatísticas, podem ser observadas com base na matéria integral, pela Tabela 8, e com base na matéria seca, pela Tabela 9.

TABELA 8 Médias das variáveis NT, NP e NNP* nas silagens ácidas com base na matéria integral

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
NT (%)	0	4,40 a	4,64 b	4,60 b	4,55
	7	4,27 b	4,30 b	4,60 b	4,39
	14	3,95 a	4,10 b	3,88 a	3,98
	21	3,97 a	3,95 a	3,90 a	3,94
	28	4,07 b	3,76 a	3,94 a	3,92
Média da silagem		4,13	4,15	4,18	
CV (%)		4,22			
NP (%)	0	3,70 a	3,91 b	3,89 b	3,83
	7	3,24 b	3,32 b	3,06 a	3,21
	14	2,68 a	3,00 b	2,67 a	2,78
	21	2,55 a	2,54 a	2,50 a	2,53
	28	2,55 a	2,29 a	2,40 b	2,41
Média da silagem		3,59	3,63	3,60	
CV (%)		4,47			
NNP (%)	0	0,70 a	0,73 a	0,72 a	0,72
	7	1,03 b	0,97 a	0,92 a	0,97
	14	1,28 b	1,10 a	1,21 b	1,20
	21	1,42 a	1,41 a	1,40 a	1,41
	28	1,53 a	1,46 a	1,54 a	1,51
Média da silagem		2,89	2,90	2,88	
CV (%)		5,73			

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: NT= Nitrogênio total, NNP = Nitrogênio não protéico, NP= Nitrogênio protéico, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

TABELA 9 Médias das variáveis NT, NP e NNP* nas silagens ácidas com base na matéria seca

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
NT (%)	0	7,28 a	7,68 b	7,34 a	7,43
	7	7,10 b	7,21 b	6,59 a	6,97
	14	6,67 a	6,93 b	6,47 a	6,69
	21	6,77 a	6,72 a	6,52 a	6,67
	28	6,94 b	6,49 a	6,64 a	6,69
Média da silagem		6,95	7,01	6,71	
CV (%)		3,63			
NP (%)	0	6,12 a	6,48 b	6,20 a	6,27
	7	5,39 b	5,58 b	5,06 a	5,34
	14	4,52 a	5,07 b	4,45 a	4,68
	21	4,35 a	4,32 a	4,17 a	4,28
	28	4,34 b	3,96 a	4,04 a	4,11
Média da silagem		4,94	6,13	5,84	
CV (%)		3,84			
NNP (%)	0	1,16 a	1,20 a	1,14 a	1,17
	7	1,71 b	1,63 b	1,52 a	1,62
	14	2,15 c	1,86 a	2,02 b	2,01
	21	2,42 a	2,39 a	2,35 a	2,39
	28	2,60 a	2,53 a	2,60 a	2,58
Média da silagem		2,01	1,92	1,93	
CV (%)		5,38			

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: NT= Nitrogênio total, NNP = Nitrogênio não protéico, NP= Nitrogênio protéico, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

O grau de hidrólise protéica é um importante critério químico na avaliação da qualidade nutricional das silagens de pescado. De acordo com Valério (1994), o grau de hidrólise pode ser aferido pela observação visual, pelas taxas de conversão do nitrogênio (quanto maior o NNP em relação ao NP, mais hidrolisado estará o sistema) e pela digestibilidade após os dias de ensilagem. A

atividade autolítica que ocorre durante o período de armazenamento provoca o aumento de substâncias nitrogenadas, como amônio, aminas, aminoácidos e peptídeos, as quais são quantificadas como nitrogênio não protéico (Lindgren & Pleje, 1983; Gonzáles & Marín, 2005).

Com relação ao NNP observa-se, pelos dados contidos na Tabela 8, que no tempo inicial (0 dia) todas as silagens apresentaram valores estatisticamente semelhantes. As diferenças entre os tipos de silagens (SAF, SAA e SAP) começaram a se pronunciar a partir da primeira semana de ensilagem, quando foi verificado o maior valor de NNP para a SAF (1,03%), enquanto, na SAA e na SAP, foram obtidos valores estatisticamente semelhantes. Entretanto, na terceira semana (14 dias) de ensilagem, o valor de NNP da SAP se equiparou ao valor da SAF, sendo o menor valor para essa variável, no referido período, constatado na SAA. A partir do tempo 21 dias, os valores de NNP para todas as silagens apresentaram conteúdo de NNP estatisticamente iguais. Desse modo, o efeito dos ácidos fórmico, acético e propiônico pode ser equiparado em todos os tempos de análise, à exceção do 14º dia de armazenamento.

Os valores de solubilização do nitrogênio, e consequentemente de solubilização da proteína, expressos como NNP, podem ser visualizados na Figura 13.

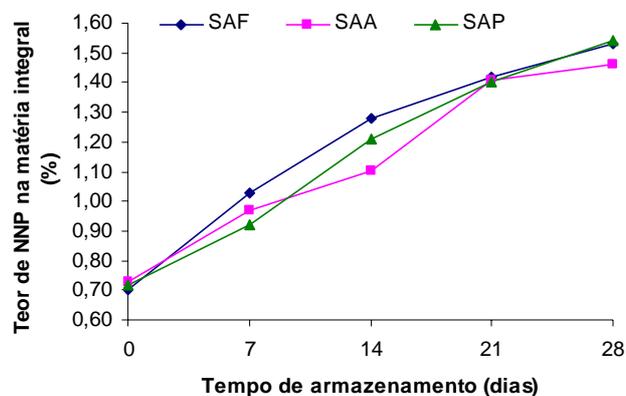


FIGURA 13 Mudanças no teor de nitrogênio não protéico nas silagens ácidas ao longo dos períodos de armazenamento.

Observa-se, na Figura 13, um rápido aumento na solubilização do nitrogênio durante a primeira semana em todas as silagens, que, de uma maneira geral, continuou a proceder até o final do experimento. Stone & Hardy (1986), afirmam que nos primeiros dias de ensilagem (de 3 a 7 dias) ocorre acentuada proteólise e a maioria das proteínas é transformada em aminoácidos e peptídeos de cadeia curta, aumentando a digestibilidade das silagens.

González & Marin (2005), estudando silagens biológicas de resíduos de sardinha armazenadas por 60 dias, verificaram um aumento significativo no teor de NNP até o 13º dia de ensilagem, continuando sua ascensão, porém em menor velocidade, até o final do experimento.

Após a primeira semana de ensilagem, as porcentagens de NNP em relação ao NT para as silagens SAF, SAA e SAP foram de 24,08; 22,63 e 23,08%, respectivamente. Entretanto, Disney et al. (1977) preconizam que cerca de 70% do nitrogênio torna-se solúvel durante a primeira semana de ensilagem.

Após 28 dias de armazenamento, os percentuais de NNP em relação o NT para as silagens SAF, SAA e SAP foram de 37,47; 38,97 e 39,13%, respectivamente. Esses valores se distanciaram dos obtidos por Santana-Delgado et al. (2008), os quais observaram, após 1, 13 e 60 dias de armazenamento, teores de NNP de 40% do NT, 64-70% do NT e 87-88% do NT, respectivamente, em silagem ácida (resíduo de cavala espanhola + 1% v/p de ácido fórmico + 1,3% de ácido sulfúrico) mantida à temperatura ambiente de 25°C. Todavia, os valores constatados no presente estudo corroboram os obtidos por Valério (1994), que estudando as modificações do nitrogênio protéico durante a ensilagem ácida de sardinha (*Sardinella brasiliensis*), verificou que ao final do experimento (4 semanas), 36,28% do nitrogênio total estava sobre a forma de nitrogênio não protéico.

Os valores reduzidos de nitrogênio solúvel (NNP) nas silagens em estudo podem ter ocorrido devido ao alto teor de lipídeos, pois, segundo Ramos et al. (1994), a excessiva solubilização da proteína pode ser reduzida pelos lipídeos presentes na silagem.

Nota-se, pela Figura 14, a relação inversa entre o NP e o NNP no decorrer dos dias de armazenamento, o que corrobora os trabalhos de Backhoff (1976) e Valério (1994).

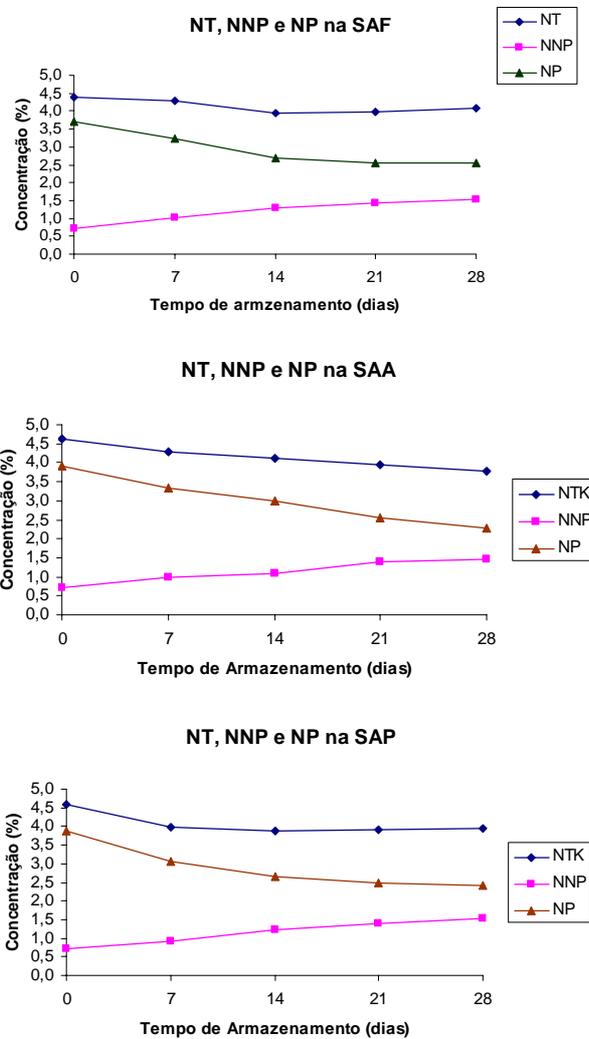


FIGURA 14 Relação inversa entre os teores de nitrogênio protéico (NP) e nitrogênio não protéico (NNP) nas silagens SAF, SAA e SAP.

5.3.3 Determinação dos minerais cálcio e fósforo

As análises de cálcio e fósforo foram realizadas a fim de informar o teor desses minerais após 28 dias de ensilagem, sendo apenas descritivas (não foram submetidas a testes estatísticos).

Os teores de cálcio e fósforo na matéria seca e na matéria integral das silagens ácidas após 28 dias de armazenamento estão apresentados na Tabela 10.

TABELA 10 Conteúdo de cálcio e fósforo nas silagens SAF, SAA e SAP após 28 dias de armazenamento.

Silagem	Cálcio (%)		Fósforo (%)	
	Matéria seca	Matéria integral	Matéria seca	Matéria integral
SAF	3,34	1,96	3,01	1,77
SAA	3,27	1,89	2,91	1,68
SAP	3,35	1,99	2,99	1,77

Símbolos utilizados = SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

Os valores estão próximos aos obtidos por Geron et al. (2007), os quais encontraram 4,9% e 4,3% de cálcio e fósforo, respectivamente, em silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias com base na matéria seca, e superiores aos encontrados por Maia Júnior (1998), que obteve 1,6% de cálcio e 1,2% de fósforo em farinhas de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias, e por Guilherme et al. (2007), que obtiveram 0,45 % de cálcio e 0,04% de fósforo em silagem ácida de cabeça de camarão.

5.3.4 Características físicas dos óleos brutos das silagens

a) Índice de peróxidos (IP)

O índice de peróxido (IP) é um indicador muito sensível no estágio inicial da oxidação, e sua presença é um indicio de que a deterioração do sabor e odor, em função de sua instabilidade, está por acontecer (Araújo, 2004).

Os óleos extraídos das silagens em estudo, em todos os tempos de armazenamento, não apresentaram formação de peróxidos, comprovando a eficiência de proteção do antioxidante BHT, o qual, segundo Araújo (2004), é o mais eficiente em gorduras ou óleos animais.

Seibel (2002), preparou silagens ácidas utilizando 15% de ácido acético por 2 processamentos, um utilizando o BHT (200mg/kg de resíduo) e outro sem adição de BHT, variando a quantidade de ácido acético. Após 25 dias de armazenamento, não foi detectada a formação de peróxidos em ambos os processamentos. Segundo a autora, o ácido acético pode ter atuado como inibidor na formação de peróxidos.

b) Índice de iodo (II)

O índice de iodo é uma medida da insaturação dos óleos (Araújo, 2004) assim, quanto mais elevado for seu conteúdo, maior será o número de insaturações dos ácidos graxos constituintes dos óleos.

Para o índice de iodo não foram detectadas diferenças significativas entre os fatores tipo de silagem e tempo de armazenamento, nem para a interação entre eles ($P>0,05$). Esses resultados indicam que não existiram mudanças no número de insaturações dos ácidos graxos ao longo do armazenamento, bem como não foram observadas diferenças para o tipo de silagem.

As médias dos índices de iodo para os diferentes tipos de silagens submentidas a 5 tempos de armazenamento encontram-se resumidas na Tabela 11.

TABELA 11 Médias dos índices de iodo* (gI/100g) nas silagens ácidas SAF, SAA e SAP ao longo dos 5 períodos de armazenamento.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
II (gI/100g)	0	120,78 a	120,65 a	120,40 a	120,61
	7	120,40 a	120,52 a	120,27 a	120,40
	14	120,14 a	120,27 a	120,14 a	120,18
	21	119,63 a	120,02 a	120,02 a	119,89
	28	119,00 a	119,89 a	119,76 a	119,55
Média da silagem		119,99 a	120,27 a	120,12 a	
CV(%)			1,34		

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Simbolos utilizados: II= índice de iodo, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

As médias estão próximas às encontradas por Seibel & Souza-Soares (2003) e Benites (2003), que encontraram, em óleos brutos extraídos de silagem ácida, 113,59 e 120,00 gI/100g; e Grunennvaldt et al. (2005), que observaram, em óleos refinados de silagens ácidas, 134,8 gI/100g. Todavia, valores inferiores foram relatados por Vidotti & Gonçalves (2006), que obtiveram 87,8 CgI/g em silagens ácidas (1% fórmico +1% sulfúrico).

c) Índice de saponificação (IS)

O índice de saponificação (IS) é um importante atributo de qualidade dos óleos, uma vez que indica o peso molecular médio dos ácidos graxos esterificados ao glicerol. Um IS pequeno indica a existência de ácidos graxos com peso molecular elevado, e um IS elevado indica a existência de ácidos graxos de pequeno peso molecular (Araújo, 2004).

Foram detectadas diferenças estatísticas significativas para essa variável em relação ao tipo de silagem ($P < 0,01$) e ao tempo de armazenamento ($P < 0,01$); entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas para a interação entre os mesmos ($P > 0,05$).

Na Tabela 12 estão listadas as médias de índice de saponificação observadas nos diferentes tipos de silagens em cada tempo de armazenamento.

TABELA 12 Médias dos índices de saponificação* (mgKOH. g⁻¹) nas silagens ácidas SAF, SAA e SAP.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média do tempo
IS (mgKOH.g ⁻¹)	0	166,70 c	164,50 b	151,33 a	160,84
	7	170,13 c	166,84 b	152,02 a	163,00
	14	172,32 c	167,38 b	154,76 a	164,82
	21	173,56 c	168,07 b	155,45 a	165,69
	28	175,48 c	168,89 b	156,27 a	166,88
Média da silagem		171,64 c	167,14 b	153,97 a	
CV (%)			1,73		

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: IS = Índice de saponificação, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

Os valores apresentados na Tabela 12 permitem verificar que a SAF apresentou maior média (171,54 mgKOH.g⁻¹), sendo a menor média constatada na SAP (153,97 mgKOH.g⁻¹), indicando que na SAP existe maior conteúdo de ácidos graxos de cadeia longa. Esses resultados encontram-se próximos aos valores obtidos por Seibel (2002), que observou 157,87 mgKOH.g⁻¹ para o índice de saponificação de óleos provenientes de silagens ácidas (15% v/p de ácido acético). Entretanto, os valores observados na presente pesquisa foram inferiores aos relatados por Grunennvaldt et al. (2005), trabalhando com óleos refinados de silagem ácida, e aos obtidos por Benites (2003), avaliando óleo bruto de silagens ácidas, os quais observaram, respectivamente, 186,70 e 184,40 mgKOH.g⁻¹; e superiores ao relatado por Maia Júnior et al. (1998), que constataram o índice de saponificação de 126,78 mgKOH.g⁻¹ em silagens ácidas (17% v/p de ácido acético) de resíduos da filetagem de tilápias.

A Figura 15 ilustra o comportamento do índice de saponificação das silagens ao longo dos dias de armazenamento.

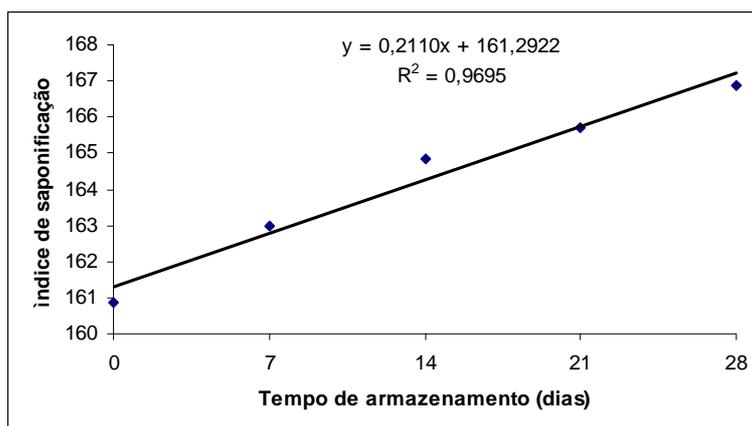


FIGURA 15 Variação do índice de saponificação ao longo dos dias de armazenamento.

O aumento no índice de saponificação com o decorrer dos dias de armazenamento, visualizado pela Figura 15, pode ser um indicativo do aumento de ácidos graxos de cadeia curta, oriundos da hidrólise dos ácidos graxos de cadeia longa.

d) Índice de acidez (IA)

O índice de acidez revela a existência de substâncias que se associam ao hidróxido de sódio, possuindo características ácidas. Para a variável índice de acidez foram observadas diferenças significativas entre os tipos de silagem estudados ($P < 0,01$). Diferenças também foram detectadas entre os tempos de armazenamento ($P < 0,01$), porém a interação entre o tipo de silagem e o tempo de armazenamento não foi significativa ($P > 0,05$).

Os valores médios dos índices de acidez das silagens SAF, SAA e SAP nos períodos de armazenamento encontram-se sumarizados na Tabela 13.

TABELA 13 Valores médios* dos índices de acidez (mgNaOH.g^{-1}) dos óleos para as silagens SAF, SAA e SAP nos 5 períodos de armazenamento.

Variável	Tempo (dias)	SAF	SAA	SAP	Média dos tempos
IA (mgNaOH.g^{-1})	0	9,42 b	7,29 a	7,18 a	7,96
	7	9,20 b	6,96 a	6,84 a	7,67
	14	9,09 b	6,62 a	6,73 a	7,48
	21	8,92 b	6,34 a	6,34 a	7,20
	28	8,47 b	6,11 a	6,23 a	6,94
Média da silagem		9,03 b	6,66 a	6,66 a	
CV(%)			6,92		

* Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: IA= índice de acidez, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

O maior índice de acidez foi observado para a silagem SAF devido ao fato de o ácido fórmico ser mais forte em relação aos demais, o que acarreta menor pH (Tabela 3) da silagem e maior acidez do óleo. As médias dos índices de acidez para SAA e SAP foram estatisticamente semelhantes (6,66 para ambas as silagens), o que corrobora os valores de pH próximos de ambas as silagens. Dessa maneira, os melhores tratamentos em relação à acidez dos óleos brutos foram a SAA e a SAP. Os valores de acidez estão próximos aos encontrados por Benites (2003), utilizando 10% v/p de ácido acético, que obteve, após 15 e 30 dias de armazenamento, os valores de 3,50 e 12,50 mgNaOH.g^{-1} , respectivamente; e se distanciam do valor encontrado por Arruda (2004), em óleo bruto extraído de silagens ácidas de resíduos de tilápia (utilizando 3% v/p de uma mistura 1:1 de ácido propiônico e fórmico), de 19,81 mgNaOH.g^{-1} . A autora atribui o alto índice de acidez observado ao uso da solução ácida para

elaborar a silagem. Valores superiores também foram verificados por Maia Júnior et al. (1998) e Seibel & Souza-Soares (2003), que verificaram 56,0 e 203,93 mgNaOH. g⁻¹ ao utilizarem 17 e 15 % v/p de ácido acético em suas silagens, respectivamente.

O comportamento do índice de acidez ao longo dos dias de armazenamento das silagens ácidas pode ser observado pela Figura 16.

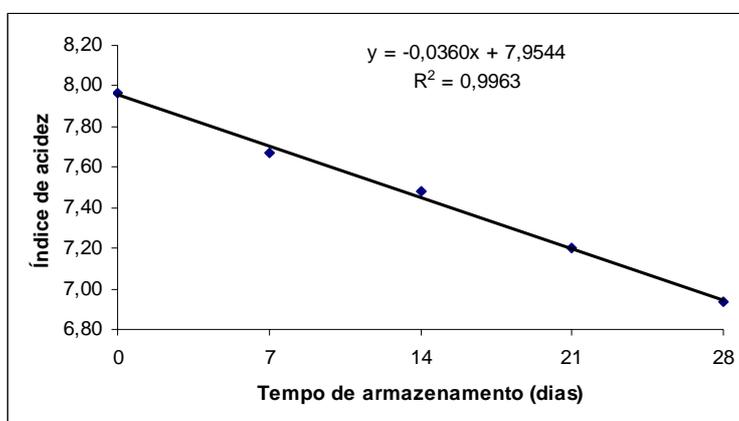


FIGURA 16 Variação do índice de acidez ao longo dos dias de armazenamento.

O decréscimo observado (Figura 16) no índice de acidez dos óleos extraídos das silagens ao longo dos períodos de armazenamento se deve ao aumento da hidrólise protéica, que libera substâncias alcalinas, provocando desestabilização da capacidade tamponante das silagens (Dapkevicius et al., 2000), as quais podem agir neutralizando os ácidos em excesso, reduzindo, assim, o índice de acidez dos sistemas.

5.3.5 Perfil de ácidos graxos

Os perfis de ácidos graxos das silagens ácidas após 28 dias de armazenamento encontram-se na Tabela 14.

TABELA14 Perfis de ácidos graxos nas silagens ácidas após 28 dias de armazenamento (%) de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias*

Ácidos graxos	Símbolo	% na SAF	% na SAA	% na SAP
Mirístico	C14:0	2,83	2,67	2,80
Palmítico	C16:0	21,66	20,65	22,50
Margárico	C17:0	0,29	0,25	0,27
Esteárico	C18:0	5,59	5,11	5,48
Tricosanóico	C23:0	0,92	0,73	0,78
Σ saturados		31,29	29,41	31,83
Linolênico	C18:3n3	0,87	0,81	0,82
Docosaheptaenóico	C22:6n3	1,85	1,50	1,57
$\Sigma n 3$		2,72	2,31	2,39
Linoléico	C18:2n6c	12,35	14,64	12,24
γ - linolênico	C18:3n6	0,73	0,66	0,72
Eicosadienóico	C20:2n6	1,12	1,06	1,04
Eicosatrienóico	C20:3n6	0,66	0,63	0,64
$\Sigma n 6$		14,86	16,99	14,64
Palmitoléico	C16:1n7	4,75	4,70	4,67
$\Sigma n 7$		4,75	4,70	4,67
Eláidico	C18:1n9t	0,46	0,28	0,64
Oléico	C18:1n9c	31,92	34,61	31,91
Cis-11-eicosenóico	C20:1n9	1,51	1,50	1,50
$\Sigma n 9$		33,89	36,39	34,05
Σ insaturados		56,22	60,39	55,75

* % referente à normalização de área dos picos totais (identificados e não identificados).

Símbolos utilizados = SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

Pelos dados contidos na Tabela 14, pode-se notar a semelhança entre os óleos das diferentes silagens quanto aos seus conteúdos de ácidos graxos. Os maiores percentuais em termos de área, entre os ácidos graxos saturados, foram observados para o ácido palmítico, 21,66; 20,65 e 22,50% para SAF, SAA e SAP, respectivamente. Entre os ácidos graxos insaturados, os maiores percentuais foram observados para o ácido oléico, 31,92; 34,61 e 31,91 % para

SAF, SAA e SAP, respectivamente. Essa semelhança entre os tipos de silagens é um forte indicativo de que os ácidos utilizados não afetaram negativamente o perfil de ácidos graxos das silagens. Esses resultados estão em conformidade com o trabalho de Arruda (2004), no qual a autora destaca o elevado percentual de ácido palmítico (33,19%), entre os saturados, e de ácido oléico (28,60%), entre os insaturados.

O conteúdo de ácido oléico destacou-se dos demais ácidos graxos em todas as silagens, ocorrendo nos percentuais de 31,92% na SAF, 34,61% na SAA e 31,91% na SAP. Os elevados teores de ácido oléico em silagens ácidas de pescado também foram mencionados por Geron et al. (2007) e Arruda (2004), que observaram os percentuais de 41,70 e 28,60% de ácido oléico.

Com relação aos ácidos graxos ômega 3 ($n = 3$), foram identificados os ácidos linolênico e docosahexaenóico. Para o primeiro, foram encontrados os percentuais de 0,87; 0,81 e 0,82% para SAF, SAA e SAP, respectivamente; e para o ácido docosahexaenóico, os valores encontrados foram de 1,85; 1,50 e 1,57% para SAF, SAA e SAP, respectivamente.

Os valores de ácido linolênico encontrados na presente pesquisa encontram-se muito próximos ao encontrado por Santana-Delgado et al. (2008), os quais, trabalhando com silagem de cavala espanhola (*Scomberomorus maculatus*), encontraram 1,06% de ácido linolênico, entretanto se distanciaram dos encontrados por Arruda (2004), que trabalhando com silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias (*Oreochromis niloticus*), observaram 3,10% de ácido linolênico.

Para o ácido docosahexaenóico, os valores verificados na presente pesquisa foram superiores aos encontrados por Geron et al. (2007) e Arruda (2004), ambos trabalhando com silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias (*Oreochromis niloticus*), os quais observaram 0,1 e <0,01% de ácido docosahexaenóico, respectivamente. Entretanto, os valores se distanciaram dos

observados por Benites (2003), que ao investigar o perfil de ácidos graxos de silagem ácida de resíduo de castanha (*Umbrina canosai*), obteve um percentual de 11,39% de ácido docosaheptaenóico.

Jackson et al. (1984), trabalhando com silagem de *Sprattus sprattus* utilizando 1,5% de ácido sulfúrico + 1,5% ácido fórmico, submetidas a duas temperaturas de estocagem (10 e 20°C) em presença ou ausência de etoxiquinona (antioxidante) e armazenando-as durante 24 semanas, verificaram que não ocorreram diferenças significativas entre os óleos extraídos das silagens quanto ao teor de ácidos graxos após 2 e 8 semanas. Entretanto, mudanças significativas existiram no tempo 24 semanas. Nesse tempo ocorreu decréscimo dos níveis de ômega 3 nos óleos das silagens sem etoxiquinona. Isto foi muito notável nas silagens estocadas a 20°C, nas quais o somatório dos percentuais de ácidos graxos ômega 3 caiu de 19,9% para 12,9% entre 8 e 24 semanas.

Os valores numéricos dos percentuais de ácido linoléico (ômega 6) nas silagens SAF e SAP foram próximos, sendo superiores ao encontrado na SAP. Green et al. (1988), encontraram, na porção lipídica da silagem ácida de cavala inteira, utilizando ácido fórmico (3,5% v/p), cerca de 0,81% de ácido linoléico, valor bastante abaixo ao relatado por Benites (2003), que encontrou o percentual de 21,16% de ácido linoléico. Os valores encontrados por Arruda (2004), corroboram os valores da presente pesquisa, sendo que a autora encontrou 11,39% de ácido linoléico.

Geron et al. (2007), encontraram valores próximos aos do presente estudo para os ácidos γ -linolênico e palmitoléico (0,3 e 4,9%, respectivamente).

Os altos valores percentuais em termos de área encontrados para os ácidos graxos insaturados, especialmente os poliinsaturados, indicam que a silagem ácida de pescado é uma fonte promissora de óleo de pescado de alta qualidade nutricional.

5.4 Análises microbiológicas

Não foram detectados microorganismos mesófilos aeróbios nem bolores e leveduras durante todos os períodos de amostragem nas silagens elaboradas.

A garantia de qualidade microbiológica da silagem foi conquistada graças ao baixo pH verificado em todos os períodos de armazenamento nos sistemas em estudo. Um pH adverso afeta pelo menos de dois modos a célula microbiana viva: o funcionamento de suas enzimas e o transporte de nutrientes para o interior da célula. A membrana citoplasmática é relativamente impermeável aos íons H^+ e OH^- (Jay, 2005). Em estado não dissociado, os ácidos orgânicos de baixo peso molecular possuem a habilidade de penetração passiva na célula microbiana (Russel, 1992).

O efeito antimicrobiológico dos ácidos está relacionado com a sua forma não dissociada. A concentração do total de moléculas não dissociadas é determinada pelo pka do ácido e pelo pH do meio, aumentando com a elevação da acidez, ou seja, o pH deve ser menor que o pka do ácido de forma a garantir alta concentração de moléculas não dissociadas (Araújo, 2004).

Os pka dos ácidos fórmico, acético e propiônico são 3,75 (Vogel, 1981), 4,76 (Pratt & Cornely, 2006) e 4,87 (Araújo, 2004), respectivamente. Observa-se, na Tabela 1, que os valores de pH não ultrapassaram o valor do pka dos ácidos em nenhum período de armazenamento, o que contribuiu para a segurança microbiológica das silagens estudadas.

Esses resultados corroboram os trabalhos de Carmo et al. (2008), os quais não detectaram a presença de bolores e leveduras em silagens de resíduo da filateagem de tilápias após 20 dias de ensilagem para SAA, SAP e SAF. Seibel & Souza-Soares (2003), investigando a presença de microorganismos aeróbios mesófilos em silagens ácidas de pescado (utilizando 15% v/p de ácido acético) secas, observaram o crescimento de $2,8 \times 10^3$ UFC/g de mesófilos aeróbios e atribuíram a presença de microorganismos às possíveis

contaminações durante a estocagem. Santana-Delgado et al. (2008), encontraram valores abaixo de 10 UFC/g para a contagem total de bolores e leveduras e para a contagem de mesófilos utilizando uma mistura de ácido sulfúrico (1,3%v/p) e propiônico (1,0% v/p) como agente preservante.

5.5 Custo das silagens e da farinha de peixe

Os custos das silagens e da farinha de peixe encontram-se dispostos na Tabela 15.

TABELA 15 Custos da farinha de peixe e das silagens ácidas de pescado

Itens	Custo R\$/kg	% Custo x Farinha de peixe*
FP	6,50	100
SAA	2,09	32
SAP	17,05	262
SAF	2,16	33

*% Custo x Farinha de peixe= porcentagem de custo calculada tomando a farinha de peixe como 100%.

Simbolos utilizados = FP: Farinha de peixe, SAF: Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA: Silagem de pescado com ácido acético, SAP: Silagem de pescado com ácido propiônico.

Observa-se (Tabela 15) que, sob o aspecto econômico, a silagem elaborada com ácido propiônico foi a de custo mais elevado, sendo 162% mais cara que a farinha de peixe. Já as silagens elaboradas com ácido acético e ácido fórmico apresentaram custos 68% e 67% mais baixos que a farinha de peixe, respectivamente, fato que permite atribuir a essas silagens uma boa viabilidade de utilização visualizando o aspecto econômico. Cabe ressaltar que, para se chegar a esses valores, atribuiu-se um valor ao preço de aquisição do resíduo (variável com a situação), ao preço de mercado dos ácidos e ao preço de mercado da farinha de peixe. Sendo assim, essa realidade poderá mudar de uma situação para outra. Os valores presentes na Tabela 15 são somente para dar uma idéia da viabilidade econômica dessas silagens frente à farinha de peixe.

6 Conclusões

Nas condições em que o experimento foi realizado, concluiu-se que o tempo de armazenamento interferiu nas variáveis nutricionais analisadas, sendo observado aumento no teor de umidade e de extrato etéreo e decréscimo nos teores de proteína bruta, nitrogênio protéico e cinzas ao longo da estocagem. Apesar de pequenas diferenças, todos os ácidos testados foram eficientes na manutenção da qualidade microbiológica e nutricional das silagens por 28 dias. A escolha do tipo de ácido a ser utilizado na confecção das silagens dependerá do custo e da disponibilidade desses reagentes.

7 Referências Bibliográficas

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. 478 p.

ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 2004. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

AMERICAN OIL CHEMISTS’ SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American oil Chemist Society**. 4. ed. Champaign, I.L., 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analyses of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington, 1990. 1117 p.

BACKHOFF, H. P. Some chemical changes in fish silage. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 11, n. 4, p. 353-63, 1976.

BARAQUET, N. J.; LINDO, M. M. K. Transformações bioquímicas “post mortem” em pescado. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 169-192, 1985.

BEERLI, E. L.; BEERLI, K. M. C.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 196–200, 2004.

BENITES, C. I. **Farinha de silagem de resíduo de pescado: elaboração, complementação com farelo de arroz e avaliação biológica em diferentes espécies**. 2003. 159 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

BORGHESI, R. **Avaliação físico-química, nutricional e biológica das silagens ácida, biológica e enzimática elaboradas com descarte e resíduo do beneficiamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2004. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CARMO, J. R.; PIMENTA, C. J.; PIMENTA, M. E. S. G.; OLIVEIRA, M. M.; LOGATO, P. V. R.; FERREIRA, L. O. Caracterização de silagens ácidas de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 5, n. 5, p. 664-672, set./out. 2008.

DAPKEVICIUS, M. L. E.; BATISTA, I.; NOUT, M. J. R.; ROUMBOUTS, F. M. Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micrometisus poutassou* Risso) by acid and biological methods. **Food Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 92-102, Sept. 1998.

DAPKEVICIUS, M. L. N. E.; NOUT, M. J. R.; ROMBOUTS, F. M.; HOUBEN, J. H.; WYMENGA, W. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 57, n. 1/2, p. 107-114, June, 2000.

DISNEY, G. J.; TATTERSON, I. N.; OLLEN, J. Recent development in fish silage. In: CONFERENCE ON THE HANDLING PROCESSING AND MARKETING OF TROPICAL FISH, 1976, London. **Proceedings...** London: Tropical Products Institute, 1977. p. 321-40.

ESPE, M.; LIED, E. Fish silage prepared from different cooked and uncooked raw materials: chemical changes during storage at different temperatures. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 2, p. 327-332, Feb. 1999.

ESPE, M.; RAA, J.; NJAA, L. R. Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 49, n. 3, p. 259-270, 1989.

ESPÍNDOLA FILHO, A.; OETTERER, M.; TRANI, P. E.; ASSIS, A. Processamento agroindustrial de resíduos de peixes, camarões, mexilhões e ostras pelo sistema cooperativado. **Revista da Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 52-61, 2001.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v. 226, n. 1, p. 497-509, May 1957.

GERON, L. J.; ZEOULA, L. M.; VIDOTTI, R. M.; MATSUSHITA, M.; KAZAMA, R.; CALDAS NETO, S. F.; FERELI, F. Chemical characterization, dry matter and crude protein ruminal degradability and in vitro intestinal digestion of acid and fermented silage from tilapia filleting residue. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 136, n. 3/4, p. 226-239, Oct. 2007.

GONZALEZ, D.; MARIN, M. Obtención de ensilados biológicos a partir de los desechos del procesamiento de sardinas. **Revista Científica**, Caracas, v. 15, n. 6, p. 560-567, 2005.

GREEN, S. ; WISEMAN, J.; COLE, S. J. A. Examination of stability, and its effect on the nutritive value, of fish silage in diets for growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 21, n. 2/4, p. 73-56, Oct. 1988.

GRUNENVALDT, F. L.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. Refino de óleos de pescado provenientes dos processos de silagem ácida e termomecânico de produção de farinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2005. v. 1, p. 1-8. Disponível em: <<http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/top03.pdf>>. Acesso em: 19 jul. 2008.

GUILHERME, R. F.; CAVALHEIRO, J. M. O.; SOUZA, P. A. S. Caracterização química e perfil aminoácídico da farinha de silagem de cabeça de camarão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 793-797, maio/jun. 2007.

HAARD, N. F.; KARIEL, N.; HERZBERG, G.; FELTHAM, L. A. W.; WINTER, K. Stabilisation of protein and oil in fish silage for use as a ruminant feed supplement. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 36, n. 4, p. 229-241, Apr. 1985.

HALASZ, A.; BARATH, A.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 5, n. 2, p. 42-49, Feb. 1994.

JACKSON, A. J.; KERR, A. K.; CROWEY, C. B. Fish silage as a dietary ingredient for salmon: I. nutritional and storage characteristics. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 211-220, May 1984.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

KOMPIANG, I. P. Fish silage: its prospect and future in Indonesia. **Indonesian Agriculture Resource & Development Journal**, v. 3, n. 1, p. 9-12, 1981.

LINDGREN, S.; PLEJE, M. Silage fermentation of fish or fish waste products with lactic acid bacteria. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 34, n. 10, p. 1057-1067, Oct. 1983.

LOVERN, J. A. Some analytical problems in the analysis of fish and fish products. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 48, n.1, p. 60-68, 1965.

MAIA JÚNIOR, W. M. **Adequação do processo de silagens de resíduos de tilápias, caracterização dos lipídios e da fração seca em pó.** João Pessoa, 1998. 116 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MAIA, W. M.; NUNES, M. L.; FIGUEIREDO, M. J.; BRAGAGNOLO, N. Caracterização da fração lipídica de silagem de resíduos de tilápia para utilização em rações para a aquicultura. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: Persona, 1998. v. 2, p. 55-64.

MIRANDA, M. R. J.; MAGGI, R. C. Utilización de desechos sólidos de la industria pesquera. **Revista de Alimentación Equipos y Tecnología**, v. 10, n. 5, p. 89-94, Jun. 1991.

MIRANDA, O.; OTERO, M. Y.; CISNEROS, M. Ensilaje de pescado a partir de la captura del camarón: características físico-químicas. **Revista de Producción Animal**, Havana, v. 13, n. 2 p. 9-11, 2001.

MIRANDA, O.; OTERO, M. Y.; CISNEROS, M. Ensilaje de pescado del subproducto *Oreochromis aureus* conservado con ácido sulfúrico comercial: evaluación del pH y composición química. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 5, n. 8, ago. 2004.

MIRANDA, O. M.; LÓPEZ, M. C.; FERNÁNDEZ, M. O. Conservación in vitro de ensilaje de pescado (*Ophistonema oglinum*) com ácido sulfúrico comercial: temperatura, pH e composição química. **Revista de Producción Animal**, Havana, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2005.

MONTGOMERY, D. C. **Introduction to statistical quality control.** 2. ed. New York: J. Wiley, 1991. 540 p.

MORALES-ULLOA, D. F. Bioconversão de resíduos da indústria pesqueira. Piracicaba, 1994. 127 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

MORALES-ULLOA, D. F.; OETTERER, M. Composição em aminoácidos de silagens químicas, biológicas e enzimáticas preparadas com resíduos de sardinha. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 17, n. 3, p. 252-258, set./dez. 1997.

MORETTO, E.; ALVES, R. F. **Óleos e gorduras: processamento e análise**. Florianópolis: UFSC, 1986. 176 p.

NUNES, J. A. R. **Aproveitamento do rejeito da industrialização de pescado marinho a partir de silagem ácida**. 2001. 115 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande, RS.

OETTERER, M. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. **Alimentos e Nutrição**, Marília, v. 5, p. 119-134, 1993.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba, RS: Agropecuária, 2002. 200 p.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S. **Substituição de fontes protéicas de origem animal por fontes protéicas de origem vegetal em rações para o “Black bass” *Micropterus salmoides***. 2003. 103 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; PIMENTA, C. J.; LOGATO, P. V. R. Silagem de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com ácido fórmico: análise bromatológica, físico-química e microbiológica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1218-1223, nov./dez. 2006.

PAIVA, G. T.; CARMO, J. R.; PIMENTA, C. J.; PIMENTA, M. E. S. G.; FERREIRA, L. O.; OLIVEIRA, M. M. Composição bromatológica de silagens ácidas de resíduos de filetagem de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 21., 2008, Lavras, MG. **Anais...** Lavras, MG: UFLA, 2008. p. 164.

PRATT, C. W.; CORNELLY, K. **Bioquímica essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 716 p.

RAMOS, O. V.; DORADO, M.; DEL, P.; CARO, E. O. Ensayo sobre la alimentacion de la cachama negra (*Colossoma macropomum*) con pescado en acidos organico e inorganico (Fish silage). **Boletin Cientifico do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**, Manaus, v. 2, p. 46-61, 1994.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: E. Blücher, 2004 184 p.

RUSSELL, J. B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 73, n. 5, p. 363-370, Nov. 1992.

SALES, R. O. **Processamento, caracterização química e avaliação nutricional da despesca da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) em dietas experimentais com ratos**. 1995. 174 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

SANTANA-DELGADO, H.; AVILA, E.; STELO, A. Preparation of silage from Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 141, n. 1/2, p. 129-140, Mar. 2008.

SEIBEL, N. F.; SOUZA-SOARES, L. A. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 333-337, jul./dez. 2003.

SEIBEL, N. F. **Valoração do resíduo de pescado: emprego na dieta de codornas e estudo de seu efeito nos ovos**. 2002. 146 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande, RS.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades - degradações - modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

STONE, F. E.; HAARD, R. W. Nutritional value acid stabilized silage and liquefied fish protein. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 37, n. 8, p. 797-803, Aug. 1986.

TATTERSON, I. N.; WINDSOR, M. L. Fish silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 25, n. 4, p. 369-379, Apr. 1974.

VALÉRIO, A. C. R. **Elaboração de silagem enzimática de pescado como alternativa ao processo tradicional**. 1994. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

VIDOTTI, R. M. **Produção e utilização de silagens de peixe na nutrição de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2001. 65 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. **Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal**. São Paulo, 2006. Disponível em:
<ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/producao_caracterizacao.pdf>. Acesso em: 18 maio 2008.

VOGEL, A. I. **Química analítica qualitativa**. 5. ed. rev. São Paulo: Mestre Jou, 1981. 665 p.

CAPÍTULO 3
DIGESTIBILIDADE *in vivo* e *in vitro* DE SILAGENS ÁCIDAS DE
RESÍDUOS DA FILETAGEM DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)

1 Resumo

A presente pesquisa buscou comparar quimicamente, bem como estudar a digestibilidade protéica *in vitro* e os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e da energia bruta de silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias após 28 dias de armazenamento, utilizando 5% v/p dos ácidos fórmico (SAF), acético (SAA) e propiônico (SAP), em comparação à farinha de peixe comercial (FP). Para a determinação dos CDA foram utilizados 240 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), revertidos sexualmente, com peso médio de 32,02g, distribuídos em 20 incubadoras de 250 L. As coletas das excretas foram feitas por 10 dias. Os valores de CDA_{MS} , CDA_{EE} , CDA_{EB} e CDA_{PB} foram de 84,97; 96,18; 95,92 e 98,48% para SAF, 71,97; 92,31; 90,92 e 93,78% para SAA, 80,49; 96,18; 93,30; 96,81% para SAP e 92,76; 84,37; 91,68 e 99,53% para FP. No tocante à digestibilidade protéica *in vitro*, os maiores valores foram observados nas silagens SAF (91,26%), SAP (89,07%) e FP (92,20%), sendo o menor valor verificado na SAA (85,64%). Os altos valores de CDA para os nutrientes e energia, assim como os altos índices de digestibilidade protéica *in vitro*, indicam que as silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias podem ser eficientemente utilizadas como alimentos alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Palavras-chave: silagens ácidas, digestibilidade protéica *in vitro*, coeficiente de digestibilidade aparente.

2 Abstract

This study sought to compare chemically, as well as to study the *in vitro* protein digestibility and apparent digestibility coefficients (ADC) of nutrients and raw energy of acid silage waste from tilapia fillet after 28 days of storage, using 5% v / p of formic (SFA), acetic (SAA) and propionic (SPA) acids compared to commercial fishmeal (FM). For the determination of ADC, 240 sexually reverted Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles were used (*Oreochromis niloticus*), with an average weight of 32.02g, distributed in 20 250 L incubators. Feces collection proceeded for 10 days. The values of ADC_{MS}, ADC_{EE}, ADC_{EB} and ADC_{CP} were 84.97, 96.18, 95.92 and 98.48% for SFA, 71.97, 92.31, 90.92 and 93.78% for SAA, 80.49, 96.18, 93.30, 96.81 and 92.76% for SPA, 84.37, 91.68 and 99.53% for FM. For *in vitro* protein digestibility, the highest values were observed in SFA silage (91.26%), SPA (89.07%) and FM (92.20%), the lowest value being verified in the SAA (85.64%). The high values of ADC for nutrients and energy, as well as the high *in vitro* protein digestibility rates, indicate that the acidic silage waste from filleting of tilapia can be efficiently used as an alternative food for the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fries.

Key words: apparent digestibility coefficients, *in vitro* protein digestibility, acid silage.

3 Introdução

A busca por alimentos alternativos que reduzam os custos de fabricação de rações contribui com a lucratividade do setor aquícola. Rações destinadas às tilápias contam com considerável participação de alimentos protéicos, responsáveis por cerca de 50% do custo. Todavia, o aumento na produtividade exige o uso de rações que supram as necessidades dos animais, ou seja, que sejam completas (Furuya et al., 2001).

A fonte protéica de origem animal mais utilizada na fabricação de rações para peixes é a farinha de peixe, mesmo sendo de fabricação sazonal e de alto custo (Vidotti, 2001). Vários pesquisadores têm sido motivados a buscar alimentos protéicos alternativos para a elaboração de rações objetivando a substituição da farinha de peixe (Yamamoto et al., 2002; Richter et al., 2003).

A indústria de pescado gera consideráveis quantidades de rejeitos. A utilização desses resíduos como ingredientes em rações contribuirá para a diminuição do problema ambiental e para a diminuição dos custos dispensados à alimentação.

Uma das formas de preservação e aproveitamento dos resíduos de pescado é baseada na silagem ácida, na qual resíduos de pescado são misturados a ácidos, bactérias ou enzimas, originando um produto liquefeito, de alto valor nutricional e estável do ponto de vista microbiológico.

A investigação da digestibilidade das silagens para a elaboração de dietas para a aquíicultura é de importância ímpar, sendo, de acordo com Boscolo et al. (2002a), indicador do valor nutricional dos alimentos e potencial indicador de efluentes no meio aquático, além de ser importante variável para o estudo dos níveis de inclusão em dietas destinadas a diferentes fases da espécie animal estudada (Boscolo et al., 2002b).

Partindo do pressuposto de que diferentes formas de preparo influenciam na digestibilidade de silagens ácidas de pescado, realizou-se este trabalho com o objetivo de comparar quimicamente as silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias, elaboradas com uso de ácido acético, propiônico e fórmico, após 28 dias de armazenamento, à matéria-prima, bem como avaliar a digestibilidade das silagens em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), comparada à digestibilidade de farinha de peixe comercial, além de testar a digestibilidade protéica *in vitro*.

4 Material e Métodos

4.1 Comparação entre a matéria-prima e as silagens ácidas após 28 dias de ensilagem

4.1.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada no experimento foi composta de resíduos da filetagem de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) adquiridos de produtores da região de Boa Esperança-MG. Esse material foi transportado congelado até o Laboratório de Nutrição Animal (LNA) do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foi moído em moedor elétrico e dividido em três partes iguais de 9,70 kg e uma parte de 3,9 kg. A parte de 3,9 kg foi reservada, e as três partes iguais foram utilizadas para a confecção das silagens.

4.1.2 Elaboração das silagens

As silagens ácidas foram produzidas por meio da adição de 0,1% p/p de BHT (butilhidroxitolueno) e 5% v/p dos ácidos fórmico, acético e propiônico a 9,70 kg de resíduos da filetagem de tilápias moídos, resultando em três silagens: silagem de pescado com ácido fórmico (SAF), silagem de pescado com ácido acético (SAA) e silagem de pescado com ácido propiônico (SAP).

Após 28 dias de armazenamento, foram retiradas 7 repetições de cada tratamento (cerca de 50 g por repetição). O conteúdo restante foi seco por 36 horas a 60°C em estufa com circulação forçada de ar e armazenado a -15°C para os demais ensaios.

A elaboração das silagens foi realizada no Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1.3 Determinação da composição centesimal

Avaliou-se a composição centesimal das silagens e da matéria-prima no Laboratório Central de Análises (LCA) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), seguindo as metodologias propostas pela Association of Official Analytical Chemists, AOAC (1990). Foram determinadas as seguintes variáveis:

- Umidade (U): Foi determinada pelo método gravimétrico com base na mudança de peso ocorrida em amostras submetidas à secagem em estufa regulada a 105°C.
- Extrato etéreo (EE): Foi mensurado pelo método de Soxhlet, no qual as amostras secas foram armazenadas em cartuchos de papel filtro e, em seguida, colocadas em contato com éter etílico sob refluxo no extrator de Soxhlet.
- Proteína Bruta (PB): Foi analisada pelo método Microkjeldhal, sendo a amostra digerida com sulfato de cobre, sulfato de potássio e ácido sulfúrico concentrado e, em seguida, destilada em aparelho de Microkjeldhal, recebida em solução de ácido bórico e indicador misto (vermelho de metila + verde de bromocresol) e, finalmente, titulada com ácido sulfúrico a 0,02 N.
- Cinzas (C): Foram analisadas pelo método gravimétrico com incineração anterior em fogão a gás e, posteriormente, em muflas a 550°C, por 8 horas.

A amostra da matéria-prima foi analisada logo após a moagem e as silagens foram avaliadas após 28 dias de armazenamento.

4.2 Digestibilidade protéica *in vitro*

O ensaio de digestibilidade protéica *in vitro* foi realizado seguindo a técnica proposta Akeson & Stahmann (1964) e Mauron (1973), com adaptações

realizadas na rotina do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. Foram pesadas amostras das silagens (após 28 dias de armazenamento e secas a 60°C) e da farinha de peixe correspondentes a 8 mg de nitrogênio. Tais amostras foram digeridas com 20 mg de pepsina diluída com HCl 0,1N por 1 hora, a 37°C. Após esse período elevou-se o pH com NaOH 0,4N tamponado e, em seguida, adicionaram-se 20 mg de pancreatina diluída em tampão fosfato de sódio (0,1M). As amostras permaneceram no banho-maria por 3 horas a 37°C. A reação foi interrompida pela adição de ácido tricloroacético a 50%, sendo a quantidade adicionada correspondente a 5% da concentração final. Os sistemas foram centrifugados a 10000 rpm/15min. Após a centrifugação, dosou-se o nitrogênio no sobrenadante utilizando o método de Microkejdhal. A caseína foi usada como controle. A digestibilidade encontrada para caseína foi tomada como padrão e seu valor, considerado como 100%. As digestibilidades dos resíduos foram relacionadas à caseína e os resultados, expressos em percentagens de digestibilidade protéica.

4.3 Digestibilidade *in vivo* das silagens e da farinha de peixe em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

4.3.1 Localização e caracterização do experimento

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Digestibilidade de Peixes na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras.

Foram utilizados 240 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio de 32,02g e comprimento médio de 12,17 cm, fornecidos pela Piscicultura Estância da Lagoa, revertidos sexualmente, distribuídos em 20 incubadoras adaptadas para digestibilidade, providas de um sistema de aeração e controle de temperatura mantida constante por meio de termostatos calibrados para 27°C, com capacidade para 250 L de água cada (Figura 1).



FIGURA 1 Incubadora adaptada para o ensaio de digestibilidade.

4.3.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram elaboradas utilizando a ração composta por 70% da ração referência (Tabela 1) e 30% do ingrediente a ser testado segundo a National Research Council, NRC (1993).

Foram confeccionadas 5 dietas (rações):

- Ração Referência (RR): 100% de ração basal (sem fonte protéica de origem animal);
- RSAF: 70% de ração referência + 30% de silagem de ácido fórmico;
- RSAA: 70% de ração referência + 30% de silagem de ácido acético;
- RSAP: 70% de ração referência + 30% de silagem de ácido propiônico;
- RFP: 70% de ração basal + 30% de farinha de peixe.

Todas as silagens utilizadas na elaboração das dietas experimentais foram resultantes de 28 dias de armazenamento e secas em estufa a 60°C, por 24 horas.

A composição bromatológica e energética do farelo de soja, do milho e da farinha de peixe utilizados para a elaboração das dietas encontram-se na Tabela 2.

TABELA 1 Ração referência (ração basal) a ser utilizada no experimento de digestibilidade das silagens ácidas para juvenis de tilápia.

Ingredientes	Quantidade (kg)
Milho	61,00
Farelo de Soja	30,00
Fosfato Bicálcico	2,60
Calcário calcítico	1,60
BHT	0,20
Aglutinante (Alginato)	0,20
Sal comum	0,50
Caulim	2,40
Suplemento Mineral e vitamínico ¹	0,50
Óxido de Crômio	1,00
Valores calculados:	
Proteína bruta (%)	30,00
Energia Digestível (kcal/kg)	3000
Cálcio Total (%)	0,74
Fósforo Total (%)	0,60
Fósforo Disponível (%)	0,60
Extrato etéreo (%)	4,60
Fibra Bruta (%)	3,76

¹ Suplemento mineral e vitamínico (Supremais) (Min. Vit. Supplement); Vit A, 1.200.000UI; Vit. D₃, 200.000UI; Vit. E, 12.000 mg; Vit. K₃, 2.400 mg; Vit. B₆, 4.000 mg; Vit. B12, 4.800 mg; Ácido Fólico (Folix acid), 1.200mg, Ac. Pantotênico (Pantothenic acid) Ca, 12.000mg; Vit. C, 48.000 mg; Biotina (biotin), 48mg; colina (colin), 65.000 mg; niacina (Niacin), 24.000mg; Fé, 10.000 mg; Cu, 6.000 mg; Mn, 4.000mg; Zn, 6.000 mg; Co, 2 mg; Se, 20mg.

TABELA 2 Composição bromatológica e energética dos ingredientes das dietas experimentais*.

Ingrediente*	U(%)	EE (%)	PB (%)	FB(%)	C (%)	Energia (kcal/kg)
Farelo de soja	7,62	1,44	49,96	7,86	6,60	3320,43
Milho	8,75	2,06	9,28	3,88	1,18	4219,21
Farinha de peixe	7,80	5,57	52,11	na**	27,24	3912,45

* Valores obtidos por meio de análises efetuadas no Laboratório Central de Análises do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA.

** na = não analisado

Utilizou-se o óxido de cromo (Cr_2O_3) na concentração de 0,1% p/p como indicador. Os ingredientes presentes na Tabela 2 foram moídos em moinho elétrico no Laboratório Central de Análises do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA. Logo após a moagem, foram misturados aos outros ingredientes (Tabela 1). Acrescentou-se água (cerca de 30% em relação ao peso total da dieta) para conferir maleabilidade e homogeneidade às dietas, que foram posteriormente peletizadas e secas em estufas a 55°C. Os grânulos resultantes foram triturados em diâmetros entre 2 e 5 mm.

4.3.3 Período experimental

Os peixes receberam a dieta RR durante os cinco primeiros dias, denominado período pré-experimental.

Após esse período, iniciou-se o período experimental, com duração de 10 dias, com coleta de fezes em todos eles. Os tratamentos foram sorteados no início da fase experimental, sendo que 4 incubadoras receberam a ração referência e 4 incubadoras receberam as dietas 70% da ração referência + 30% fonte protéica de origem animal (silagens ácidas ou farinha de peixe).

As coletas de fezes foram realizadas às 7h30min. A alimentação foi administrada logo após a coleta de fezes (8 h e 30 min.) e às 12h e 30 min e 16 h e 30 min. Após 40 minutos da última refeição, cerca de 20% da água de cada incubadora era descartada, deixando-se o sistema livre de alimentação e excretas para coleta no dia seguinte.

As fezes foram acondicionadas em garrafas plásticas. Após a decantação natural dentro das garrafas, o excesso de água sobrenadante foi descartado e as fezes foram secas em estufa a 50° C por 12 horas. Em seguida, foram maceradas e armazenadas em potes plásticos para análises posteriores.

4.3.4 Análises bromatológicas (composição centesimal)

As rações (dietas experimentais) e as fezes pré-secas foram submetidas a análise bromatológica no Laboratório Central de Análises do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, avaliando-se as variáveis umidade, extrato etéreo, proteína bruta e cinzas (AOAC, 1990). As análises de energia bruta foram realizadas conforme metodologia descrita por Silva (1990), no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, em bomba calorimétrica.

4.3.5 Teor de cromo e cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes

O percentual de cromo nas rações e nas fezes foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. Os resultados dos teores de óxido de cromo, tanto na ração como nas fezes, foram empregados no cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente, pela equação proposta por Nose (1960):

$$\text{CDA}(\%) = 100 - [100 \times (\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ração} / \% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ fezes}) * (\% \text{nutrientes fezes} / \% \text{nutriente ração})]$$

Em que:

$\% \text{Cr}_2\text{O}_3$ ração: porcentagem de óxido de cromo na ração;

$\% \text{Cr}_2\text{O}_3$ fezes: porcentagem de óxido de cromo na dieta.

Como o ingrediente teste substituiu em 30% a ração referência, a digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculada pela fórmula:

$$CDA_n = [CDA_{RT} - CDA_{RR} * y] / z$$

Em que:

CDA_n : coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes;

CDA_{RT} : coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes na ração teste;

CDA_{RR} : coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes na ração referência;

y: proporção da ração referência;

z: proporção da ração teste.

4.4 Determinações estatísticas

Os dados referentes aos ensaios acima relacionados foram submetidos à análise de variância por meio do programa Sisvar (Ferreira, 2000). Para comparação de médias entre os diferentes tratamentos, foi utilizado o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

5 Resultados e Discussão

5.1 Comparação da composição bromatológica entre a matéria-prima de origem e as silagens ácidas após 28 dias de ensilagem

Todos os autores que trabalham com silagem são unânimes ao dizerem que esse produto apresenta composição nutricional muito semelhante à matéria-prima (Valério, 1994).

A comparação entre a matéria-prima (resíduos da filetagem de tilápias) e as silagens após 28 dias de armazenamento, com base na matéria seca (MS) e na matéria integral (MI), encontra-se disposta na Tabela 3.

TABELA 3 Médias da composição bromatológica do resíduo da filetagem de tilápias e das silagens ácidas SAF, SAA e SAP* após 28 dias de armazenamento.

Análise**	CV (%)	RFT	SAF	SAA	SAP
U	3,81	37,73 a	41,31 b	42,05 b	40,65 b
EE (MS)	3,26	27,93 a	32,99 b	32,99 b	34,54 c
EE (MI)	3,26	17,38 a	19,36 b	19,12 b	20,48 c
PB (MS)	3,68	47,72 c	43,38 b	40,53 a	41,52 a
PB(MI)	3,92	29,70 c	25,46 b	23,48 a	24,65 b
C(MS)	3,92	25,51 b	19,97 a	19,46 a	20,20 a
C(MI)	4,48	15,87 b	11,72 a	11,28 a	12,00 a
pH***	1,79	6,52 c	3,17 a	4,38 b	4,46 b

*Médias com a mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott- Knott.

** expresso em porcentagem (%)

*** adimensional

Símbolos utilizados: U= umidade, EE= extrato etéreo, PB = Proteína Bruta, C= cinza, pH= potencial hidrogênico, MS= matéria seca, MI=matéria integral, SAF= silagem ácida de pescado utilizando ácido fórmico, SAA silagem ácida de pescado utilizando ácido acético, SAP= silagem ácida de pescado utilizando ácido propiônico.

É possível verificar que a matéria-prima (RFT) diferiu das silagens em todos os aspectos analisados (Tabela 3).

Em relação à umidade, todas as silagens apresentaram conteúdos estatisticamente semelhantes e superiores à umidade presente na matéria-prima.

Esse acréscimo se deve à adição de ácidos como ingrediente principal na obtenção das silagens. A fração extrato etéreo esteve em maior concentração nas silagens, decorrente da solubilização dos ácidos nas mesmas. O maior valor foi observado na silagem de ácido propiônico (ácido mais apolar). O teor de proteína bruta esteve maior na matéria-prima, reduzindo em 9, 15 e 13% nas silagens SAF, SAA e SAP, respectivamente, após 28 dias de ensilagem, com base na matéria seca. Um decréscimo em relação ao conteúdo da matéria-prima também foi observado na variável percentual de cinzas, para a qual todas as silagens foram estatisticamente semelhantes e menores que a matéria-prima, provavelmente devido a erros na amostragem, uma vez que, na matéria-prima, o material não está solubilizado como nas silagens após 28 dias. Os pH mais baixos apresentados nas silagens se devem à adição de ácidos para a confecção das mesmas.

Os resultados do presente estudo corroboram os trabalhos de Miranda et al. (2004), os quais, trabalhando com resíduos de tilápia (*Oreochromis aureus*) na elaboração de silagens ácidas utilizando ácido sulfúrico a 50%, na concentração de 6,5% v/p, observaram acréscimo nos valores de umidade (de 78,89 para 80,6 %) e extrato etéreo (de 8,91 para 10,58) e decréscimo no conteúdo de proteína bruta (de 53,39 para 51,14). Entretanto, os resultados dos autores diferiram em relação ao aumento de cinzas (de 8,6 para 13,81%), o que não foi observado no presente trabalho. Acréscimo no teor de cinzas também foi observado por Borghesi (2004), de 17,73 para 26,62%. Todavia, no trabalho de Valério (1994), o teor de cinzas da matéria-prima encontrado foi de 15,95%, o qual, depois de 4 semanas de armazenamento, decresceu para 12,99% (valores muito próximos aos obtidos na presente pesquisa). Pequenas variações estão dentro da acuidade da metodologia analítica (Valério, 1994).

5.2 Digestibilidade *in vitro* e *in vivo* de silagens ácidas após 28 dias de armazenamento

As médias de composição nutricional (%) e de energia bruta (kcal ED/kg) das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 4. Foram detectadas diferenças estatísticas ($P < 0,01$) para as variáveis umidade, extrato etéreo, cinzas e energia bruta. Todavia, não foram observadas diferenças significativas quanto ao conteúdo de proteína bruta e fibra bruta ($P > 0,05$).

TABELA 4 Valores médios da composição bromatológica e energética* das dietas experimentais

Dieta	U (%)	EE (%)	PB (%)	C (%)	FB (%)	EB (kcal/kg)
RSAF	7,01 a	11,14 b	31,73 a	10,95 a	5,10 a	4452,74 b
RSAA	6,62 a	11,36 b	31,13 a	10,35 a	5,27 a	4523,25 c
RSAP	7,12 a	11,85 b	31,10 a	11,03 a	5,96 a	4552,80 d
RFP	7,84 b	2,31 a	32,29 a	11,92 b	6,12 a	3621,77 a

*Médias com a mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott Knott.

Símbolos utilizados: U= umidade, EE= extrato etéreo, PB = Proteína Bruta, C= cinza, pH= potencial hidrogênico, FB= fibra bruta, EB= energia bruta, RSAF= Ração elaborada com uso de silagem de ácido fórmico, RSAA= Ração elaborada com uso de silagem de ácido acético, RSAP= Ração elaborada com uso de silagem de ácido propiônico.

As dietas experimentais elaboradas foram equivalentes quanto às frações proteína bruta e fibra bruta, indicando que, do ponto de vista nutricional (bromatológico), o uso de farinha de peixe ou de silagens ácidas de resíduo da filetagem de tilápias utilizando os ácidos acético, propiônico ou fórmico, após 28 dias de armazenamento, resultam em silagens equiparáveis em termos desses dois nutrientes.

Os resultados estatísticos para as porções umidade e cinzas foram os mesmos: todas as rações elaboradas com o acréscimo de silagens apresentaram resultados estatisticamente semelhantes e inferiores à ração elaborada com uso de farinha de peixe. Já para o extrato etéreo, ocorreu o inverso: rações que

continham as silagens apresentaram médias estatisticamente semelhantes e superiores à média da ração elaborada utilizando farinha de peixe. Acredita-se que essas diferenças se devem essencialmente aos diferentes métodos e materiais de onde as fontes protéicas animais em estudo (silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias e farinha de peixe comercial) foram provenientes.

Diferenças entre dietas contendo silagens ácidas e dietas contendo farinha de peixe também foram detectadas por Benites (2003), que encontrou, para rações contendo silagens ácidas de castanha (*Umbrina canosai*) e farinha de peixe: 14,88 e 7,98% de umidade, 3,99 e 6,28% de extrato etéreo, 51,36 e 47,76% de proteína bruta, 17,04 e 30,19% de cinzas e 1,34 e 3,88 % de fibra bruta, respectivamente.

Os maiores valores de energia bruta foram observados nas rações elaboradas com uso de silagens, provavelmente devido ao maior teor de óleo de pescado presente nas mesmas. As diferenças entre as silagens podem ter ocorrido devido ao tipo de ácido utilizado. O ácido fórmico, por ser menor, tem menor porção orgânica em relação ao acético e ao propiônico, o que pode resultar em diferentes valores energéticos. Os valores estão próximos ao encontrado por Borghesi (2004), de 4678,00 cal/g para silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias. Maia Júnior (1998), salienta que o óleo de pescado oriundo das silagens ácidas pode ser utilizado em substituição ao óleo de soja nas rações como fonte de ácidos graxos poliinsaturados, reduzindo ainda mais o custo das rações em que se utiliza silagem ácida como ingrediente protéico.

Os resultados de digestibilidade protéica *in vitro* das silagens e da farinha de peixe utilizadas na elaboração das dietas experimentais encontram-se listados na Tabela 5.

TABELA 5 Digestibilidade protéica *in vitro* das silagens e da farinha de peixe utilizadas na elaboração das dietas experimentais*

Ingredientes	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i> (%)
SAF	91,26 b
SAA	85,64 a
SAP	89,07 b
FP	92,20 b
CV (%)	2,50

*Médias com a mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott- Knott.

Símbolos utilizados: SAF= Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA= Silagem de pescado com ácido acético, SAP=Silagem de pescado com ácido propiônico.

A menor média de digestibilidade protéica *in vitro* foi observada para a SAA (85,64%), sendo as demais superiores e estatisticamente semelhantes ($P < 0,01$) à farinha de peixe. Os valores encontrados na presente pesquisa são superiores ao relatado por Valério (1994), que observou 71,80% de digestibilidade protéica *in vitro* para silagem ácida de sardinha (*Sardinella Brasiliensis*) após 28 dias de armazenamento, e menores que os relatados por Benites (2003), que obteve 93,38 e 96,85 % de digestibilidade protéica *in vitro* para silagens ácidas de castanha (*Umbrina canosai*) e pescada olhuda (*Cynoscion guatacupa*), respectivamente.

Os resultados dos Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CDA) para as porções extrato etéreo (CDAEE), energia bruta (CDAEB) e proteína bruta (CDAPB) das silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias para juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*), assim como os resultados estatísticos, encontram-se na Tabela 6.

TABELA 6 Coeficiente de digestibilidade aparente* (CDA) dos nutrientes e da energia para as silagens ácida e a farinha de peixe comercial.

Ingrediente	CDAEE (%)	CDAEB (%)	CDAPB (%)
SAF	96,18 a	95,92 c	98,48 c
SAA	92,31 a	90,92 a	93,78 a
SAP	96,18 a	93,30 b	96,81 b
FP	84,37 a	91,68 a	99,53 c

*Médias com a mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Símbolos utilizados: SAF= Silagem de pescado com ácido fórmico, SAA= Silagem de pescado com ácido acético, SAP=Silagem de pescado com ácido propiônico, FP= Farinha de peixe, CDAEE: coeficiente de digestibilidade aparente da porção extrato etéreo, CDAEB: coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta, coeficiente de digestibilidade aparente da porção proteína bruta.

Todos os tratamentos se equipararam quanto ao percentual do CDAEE, indicando que o elevado teor de extrato etéreo encontrado nas dietas elaboradas com uso de silagens ácidas não reduziu a digestibilidade quando comparado à dieta contendo farinha de peixe. Valores semelhantes foram encontrados por Pezzato et al. (2002), 80,12 % para a farinha de peixe, e valores superiores foram relatados por Oliveira et al. (2006), 97,18%, trabalhando com silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias, ambos em dietas oferecidas a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Constata-se que os ingredientes SAA (90,92%) e FP (91,68%) apresentaram CDAEB estatisticamente semelhantes e menores que os verificados nos ingredientes SAP (93,30%) e SAF (95,92%), sendo esta última a de maior média de CDAEB. Os coeficientes apresentados pelas dietas foram superiores aos encontrados por Goddard & Al-Yahyai (2001), que ao trabalharem com silagem ácida de sardinha (com uso de 1,5% v/p de uma mistura 1:1 de ácido fórmico e propiônico) em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), obtiveram 89,80% de CDAEB. O CDAEB apresentado pela SAF, que se destacou por ser o maior, foi muito próximo ao valor de 95,44% encontrado por Oliveira et al. (2006), ao trabalhar com silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias (elaboradas com 3% v/p de ácido fórmico)

em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Borghesi (2004) ressalta que os elevados teores de CDAEB observados em todas as silagens são decorrentes do alto conteúdo de lipídeos insaturados presentes na mesma, os quais são melhor absorvidos em relação aos ingredientes que possuem quantidades maiores de lipídeos saturados.

Pôde-se notar que as maiores médias de coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para a porção proteína bruta (PB) foram apresentadas pela SAF (98,48%) e pela FP (99,53%), as quais foram estatisticamente semelhantes. A SAP (96,81%) apresentou média intermediária entre essas últimas (SAF e FP) e SAA, sendo, portanto, a menor média observada na SAA (93,78%), o que concorda com o teste de digestibilidade *in vitro*, segundo o qual a menor porcentagem de digestibilidade protéica foi observada para a SAA. Os valores estão próximos aos encontrados por Goddard & Al-Yahyai (2001), Borghesi (2004) e Oliveira et al. (2006), os quais encontraram, trabalhando com dietas contendo silagens ácidas destinadas à tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), 95,10; 92,01 e 96,66 % de CDAPB. Os CDAPB obtidos nessa pesquisa pelas silagens ácidas manifestaram-se maiores que os obtidos para truta arco-íris (*Salmo gairdneri*), por Hardy et al. (1984), que encontraram 80,10%, e por Stone & Hardy (1986) que obtiveram 88,70%; e para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), por Vidotti et al. (2002) que constataram 74,41%.

Todos os ingredientes apresentaram CDA acima de 75%, sendo, portanto, satisfatórios (Vidotti, 2001).

6 Conclusões

Os elevados percentuais de digestibilidade protéica *in vitro* e os altos valores encontrados para o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes extrato etéreo, proteína bruta e energia bruta, assim como a proximidade com a matéria-prima, mostram que as silagens ácidas de resíduos da filetagem de tilápias podem ser eficientemente utilizadas como alimento alternativo por juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). A escolha do ácido dependerá da disponibilidade e do preço, uma vez que todos os ácidos analisados (fórmico, acético e propiônico) proporcionaram silagens ácidas de pescado com bom valor nutricional e boa digestibilidade.

7 Referências Bibliográficas

AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 83, n. 3, p. 257-261, Nov.1964.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analyses of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington, 1990. 1117 p.

BENITES, C. I. **Farinha de silagem de resíduo de pescado: elaboração, complementação com farelo de arroz e avaliação biológica em diferentes espécies**. 2003. 159 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

BORGHESI, R. **Avaliação físico-química, nutricional e biológica das silagens ácida, biológica e enzimática elaboradas com descarte e resíduo do beneficiamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2004. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 539-545, 2002a.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Farinha de varredura de mandioca (*Manihot esculenta*) na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 545-551, 2002b.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; MIRANDA, E. C. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 4, p. 1143-1149, jul./ago. 2001.

GODDARD, J. S.; AL-YAHYAI, D. S. S. Chemical and nutritional characteristics of dried sardine silage. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v.10, n. 4, p. 39-50, 2001.

HARDY, R. W.; SHEARER, K. D.; SPINELLI, J. The nutritional properties of co-dried fish silage in rainbow trout (*Salmo gairdineri*) dry diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v.3 8, n. 1, p. 35-44, Apr. 1984.

MAIA JÚNIOR, W. M. **Adequação do processo de silagens de resíduos de tilápias, caracterização dos lipídios e da fração seca em pó**. 1998. 116 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

MAURON, J. The analysis of food proteins: amino acid composition and nutritive value. In: PORTER, J. W. G.; ROLLS, B. A. (Ed.). **Proteins in human nutrition**. London: Academic, 1973. p.139-154.

MIRANDA, O.; OTERO, M. Y.; CISNEROS, M. Ensilaje de pescado del subproducto *Oreochromis aureus* conservado con ácido sulfúrico comercial. Evaluación del pH y composición química. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, Espanha, v. 5, n. 8, ago. 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of warm water, fishes and shellfishes: nutrient requirements of domestic animals**. Washington, DC: National Academy, 1993. 114 p.

NOSE, T. on the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). **Bulletin Freshwater Fish Research Laboratory**, Tokyo, v. 10, p.11-22, 1960.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; PIMENTA, C. J.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; LOGATO, P. V. R. Digestibilidade e desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de silagem ácida de pescado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1196-1204, nov./dez. 2006.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M.; PEZZATO, A. C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n. 4, p. 1595-1604, 2002.

RICHTER, N.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 217, n. 1/4, p. 599-611, Mar. 2003.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990. 160 p.

STONE, F. E.; HAARD, R. W. Nutritional value acid stabilized silage and liquefied fish protein. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 37, n. 8, p. 797-803, Aug. 1986.

VALÉRIO, A. C. R. **Elaboração de silagem enzimática de pescado como alternativa ao processo tradicional**. 1994. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

VIDOTTI, R. M. **Produção e utilização de silagens de peixe na nutrição de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2001. 65 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP.

VIDOTTI, R. M.; CARNEIRO, D. J.; VIEGAS, E. M. M. Acid and fermented silage characterization and determination of apparent digestibility coefficient of crude protein for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 1, p. 57-62, 2002.

YAMAMOTO, T.; SHIMA, T.; FURUITA, H.; SUZUKI, N. Influence of feeding diets with and without fish meal by hand and by self-feeders on feed intake, growth and nutrient utilization of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 214, n. 3/4, p. 289-305, Nov. 2002.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de resíduos da filetagem de tilápias baseando-se na silagem ácida pode contribuir para a preservação ambiental e para o aumento da receita das indústrias pesqueiras.

O importante para a sustentabilidade econômica e ambiental não é produzir menos, mas sim produzir de outra maneira. A boa qualidade do resíduo o torna tão promissor quanto à matéria-prima.

A silagem ácida de resíduos de pescado é uma maneira segura, economicamente viável e ambientalmente amigável de preservação da qualidade nutricional dos resíduos. Os ácidos fórmico, acético e propiônico, na concentração de 5% v/p foram eficientes na preservação nutricional. Apesar de pequenas diferenças no conteúdo final de alguns nutrientes, todas as silagens ácidas elaboradas neste trabalho originaram produtos estáveis por 28 dias de armazenamento.

Comprovada a boa digestibilidade das silagens *in vivo* e *in vitro*, sugere-se o ensaio de desempenho a fim de estabelecer os níveis de inclusão dessas silagens na dieta de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

ANEXOS

TABELA 1 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável umidade nas silagens.....	151
TABELA 2 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável extrato etéreo na matéria seca nas silagens.....	151
TABELA 3 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável extrato etéreo na matéria integral nas silagens.....	151
TABELA 4 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável proteína bruta na matéria seca nas silagens.....	151
TABELA 5 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável proteína bruta na matéria integral nas silagens.....	152
TABELA 6 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável cinzas na matéria seca nas silagens.....	152
TABELA 7 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável cinzas na matéria integral nas silagens.....	152
TABELA 8 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável índice de saponificação nas silagens.....	152
TABELA 9 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável índice de iodo nas silagens.....	153
TABELA 10 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável índice de acidez nas silagens.....	153
TABELA 11 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio não-protéico na matéria seca nas silagens.....	153

TABELA 12 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio não-protéico na matéria integral nas silagens.....	153
TABELA 13 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio protéico na matéria seca nas silagens.....	154
TABELA 14 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio protéico na matéria integral nas silagens.....	154
TABELA 15 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio total na matéria seca nas silagens.....	154
TABELA 16 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio total na matéria seca nas silagens.....	154
TABELA 17 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a comparação entre a matéria-prima e as silagens quanto à variável umidade.....	155
TABELA 18 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a comparação entre a matéria-prima e as silagens quanto às variáveis extrato etéreo na matéria seca, extrato etéreo na matéria integral, proteína bruta na matéria seca e proteína bruta na matéria integral.....	155
TABELA 19 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a comparação entre a matéria-prima e as silagens quanto às variáveis cinzas na matéria seca, cinzas na matéria integral e pH.....	155
TABELA 20 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para as variáveis extrato etéreo e energia bruta nas rações.....	155
TABELA 21 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável umidade nas rações.....	156

TABELA 22 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável proteína bruta nas rações.....	156
TABELA 23 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável cinzas nas rações.....	156
TABELA 24 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável fibra bruta nas rações.....	156
TABELA 25 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para as variáveis CDA PB, CDA MS E CDA EB.....	156
TABELA 26 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação a variável CDA EE.....	157
TABELA 27 A	Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação a variável digestibilidade <i>in vitro</i>	157
TABELA 28 A	Valores médios das variáveis limnológicas das incubadoras utilizadas para o teste de digestibilidade <i>in vivo</i>	157

TABELA 1 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável umidade nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	31,872642	15.936321	0,0000
Tempo	4	80.472337	20.118084	0,0000
SilagemxTempo	8	10.373977	1.296747	0,3355
Erro	90	101.077000	1.123078	
Total	104	223.795956		
Média Geral	40,3184762			
CV (%)	2,63			

TABELA 2 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável extrato etéreo na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	70.486333	35.243167	0,0001
Tempo	4	1050.756044	262.689011	0,0000
SilagemxTempo	8	21.332676	2.666585	0,5988
Erro	90	297.696400	3.307738	
Total	104	1440.271453		
Média Geral	31.7106667			
CV (%)	5,74			

TABELA 3 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável extrato etéreo na matéria integral nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	44,684208	22,342104	0,0000
Tempo	4	290,228499	72,5571125	0,0000
SilagemxTempo	8	5,665135	0,708142	0,8375
Erro	90	122,207543	1,357862	
Total	104	462,785385		
Média Geral	18,9043810			
CV (%)	6,16			

TABELA 4 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável proteína bruta na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	67,039979	33,51990	0,0000
Tempo	4	352,348758	88,087190	0,0000
SilagemxTempo	8	88,416030	11,052004	0,0001
Erro	90	221,0762	2,456403	
Total	104	728,881053		
Média Geral	43,059333			
CV (%)	3,64			

TABELA 5 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável proteína bruta na matéria integral nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	5,921091	2,960546	0,0867
Tempo	4	227,555528	56,888882	0,0000
SilagemxTempo	8	41,832347	5,229043	0,0001
Erro	90	106,017600	1,177973	
Total	104	381,017600		
Média Geral	25,7134286			
CV (%)	4,22			

TABELA 6 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável cinzas na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	7,406413	3,703207	0,0699
Tempo	4	328,855090	82,213772	0,0000
SilagemxTempo	8	2,635339	0,329417	0,9812
Erro	90	121,609371	1,351215	
Total	104	460,506213		
Média Geral	22,6586667			
CV (%)	5,13			

TABELA 7 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável cinzas na matéria integral nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	5,928326	2,964163	0,0046
Tempo	4	163,5259	40,881492	0,0000
SilagemxTempo	8	1,409170	0,176146	0,9484
Erro	90	46,725629	0,519174	
Total	104			
Média Geral	13,5382857			
CV (%)	5,32			

TABELA 8 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável índice de saponificação nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	4216,740948	2108,370474	0,0000
Tempo	4	337,626884	84,406721	0,0000
SilagemxTempo	8	39,956738	4,994592	0,7593
Erro	60	484,902118	8,081702	
Total	74	5079,226688		
Média Geral	164,2466133			
CV (%)	1,73			

TABELA 9 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável índice de iodo nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	0,978493	0,489246	0,8280
Tempo	4	10,462345	2,615586	0,4082
SilagemxTempo	8	2,408597	0,301075	0,9984
Erro	60	154,999690	2,583328	
Total	74	168,849125		
Média Geral	120,1250667			
CV (%)	1,34			

TABELA 10 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável índice de acidez nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	92,921091	46,460545	0,0000
Tempo	4	9,581099	2,395275	0,0000
SilagemxTempo	8	0,419669	0,052459	0,9902
Erro	60	15,955640	0,265927	
Total	74	118,877499		
Média Geral	7,4498667			
CV (%)	6,92			

TABELA 11 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio não-protéico na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	0,168825	0,084412	0,0009
Tempo	4	27,391918	6,847980	0,0000
SilagemxTempo	8	0,325213	0,040652	0,0009
Erro	90	0,995143	0,011057	
Total	104			
Média Geral	1,9527619			
CV (%)	5,38			

TABELA 12 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio não-protéico na matéria integral nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	0,055693	0,027847	0,0027
Tempo	4	8,840470	2,210118	0,0000
SilagemxTempo	8	0,126907	0,015863	0,0012
Erro	90	0,397714	0,004419	
Total	104			
Média Geral	1,1610476			
CV (%)	5,73			

TABELA 13 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio protéico na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	1,559002	0,779501	0,0000
Tempo	4	65,097613	16,274403	0,0000
SilagemxTempo	8	2,257341	0,282168	0,0000
Erro	90	3,228343	0,035870	
Total	104	72,142299		
Média Geral	4,9367619			
CV (%)	3,84			

TABELA 14 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio protéico na matéria integral nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	0,226939	0,113470	0,0023
Tempo	4	28,118756	7,029689	0,0000
SilagemxTempo	8	0,976518	0,122065	0,0000
Erro	90	1,566371	0,017404	
Total	104	30,888585		
Média Geral	2,9529524			
CV (%)	4,47			

TABELA 15 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio total na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	1,713366	0,856683	0,0000
Tempo	4	9,025461	2,256365	0,0000
SilagemxTempo	8	2,266510	0,283314	0,0001
Erro	90	5,643829	0,062709	
Total	104	18,649166		
Média Geral	6,8894286			
CV (%)	3,63			

TABELA 16 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável nitrogênio total na matéria seca nas silagens.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Silagem	2	0,153813	0,076907	0,0834
Tempo	4	5,854661	1,463665	0,0000
SilagemxTempo	8	1,063710	0,132964	0,0002
Erro	90	2,709571	0,030106	
Total	104	9,781756		
Média Geral	4,1141905			
CV (%)	4,22			

TABELA 17 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a comparação entre a matéria-prima e as silagens quanto à variável umidade.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	75,035811	25,011937	0,0001
Erro	24	56,948686	2,372862	
Total	27	131,984496		
Média Geral	40,4353571			
CV (%)	3,81			

TABELA 18 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a comparação entre a matéria-prima e as silagens quanto às variáveis extrato etéreo na matéria seca, extrato etéreo na matéria integral, proteína bruta na matéria seca e proteína bruta na matéria integral.

Variável analisada	EE MS	EE MI	PB MS	PB MI		
Fonte de variação	GL	QM	QM	QM	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	58,163670	11,527232	70,965070	51,306138	0,0000
Erro	24	1,098963	0,386371	2,534369	1,023994	
Total	27					
Média Geral	32,1125		19,0867857	43,2889286	25,8221429	
CV (%)	3,26		3,26	3,68	3,92	

TABELA 19 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a comparação entre a matéria-prima e as silagens quanto às variáveis cinzas na matéria seca, cinzas na matéria integral e pH.

Variável analisada	C MS	C MI	pH		
Fonte de variação	GL	QM	QM	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	56,258108	31,525308	13,539167	0,0000
Erro	24	0,695340	0,324525	0,006881	
Total	27				
Média Geral	21,2853571		12,7175	4,6335714	
CV (%)	3,92		4,48	1,79	

TABELA 20 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para as variáveis extrato etéreo e energia bruta nas rações.

Fonte de variação	GL	EE	EB	Pr > Fc
		QM	QM	
Ração	3	83,841456	795283,686133	0,0000
Erro	12	1,632885	250,798483	
Total	15			
Média Geral	9,1656250		4287,64	
CV (%)	13,94		0,37	

TABELA 21 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável umidade nas rações

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	3,091669	1,030556	0,0006
Erro	12	1,025125	0,085427	
Total	15			
Média Geral	7,1456250			
CV (%)	4,09			

TABELA 22 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável proteína bruta nas rações

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	3,849225	1,283075	0,3739
Erro	12	13,557750	1,129812	
Total	15	17,406975		
Média Geral	31,56125			
CV (%)	3,37			

TABELA 23 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável cinzas nas rações

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	14,868569	4,956190	0,0077
Erro	12	9,258475	0,771540	
Total	15	24,127044		
Média Geral	11,3118750			
CV (%)	7,77			

TABELA 24 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para a variável fibra bruta nas rações

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Tratamento	3	3,036719	1,012240	0,1486
Erro	12	5,680825	0,473402	
Total	15	8,717544		
Média Geral	5,6131250			
CV (%)	12,26			

TABELA 25 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação para as variáveis CDA PB, CDA MS E CDA EB

Variável analisada	CDA PB		CDA MS		CDA EB	
Fonte de variação	GL	QM	QM	QM	QM	Pr > Fc
Ração	3	25,241356	301,807706	19,579958	0,0000	
Erro	12	1,381056	4,711952	0,457558		
Total	15					
Média Geral		97,146875	82,546875	92,95625		
CV (%)		1,21	2,63	0,73		

TABELA 26 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação a variável CDA EE.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Ração	3	301,824219	100,608073	0,2087
Erro	12	687,119775	57,259981	
Total	15	988,943994		
Média Geral	91,4456250			
CV (%)	8,27			

TABELA 27 A Resumo da análise de variância com os quadrados médios, significância e coeficientes de variação a variável digestibilidade *in vitro*.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr > Fc
Ração	3	101,953125	33,984375	0,0063
Erro	12	60,15625	5,013021	
Total	15	162,109375		
Média Geral	89,54125			
CV (%)	2,50			

TABELA 28 A Valores médios das variáveis limnológicas das incubadoras utilizadas para o teste de digestibilidade *in vivo*.

Tratamento	Incubadora	T°C	O ₂ D (mg/L)	pH
RR	01	25,9	5,64	6,43
RR	03	25,6	5,31	6,40
RR	13	25,9	5,17	6,99
RR	14	25,9	5,47	6,89
RSAP	05	25,6	5,81	6,43
RSAP	08	25,7	5,18	6,86
RSAP	10	25,8	5,27	6,84
RSAP	16	26,0	5,36	7,11
RSAA	02	25,8	5,47	6,38
RSAA	09	25,9	5,29	6,82
RSAA	11	26,0	5,64	6,88
RSAA	18	26,0	5,34	7,11
RSAP	04	25,7	5,45	6,42
RSAP	07	25,8	5,46	6,77
RSAP	12	25,9	5,34	6,87
RSAP	15	25,9	5,27	7,06
RFP	06	25,7	5,31	6,43
RFP	17	25,8	5,41	7,11
RFP	19	25,8	5,20	7,10
RFP	20	25,8	5,19	7,10
Média		25,83	5,38	6,80