

Utilização da Silagem Biológica de Resíduos de Pescado na Alimentação Animal ¹

Ronaldo de Oliveira Sales ²

¹ Parte do Trabalho de Tese apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – SP, como parte das exigências, para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

² Professor da Disciplina Nutrição de Ruminantes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará

Considerações Gerais

Uma alternativa viável para a região Nordeste é o aproveitamento das perdas das despezcas para elaboração da silagem, forma mais econômica de aproveitamento desta espécie, podendo ser obtida de maneira artesanal nas áreas de abrangências dos açudes, fazendeiros e até industrialmente nos maiores centros urbanos. Este produto é obtido da autólise ácida da proteína do pescado numa forma pastosa quase líquida que pode ser incorporada a rações como fonte de proteína, sendo também de suma importância na utilização para formulação de rações destinadas aos animais domésticos. As vantagens da produção de silagem em vez de farinha de pescado são as seguintes: o processo é virtualmente independente de escala; a tecnologia é simples; o capital necessário é pequeno, mesmo para produção em larga escala; os efluentes e problemas com odores ou poluição ambiental reduzidos; a produção é independente do clima; o processo da silagem é rápido em climas tropicais e o produto pode ser utilizado no local (OETTERER DE ANDRADE, 1992). Na silagem, intervém uma série de fatores externos e outros intrínsecos, como o tipo de pré-processamento do peixe, a temperatura ambiente, a quantidade de ácido usada, a época da captura e outros fatores cuja inter-relação resulta em uma degradação controlada das proteínas e lipídios, que é em essência, o significado da silagem (GREEN, 1984).

O valor nutricional da silagem de pescado está na digestibilidade protéica elevada devida ao fato de a proteína já estar bastante hidrolisada e da presença de lisina e triptofano entre outros aminoácidos essenciais. Após a bioconversão, o produto é uma fonte de proteínas autolisadas de alta qualidade, podendo ser usado na alimentação animal e na elaboração de novos alimentos (OETTERER DE ANDRADE, 1983). É ainda bastante versátil, podendo também ser usado para complementar rações de várias espécies animais, quando preparado apropriadamente, constituindo-se em uma fonte de aminoácidos livres de alta qualidade, dificilmente obtida por outros processos tecnológicos (GREEN et al., 1988).

Na suinocultura, um dos maiores entraves está nos gastos com alimentação que pode chegar a 70 a 75% do custo total de produção sendo o milho o componente mais oneroso empregado no preparo das rações, e responsável por 42% desse custo, PROTAS (1984), seguido do farelo de soja com baixo nível de lisina, GREEN (1984) entre outros aminoácidos essenciais. Assim, os procedimentos para redução dos custos das rações devem ser voltados para a redução do milho ou do farelo de soja por alimentos alternativos, energéticos ou protéicos que estejam disponíveis a preços compensadores, JOHNSEN (1981), como também para o preparo de rações de baixo custo e alto valor nutricional para aves, bovinos, ovinos, peixes e outros animais domésticos (JOHNSEN & SKREDE, 1981). Segundo a FAO (1989), a produção mundial de pescado em 1986 alcançou 91,5 milhões de toneladas, estimando-se que cerca de 10% deste total é oriunda da aquicultura, onde esta espécie encontrou condições

adequadas para seu desenvolvimento. Segundo LOVSHIN et al (1974), 20% da despesca do pescado capturado nos açudes do Nordeste brasileiro chega a ser perdido por falta de armazenamento. Não existe na literatura dados que quantifiquem a porcentagem de perdas nos dias atuais, mas estas continuam existindo.

1. Silagem de Peixe

1.1. Histórico

Foram os romanos os primeiros a converterem subprodutos da pesca para algo semelhante ao que hoje é conhecido como silagem de pescado, um molho de peixe espesso, conhecido como garum, mencionado por volta de 525 a.C.. Era preparado de guelras e vísceras de uma grande variedade de espécies de peixes, onde as sobras eram acondicionadas compactamente em recipientes lacrados hermeticamente e deixados para decompor completamente (MANDELLI, 1972). As vísceras do peixe forneciam uma potente fonte de enzimas proteolíticas para a autólise. A decantação do licor autolisado deixava um resíduo conhecido como alec, ao qual eram adicionados mais peixe e salmoura para produzir uma substância semi-sólida chamada putrilage. Ambos, garum e putrilage, tornaram-se iguarias que eram exportadas do sul da Itália para todo o Império Romano. Alguns povos do Sudeste asiático, notadamente os Indochineses, complementavam a sua ração rizícola com concentrados protéicos obtidos da autólise da carne e vísceras de certos clupeídeos de origem marinha. Os anamidas, entre outras tribos da Indochina, preparavam aqueles autolisados que receberam o nome local de mans quando de peixes e nuoc-man quando de camarões, sendo a mistura sal e pescado mantida por meses e agitada ocasionalmente no período inicial da preparação. Tais mans são encontrados tanto na forma líquida quanto semilíquida e pastosa, tendo os líquidos densidade em torno de 1,1 a 1,2 e pH 5 a 7 (MANDELLI, 1972). Segundo o mesmo autor, os teores de nitrogênio uréico e indólico constituem os principais índices da qualidade do produto.

A silagem de peixe não é um produto novo. O método surgiu nos países escandinavos, sendo a Suécia o primeiro país a produzir silagem de pescado em 1936, em experimentos com a utilização de misturas de ácido sulfúrico, clorídrico, fórmico e na adição de outros ingredientes como melaço (DISNEY & JAMES, 1980). Desde a década de 40, a silagem tem sido produzida em muitos países, incluindo Canadá (FREEMAN & HOOGLAND, 1956), Reino Unido (TATTERSON & WINDSOR, 1974), Austrália (BATTERMAN & GORMAN, 1980), Noruega e Alemanha (STROM & EGGUM, 1981), mas foi somente na Dinamarca, Polônia e Noruega que o processamento da silagem prosseguiu em escala comercial. Na Dinamarca, a produção de silagem de peixe pelo uso de uma mistura de ácido fórmico e ácido sulfúrico aumentou de 16.000 para 25.000 toneladas entre 1969 e 1972 (RAA & GILDBERG, 1982). No mesmo país, atingiu, em 1980, a produção anual de 46.000 toneladas (JOHNSEN, 1981). Na Polônia, onde o ácido sulfúrico e o ácido fórmico são usados em mistura ou separadamente, a produção foi por volta de 7.000 toneladas por ano (RAA & GILDBERG, 1982). Posteriormente, houve um esforço substancial no sentido de se implantar a silagem de peixe nos países do Sudeste asiático, como forma de aproveitamento das perdas de captura e do pescado de baixo valor comercial para elaboração da silagem de pescado, com pequeno investimento, sem causar odores ou problemas de poluição ambiental (PETERSEN, 1953; POULTER et al., 1980; VAN WYK et al., 1985).

1. 2. Princípios e Métodos de Elaboração da Silagem de Pescado

Dentro do conceito de industrialização, diversos autores têm mostrado que o sucesso na produção de silagem de peixe requer certos cuidados. O material para silagem deve ser picado ou moído resultando em partículas de 3 a 4 mm de diâmetro; o ácido deve ser bem misturado com o peixe picado para evitar acúmulo de material sem tratamento onde as bactérias deterioradoras possam permanecer. A agitação periódica é necessária para facilitar a rápida liquefação e a temperatura da silagem deve ser no mínimo 20°C pois abaixo deste nível, a liquefação acontece lentamente (DISNEY et al., 1978).

Muitos estudos sobre a estabilidade das silagens de peixe têm se concentrado em silagens feitas a partir de peixe com baixo conteúdo de óleo ou de silagens desengorduradas (BACKHOFF, 1976; GILDBERG & RAA, 1977). Além disso, a maioria dos testes de crescimento em suínos e aves utilizando silagem de peixe tem-se concentrado apenas nas silagens com baixo teor de lipídios (TIBBETTS et al., 1981).

Dentre os principais métodos utilizados na produção de silagem de pescado, um faz uso da adição de ácidos minerais ou orgânicos (silagem química), tais como fórmico, sulfúrico, clorídrico, propiônico e acético ao pescado inteiro triturado (WIGNALL & TATTERSON, 1976); (DISNEY & JAMES, 1980), e o outro é obtido pela utilização de microrganismos produtores de ácido lático adicionados ao pescado. Este último produto é conhecido como silagem biológica de pescado que pode ser obtido com resíduos de diferentes espécies, fontes de carboidratos e microrganismos produtores de ácido lático (LINDGREN & PLEJE, 1983; STROM & EGGUM, 1981; RAA et al., 1982; LESSI et al., 1989), sendo a liquefação conduzida pela atividade de enzimas proteolíticas naturalmente presentes nos peixes e/ou adicionadas (silagem enzimática) (KOMPIANG, 1981).

A autólise é o resultado da ação de enzimas endógenas, uma vez que o peixe homogeneizado sendo submetido a um tratamento a alta temperatura se liquefaz totalmente (TATTERSON & WINDSOR, 1974).

O material autolisado se caracteriza por uma degradação do material protéico original do produto da pesca, a estado de peptídios, oligopeptídios e aminoácidos, em maior ou menor grau, dependendo da técnica empregada na sua elaboração (MEINKE & MATIL, 1973), degradação essa que resulta num aumento no nível dos componentes nitrogenados não-protéicos (tais como, aminoácidos livres, amônia, mono e dimetilaminas), como indicado no estudo da silagem ácida de peixe de vísceras de bacalhau (BACKHOFF, 1976).

Em geral, os resultados de alguns trabalhos mostraram que a autólise em silagens feitas a partir do peixe inteiro seja principalmente devido às enzimas do intestino que são espalhadas pela massa do peixe após a trituração (BACKHOFF, 1976; HAARD et al., 1985). Isto é suportado pelo fato de que, na silagem feita apenas com filés, a liquefação é pequena (TATTERSON & WINDSOR, 1974), sendo que o uso do ácido fórmico promove o abaixamento do pH a níveis entre 3,8 a 4,0, o que se constitui numa vantagem, uma vez que o uso de ácidos minerais baixa o pH para cerca de 2,0, necessitando, porém, de uma neutralização posterior à hidrólise (WIGNALL & TATTERSON, 1976).

Vários autores, na tentativa de minimizar os custos de produção com a silagem ácida de pescado, trabalharam com a mistura de ácidos minerais e orgânicos, por períodos longos de armazenagem e melhores condições de aceitação do produto final. No caso específico da combinação dos ácidos, DISNEY et al (1978) utilizaram alguns ácidos, tais como, fórmico e sulfúrico, para baixar o pH e aumentar a ação bacteriostática das silagens na faixa dos 160 dias de armazenagem.

BERAQUET & GALACHO (1983), trabalhando com a adição de 3% em peso de ácido fórmico a 90%, concluíram ser suficiente para preservar a silagem de peixe inteiro e resíduos de camarões durante o período de 30 dias de armazenagem.

É também extremamente importante no preparo da silagem de pescado a preparação inicial da matéria prima, triturada e misturada com ácido (sulfúrico, fórmico ou acético), sendo obtida, dessa forma, um produto líquido estável, com aroma maltado, com boas características de armazenamento. Sendo assim, STROM & EGGUM (1981), trabalhando com vísceras de peixe trituradas e misturadas com ácido fórmico e ácido propiônico (1:1, p/p), concluíram que as mesmas sofreram autólise entre 2 a 3 dias à temperatura de 30°C. A formação de aminas biogênicas pode também ser um problema se a silagem de peixe for produzida de matéria prima parcialmente deteriorada (DISNEY et al., 1978).

Mesmo assim, GILDBERG & RAA (1977) citam que o princípio envolvido na manufatura da silagem é a de que vários ácidos ou misturas de ácidos possam ser usados. Entretanto, quando silagens são produzidas utilizando-se ácidos inorgânicos, o pH do produto final dever ser ao redor de 2,0 para evitar o crescimento bacteriano, sendo necessário neutralizar o produto antes que seja usado com propósitos alimentares.

LINDGREN & PLEJE (1983) demonstraram existir uma relação entre o pH e teor de nitrogênio não-protéico, sendo que, à medida que diminui o pH, a atividade proteolítica de certas enzimas é favorecida. Tais enzimas atuam sobre as proteínas do tecido muscular do pescado produzindo a autólise que conduz ao aumento do conteúdo de amônia, aminas, aminoácidos e peptídeos dificultando a capacidade de armazenagem do material. Por outro lado, incrementando-se o pH, favorece-se a produção de ácido por parte das bactérias lácticas.

De acordo com TATTERSON & WINDSOR (1974), as células do tecido muscular do pescado contêm pequenas organelas denominadas de lisossomas que possuem no seu interior um grande número de enzimas hidrolíticas, tais como catepsinas, fosfatases, nucleases, lipases, proteases e colagenases que se caracterizam por apresentar um pH ótimo de atividade na faixa ácida.

Tais condições criadas pelo abaixamento do pH, devido à glicólise durante o "rigor-mortis", acabam por causar o rompimento das paredes do lisossoma, liberando as enzimas contidas, iniciando-se a hidrólise de proteínas e a ação de aminoácidos e peptídeos, ocorrendo também a formação de pequenas quantidades de pirimidinas e bases purínicas, provenientes da desintegração dos ácidos nucléicos e lipídios, constituindo-se no fenômeno da autólise (RAA & GILDBERG, 1976).

Esta conclusão é sustentada pelos trabalhos de BACKHOFF (1976) que mediu a extensão da autólise (porcentagem de nitrogênio não-protéico) de diferentes partes de bacalhau a pH 3,9 e 30°C, representados nas Figuras 1 e 2 onde se observa que a silagem feita de vísceras e pele autolisadas, mais precisamente nas áreas de carne onde apresentam um menor índice de autólise, fato comprovado por outros autores que relataram resultados similares WIGNAL & TATTERSON (1976). Entretanto, algumas enzimas proteolíticas estão presentes na carne (FUJJI et al., 1951; SIEBERT, 1961).

No Brasil, trabalhos nesse sentido foram realizados com pescado rejeitado (MANDELLI, 1972), silagens de resíduos de peixe e de camarão (BERAQUET & GALACHO, 1983) que, pela curva de digestão, relata que em 30 dias o processo autolítico cessa e, já nas primeiras horas e uma semana após o início do processo de autólise o grau de digestão, atinge 60% e 80% aproximadamente. Dada esta diversidade, o grau de degradação do músculo não é determinado simplesmente pelo nível de enzimas proteolíticas no peixe, mas pela ação conjunta de inibidores enzimáticos na faixa de pH alcalino e de enzimas específicas solubilizantes mais ativas em pH mais baixo (GILDBERG & RAA, 1977).

Após a morte do pescado, as enzimas proteolíticas das vísceras continuam ativas sendo responsáveis, juntamente com as enzimas bacterianas, pela deterioração do pescado. Esse processo é lento, mas a ação proteolítica pode ser acelerada se o crescimento de microrganismos for contido (pela mudança de pH, por exemplo), sendo que estas enzimas podem continuar ativas produzindo alterações no flavor e na textura (SIEBERT, 1961).

Segundo OETTERER DE ANDRADE (1991), as enzimas proteolíticas envolvidas na digestão de peixes podem prontamente ser classificadas em quatro grupos: a) enzimas das vísceras e do trato digestivo (tripsina, quimiotripsina e pepsina); b) enzimas do tecido do muscular (catepsinas); c) enzimas das plantas (papaína, ficina e bromelina) e d) enzimas dos microrganismos.

Em casos específicos com relação aos microrganismos, LINDGREN & PLEJE (1983) observaram que, durante o armazenamento da silagem de pescado, só se observa a presença de bactérias ácido lácticas, indicando que os microrganismos patogênicos como, coliformes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella ssp.* encontram-se restringidos pelo baixo pH e pelas condições de anaerobiose nas quais se observa a presença de certas substâncias antibacterianas produzidas pelas bactérias lácticas, que também são responsáveis pela produção do sabor (MACKIE et al., 1971).

1. 3. Composição Química do pescado

O conhecimento da composição química do pescado "in natura", além do aspecto nutricional, é também ponto importante no aspecto tecnológico como um indicativo para a piscicultura intensiva no que se refere ao aproveitamento dessas espécies.

O teor de proteína bruta em peixes de água doce varia de 12 a 28%, tendo como principal constituinte a água (66% a 84%), os lipídios, de 0,1% a 22%, e as substâncias minerais, de 0,8% a 2,9% (GURGEL & FREITAS, 1972) (Anexo 2). Diferentes espécies de pescado e o tipo de músculo, branco ou escuro, podem ser os fatores responsáveis pelos valores de proteínas desses peixes (LANTZ, 1966; MAI et al., 1980; SHARDA et al., 1976).

Dado que a composição química do pescado varia de espécie para espécie e também de peixe para peixe de uma mesma espécie, diversas causas podem ser responsáveis, como, tamanho, sexo, área geográfica, ciclo metabólico, mobilidade, época do ano, parte do pescado do qual se obteve a amostra, e a alimentação, sendo a variação da composição química da tilápia bastante acentuada, principalmente no tocante à matéria seca e gordura (GURGEL & FREITAS, 1972). Segundo os mesmos autores, a composição do híbrido de Tilápia nilótica com Tilápia hornorum foi de 17,52% de proteínas, 74,32% de umidade, 2,75% de cinzas e 5,41% de lipídios totais.

FREITAS et al (1979), estudando a composição química da tilápia do Nilo, verificaram variações menos acentuadas nos teores de cinzas (0,7 - 3,1%), estando as maiores variações entre os teores de proteína, onde quase todas as espécies apresentam valores diferenciados (14,3% - 21,1%), podendo a tilápia do Nilo ser enquadrada como peixe magro de alto teor protéico.

JUNK (1985), relatou flutuações sazonais pronunciadas nos teores de lipídios (2-12%) e de umidade (72-80%) para o híbrido de tilápia (n=56 peixes), embora não tenha havido controle da procedência e as variações no mesmo mes foram amplas. O conteúdo de proteína variou de 17 a 19%, sem qualquer sazonalidade. Os peixes foram adquiridos em diferentes pontos comerciais e de pescadores em Manaus, Amazonas.

Para FREITAS & GURGEL (1982), a composição centesimal do filé de tilápia (n=43 peixes) criado em cativeiro (Pentecoste, Ceará), variou pouco durante o ano. As percentagens médias para peso, umidade, gordura e proteína foram de 1.318 g (1.310 - 1.325 g), 76,8%

(71,5-79,2%), 1,4% (0,5-3,5%) e 21,0% (19,0-23,0%), respectivamente. Os mesmos autores trabalhando com o híbrido de tilápia nilótica com tilápia hornorum verificaram que, a composição foi de 17,52% para proteína, 74,32% para umidade, 0,73% para cinzas e 5,41% de lipídios totais, valor que variou de 3,75 - 7,48% de acordo com o lote analisado. Esta variação era devida à presença de gordura cavitária em diferentes proporções nas amostras analisadas.

1.4. Composição Química da Silagem de Peixe

Diferentes tipos de pescado como também a parte constituinte a ser utilizada para silagem (peixe inteiro, cabeça, resíduos etc) podem ser os fatores responsáveis pela amplitude observada nos valores de teor protéico dessas silagens.

De acordo com DISNEY & HOFFMAN (1978), a silagem de pescado apresenta um teor de proteína bruta (N x 6,25) da ordem de 10,2 a 19,8%, para dois ácidos usados, a diferentes pHs conforme a Tabela 1. Entretanto, diversos autores, trabalhando com ácido fórmico em extratos protéicos de bacalhau (*Gadus morhua*), a pH 4,0, encontraram os seguintes resultados: umidade 77,8% (77,8 - 78,2), proteínas 15,8% (15,8 - 16,2), lipídios 3,78% (3,78 - 3,82) e cinzas 3,45% (3,45 - 3,48) (TATTERSON & WINDSOR, 1974),

Tabela 1. Composição percentual de silagens de vários peixes com o uso de diferentes ácidos

Material usado	Tratamento c/ ácido	Umidade %	Proteína (Nx6,25)	Lipídio %	Cinzas %
Arenque (Inteiro)	3% HCOOH	10,3	12,4	9,1	4,0
Arenque (Inteiro)	pH 2,0(HCl)+ 1% HCOOH	10,2	11,3	8,6	3,9
Cavala (Inteira)	pH 3,0(HCl)+ 1% HCOOH	9,8	19,8	1,1	-
Peixe (Inteiro)	pH 3,0(HCl)+ 1% HCOOH	9,9	18,8	2,6	6,9
Cabeça e vísceras	pH 3,0 (HCl)+ 1% HCOOH	10,1	15,4	3,7	8,4
Esqueleto (Inc.cabeças)	pH 3,0 (HCl)+ 1% HCOOH	11,3	14,1	4,0	12,1
Somente cabeças	pH 3,0 (HCl)+ 1% HCOOH	8,5	17,5	4,8	9,3
Vísceras	pH 2,0 (HCl)+ 1% HCOOH	8,3	10,2	8,3	2,4
Músculos	pH 2,0 (HCl)+ 1% HCOOH	8,8	17,3	0,4	2,7
Camarão	pH 3,0 (HCl)+ 0,5% HCOOH	8,6	15,6	11,0	7,5

Fonte: DISNEY & HOFFMAN (1978).

Para MARCH et al. (1963), a composição centesimal da silagem de peixe para alimentação animal com adição de aproximadamente 3% de ácido fórmico e diferentes tipos de pescados apresentou para as vísceras de peixe branco, umidade 78,9%, proteína 15,0%, lipídios 0,5% e cinzas 4,2%. Para as vísceras de arenque, os resultados foram: umidade 75,4%, proteína 13,5%, lipídios 8,7% e cinzas 2,6%. Para vísceras de arenque sem óleo a 2% de ácido fórmico os dados foram: umidade 80,0%, proteína 14,5%, lipídios 2,0% e cinzas 2,8%. Com arenques novos e pequenos os resultados foram: umidade 69,4%, proteína 15,4%, lipídios 13,0% e cinzas 2,2%. Para enguias de praia, os resultados foram: umidade 77,7%, proteína 15,4%, lipídios 3,4% e cinzas 2,4% respectivamente.

Entretanto, se a silagem for processada com resíduos de peixes, é bem provável que ocorra alguma variação na composição aproximada dos tecidos com a localização anatômica destes (TATTERSON & WINDSOR, 1974).

Alguns autores, em estudo do valor nutricional do músculo do pescado, relataram que a parte comestível contém de 15 a 24% de proteínas e que o teor de lipídios é extremamente variável, podendo variar de 0,1 a 22%, influenciado pela espécie, estado de maturação, estação do ano e pela alimentação no caso dos peixes pelágicos (ALLEN et al., 1981).

Essa variação se reflete principalmente nos lipídios, onde geralmente há um aumento progressivo do teor de gordura da carne a partir da cauda para a cabeça, sendo que o teor de lipídios do fígado mostra grandes flutuações sazonais influenciadas pela variação na alimentação e mudanças metabólicas no peixe durante o ciclo reprodutivo (STONE & HARDY, 1986).

1.5. Composição em Aminoácidos de peixes e produtos da pesca

Foi estabelecido, há muitos anos, que o peixe e os produtos da pesca, fornecem proteína de excelente qualidade nutritiva quando avaliada com base em seu teor de aminoácidos essenciais (NEILENDS et al., 1949; DUPONT, 1958; WEE et al., 1986). A composição do conteúdo de aminoácidos livres no peixe "in-natura" tem se mostrado variar com a estação do ano particularmente no caso da glicina, do ácido glutâmico e do teor de taurina (JONES, 1959).

O conhecimento em si dos conteúdos de aminoácidos essenciais (AAES) não é conclusivo para caracterizar a qualidade de uma determinada proteína, pois segundo SGARBIERI (1987), alguns índices baseados em métodos químicos, microbiológicos e biológicos, melhor estabelecem certas correlações entre a composição da proteína e sua qualidade nutricional. Para o mesmo autor, entre outros, vale a pena destacar os seguintes índices: Escore Químico (EQ), Digestibilidade e valor biológico da Proteína, Quociente de Eficiência Protéica (NPR) ou Quociente de Eficiência Protéica Líquida (RNPR), estudados no presente trabalho.

Entretanto, entre as espécies de água doce, a tilápia tem sido o peixe mais pesquisado nos trabalhos já realizados sobre a composição em aminoácidos (DUPONT, 1958; MAIA et al., 1980) e efeitos de dietas sobre o crescimento e conversão alimentar, utilização de proteína e o efeito do processamento e armazenagem sobre os teores de aminoácidos (LAJOLO et al., 1975).

Ainda segundo CONNELL & HOWGATE (1959), o músculo do peixe tem ocasionalmente maiores teores de lisina e histidina e mais baixos teores de metionina, triptofano, fenilalanina e isoleucina do que outros tecidos musculares. Geralmente, os teores dos aminoácidos de diferentes espécies de peixe variam não significativamente e em algumas espécies foi relatado que a lisina se acumula durante a desova dos peixes, fato observado em maior parcela nos machos do que nas fêmeas.

Duas espécies de tilápias de águas tropicais da Índia foram investigadas por LAJOLO et al (1975): "Tilapia esculenta" e "Tilapia lidole". Algumas diferenças na ordem quantitativa dos aminoácidos foram encontradas, embora suas concentrações estivessem muito próximas. Em comum, essas duas espécies apresentaram apenas o primeiro (Glu) e o último (Ala) AAs com 13,5g Glu/16gN para "Tilapia esculenta" e 15,0g Glu/16gN para "Tilapia lidole" e de 6,0g Ala/16gN para "Tilapia esculenta" e 5,9g Ala/16gN para "Tilapia lidole". A ordem de outros AAs foram: Tilapia esculenta, Asp, 9,2; Lys, 8,5; Leu, 6,9 e Gly, 6,3. O teor de Arg foi de 5,2g/16gN, "Tilapia lidole", Lys, 10,2; Leu, 9,9; Asp, 9,6 e Arg, 6,9. O teor de Gly foi de 5,1g/16gN. Os teores de sulfurados, de aromáticos e dos outros AAES nas duas

espécies foram muito equivalentes. Os teores de AAes de "Tilapia nilotica" (*Oreochromis niloticus*) também foram muito próximos dos valores descritos acima (KHALIL et al., 1980).

LAJOLO et al (1975), usando cromatografia de troca iônica, analisaram os AAes em músculo de *Tilapia melanopleura*, encontrando os seguintes valores, em g/100g de proteína: Lys (8,8), Leu (7,3), Ile (4,7), Thr (4,5), Val (4,4), Phe (4,0), Met (2,3) e Trp (1,6). Os totais de AAes sulfurados e aromáticos foram, respectivamente de 3,3 e 7,3g/100g de proteína. O teor de histidina não foi relatado.

MAIA et al (1983), relataram os principais aminoácidos (AA) de músculo desengordurado de tilápia proveniente do CEPTA (Pirassununga, São Paulo) foram (g AA/16g N) (entre parentese o EQ): ácido glutâmico, 19 + 1,7; ácido aspártico, 11 + 1,0; lisina 10,2 + 1,6 (2,00); leucina, 9,8 + 0,2 (1,40). arginina, 7,2 + 0,5 e alanina, 7,1 + 0,5. Além da lisina, leucina e arginina, os demais AAes apresentaram os seguintes conteúdos: valina, 6,3 + 0,4 (1,31); isoleucina, 5,8 + 0,5 (1,38), treonina, 3,9 + 1,8 (1,11), histidina, 3,1 + 0,4 (1,82), aromáticos totais, 9,0 (1,23) e sulfurados totais, 1,8 (0,69).

Com um EQ=0,69, os aminoácidos sulfurados totais foram os limitantes no músculo da "Tilapia nilotica". Em "Tilapia mossambica" (DUPONT, 1958), "Tilapia melanopleura" (LAJOLO et al., 1975) e "Tilapia esculenta" e "Tilapia lidole" (DUPONT, 1958), não foi encontrado nenhum AAE limitante. Nestas espécies, os sulfurados totais foram, respectivamente, de 4,1g/16gN (2,8 Met + 1,3 Cys), 3,3g/16gN (2,3 Met + 1,0 Cys), 3,7g/16gN (2,7 Met + 1,0 Cys) e 4,1g/16gN (3,0 Met + 1,1 Cys), sendo superiores a 1,8g/16gN (1,3 Met + 0,5 Cys) em *Oreochromis niloticus*. Esta limitação em aminoácidos sulfurados pode ser uma característica da *Tilapia nilotica*, pois embora sem ter fornecido o total desses aminoácidos, o baixo valor para metionina (1,1g/16gN) encontrado por KHALIL et al (1980), para "Tilapia nilotica" poder ser um indicativo dessa deficiência.

Em 11 espécies de peixes da Indonésia, DUPONT (1958) encontrou os seguintes teores médios, em gAA/16gN, foram obtidos para os seis aminoácidos presentes em maiores concentrações: Glu, 17,5 (6,8-20,2); Leu, 8,1 (6,9-9,1); Arg, 7,4 (5,7-9,3); Lys, 7,1 (6,1-8,1); Ile, 6,0 (5,3-6,7) e Ala, 5,9 (5,2-6,7). O teor de ácido aspártico não foi relatado e apenas no "*Cyprinus carpio*" o ácido glutâmico, com um teor de 6,8g/16gN (bastante baixo em relação a faixa deste AA), não apareceu como o primeiro em quantidade, sendo substituído pela leucina com 7,7g/16gN (valor normal dentro da faixa deste AA). Nas outras espécies analisadas, entre elas a *Tilapia mossambica*, os totais de sulfurados e aromáticos foram de 4,2g/16gN e 8,3g/16gN, respectivamente, e, completando a relação dos aminoácidos essenciais (AAEs), apareceram Val, 5,3; Thr, 4,8; Phe, 4,5; Met, 3,0; His, 1,8 e Trp, 1,2g/16gN.

1.6. Disponibilidade de Minerais na Silagem de Peixe

A biodisponibilidade de minerais na silagem de peixe para engorda de suínos é um critério importante a ser considerado quando se avalia a contribuição da silagem na dieta em relação ao animal.

Os minerais, geralmente, estão menos biodisponíveis nas fontes vegetais do que nas fontes animais (SATHE et al., 1984). Fatores que afetam a utilização biológica dos minerais provenientes dos alimentos incluem, a digestibilidade do alimento que contém o mineral, as formas químicas do mineral, os níveis dietéticos de outros nutrientes, a presença de quelatos para os animais, o tamanho da partícula do alimento e as condições de processamento do alimento. Muitas operações no processamento de alimentos podem alterar, direta ou indiretamente, o nível ou a forma química de minerais ou a associação de minerais com outros componentes do alimento.

O teor de cálcio e fósforo no processo de silagem é devido principalmente à porção óssea do pescado sendo que estes elementos estão na forma de fosfato-tricálcico e carbonato de cálcio, em teores relativamente altos. Além disso, durante o processamento das farinhas de grãos oleaginosos, os complexos de minerais de proteínas, fitatos, tendem a se formar, reduzindo a biodisponibilidade de cálcio, zinco, cobre, manganês, molibdênio e possivelmente, ferro (SMITH, 1977).

Como alimento animal, a silagem de tilápia é considerada boa fonte de vários minerais, incluindo, cálcio, fósforo, magnésio, ferro, manganês, potássio, zinco e cobre (TIBBETTS et al., 1981).

1.6.1. Cálcio

O teor de cálcio é requerido por muitas enzimas, sendo também requerido para o normal funcionamento das membranas, e essencialmente na coagulação sanguínea e para transmissão nervosa e contração muscular. Deficiências severas de cálcio resultam em retardo do crescimento, incremento na taxa do metabolismo basal, osteoporose, paralisia e hemorragia (CHANEY, 1986).

STONE & HARDY (1986), avaliaram o teor de cálcio de algumas espécies de peixes e concluíram que é extremamente variável entre as espécies. A variação entre as espécies do teor de cálcio também foi detectada para o músculo de peixe, e que entre as espécies, a variação no teor de cálcio na carne e vísceras do peixe foi também demonstrada por STONE & HARDY (1986). O peixe inteiro tem um teor muito mais alto de cálcio do que na carne ou vísceras de peixe, porque a riqueza de cálcio é associada com o esqueleto e as escamas, os quais contém, ambos, fosfato tricálcico e carbonato de cálcio (KOMPIANG et al., 1981).

KOMPIANG et al (1980), confirmaram a importância das escamas como fonte de cálcio descobrindo que a sardinha continha 4,6% de cálcio no peixe inteiro, e somente 2,5% de cálcio quando as escamas eram removidas.

O teor de cálcio na silagem de peixe feita de várias fontes de sub-produtos de pesca aparecem na Tabela 2. Foi recomendado que a concentração de cálcio em dietas para suínos em crescimento (20 - 55 kg peso vivo) deveria ser de 0,91% (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, 1981).

Tabela 2. Conteúdo de Cálcio na Silagem de Peixe Feita de Vários Resíduos de Peixe.

Silagem de peixe	Cálcio (%)	Referência
Capturado na Tailândia	7,0	STONE & HARDY (1986)
Capturado na Costa Oeste USA	5,0	TIBBETTS et al (1981)
Branco (principalmente bacalhau)	3,8	SMITH (1977)
Arenque (Inteiro)	2,1	SMITH (1977)
Resíduos de Sardinha (Cabeça, caudas e vísceras)	8,5	KOMPIANG et al (1980)
Atum (in natura e vísceras)	0,7	DISNEY et al (1978)

1.6.2. Fósforo

O fósforo é o constituinte dos ácidos nucleicos, proteínas, lipídios, carboidratos e compostos de alta energia, sendo o seu teor extremamente variável entre as espécies. STONE & HARDY (1986), citam quantidades de fósforo no pescado fresco variando aproximadamente entre 1,1 a 2,5% na carne de cavala e 0,8 - 1,4% na carne de linguado

fresco. Essas flutuações estão associadas com numerosos fatores incluindo idade e sexo do peixe, como também o teor de cálcio na água SMITH (1977). O mesmo autor, relata que as vísceras do pescado contém entre 0,17 e 0,32% de fósforo na matéria seca, sendo que no peixe inteiro contém mais fósforo do que a carne ou nas vísceras, em razão da presença de ossos, ricos nesse elemento (Tabela 3).

Tabela 3. Conteúdo de Fósforo em Silagens Elaboradas com Vários Resíduos de Peixe

Silagem de peixe	Fósforo (P ₂ O ₅)	Referência
Capturado na (Tailândia)	1.1	STONE & HARDY (1986)
Capturado na (Costa Oeste, USA)	1.5	TIBBETTS et al (1981)
Branco (principalmente bacalhau)	1.9	SMITH (1977)
Arenque (inteiro)	1.6	SMITH (1977)
Resíduos de sardinha (cabeça, cauda e vísceras)	2,0	KOMPIANG et al (1980)
Atum (fresco e vísceras)	0,5	DISNEY et al (1978)

Tabela 4. Conteúdo de cálcio e fósforo de silagens elaboradas a partir de vários resíduos de peixe.

Silagem de Peixe	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Referência
Peixes de carne branca (ex. bacalhau)	3,8	1,9	Smith (1977)
Arenque (inteiro)	2,1	1,6	Smith (1977)
Atum ("in natura" e vísceras)	0,7	0,5	Disney; Hoffman (1978)
Resíduos de sardinha (cabeça, cauda e vísceras)	8,5	2,0	Kompiang <i>et al.</i> (1980)
Peixes capturados na Costa Oeste USA	5,0	1,5	Tibbetts <i>et al.</i> (1981)
Peixes capturados na Tailândia	7,0	1,1	Stone; Hardy (1986)
Silagem seca em pó de pargo (migongas)	1,6	1,2	Lustosa Neto (1994)
Silagem seca em pó de pargo (carcaça)	3,8	2,4	Lustosa Neto (1994)
Silagem seca em pó de pargo (vísceras)	8,3	4,1	Lustosa Neto (1994)
Tilápia do Nilo (peixe inteiro com vísceras, pele e escamas)	1,4	1,0	Sales (1995)

A "AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL" (1981), recomenda que o nível apropriado de fósforo nas dietas para suínos entre 20 e 50 kg de peso vivo seja 0,69% de matéria seca na dieta.

1.6.3. Magnésio

O magnésio ativa a fosfatase alcalina e outras enzimas, incluindo as que utilizam ATP ou catalisam a transferência de fosfato, sendo também um ativador do sistema que usa pirofosfato de tiamina como coenzima. Todas as funções do ATP, como transporte através de membranas, ativação de aminoácidos, síntese de proteínas, ácidos nucleicos, gorduras, coenzimas, geração e transmissão dos impulsos nervosos, contração muscular e fosforilação oxidativa, são dependentes do magnésio. A síntese do DNA necessita de magnésio (DE ANGELIS, 1979), sendo que a concentração recomendada na dieta de suínos é de 100 mg/kg

para crescimento normal e de 400 mg/kg para a manutenção das concentrações sanguíneas normais (McALESSE & FORBES, 1961).

Deficiências de magnésio resultam em morte embrionária e malformação, redução da ingesta durante a gravidez e baixa lactação, afetando severamente tanto a mãe quanto aos filhotes, tendo também o ganho de peso reduzido e a sobrevivência diminuída (WANG et al., 1971; HURLEY et al., 1976).

1.6.4. Ferro

O ferro tem grande número de funções no organismo, como componente da hemoglobina e mioglobina e é requerido para o transporte de O₂ e CO₂. Também está envolvido com enzimas como oxidases, hidroxilases, desidrogenases e citocromos. Além da sua participação na biossíntese da hemoglobina, tem outras funções como, por exemplo, a estimulação no desenvolvimento do sistema nervoso (CHANEY, 1986).

1.6.5. Manganês

O manganês atua na fosforilação oxidativa, sendo necessária para a formação dos mucopolissacarídeos, utilização da glicose, síntese e metabolismo dos lipídios, incluindo o colesterol e para o desenvolvimento normal do pâncreas, contração muscular, prevenção de defeitos ósseos e da esterilidade (DE ANGELIS, 1979) em algumas espécies o manganês acumula-se no fígado.

1.6.6. Outros Minerais

Existe pouca literatura disponível sobre o teor de outros minerais tanto na silagem, quanto no peixe inteiro ou resíduos. O teor da maioria dos minerais no peixe integral ou nas sobras de peixes (cabeça, cauda e vísceras), ser maior do que o da carne ou nas vísceras por causa da alta concentração desses minerais nos ossos, muito embora alguns elementos também se concentre em partes nas vísceras, como por exemplo, as ovas do badejo que são ricas em ferro e cobre (MEDINA et al., 1956) e zinco (KOMPIANG et al., 1980).

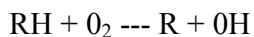
2. Oxidação Lipídica na Silagem de Pescado

O processo de oxidação lipídica constitui-se num dos principais fatores de deterioração da qualidade das silagens armazenadas por longo período de tempo, resultando em alterações de flavor, cor, textura, valor nutritivo e produção de componentes tóxicos (ALLEN & FOEGEDING, 1981). Muitos estudos tem sido conduzidos com o objetivo de esclarecer o mecanismo de peroxidação lipídica e encontrar formas de evitar ou minimizar tais problemas.

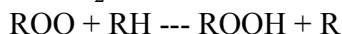
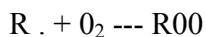
A autooxidação de lipídios em silagens de pescado envolve a peroxidação de ácidos graxos insaturados, em particular daqueles associados com fosfolipídios localizados nas membranas celulares. Desenvolve-se através de três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 3).

Figura 1. Etapas de Iniciação, Propagação e Terminação no Processo de Oxidação de Lipídios.

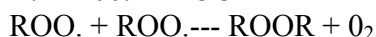
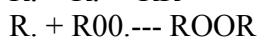
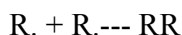
a) Iniciação:



b) Propagação:



c) Terminação:



onde,

RH = ácido graxo insaturado

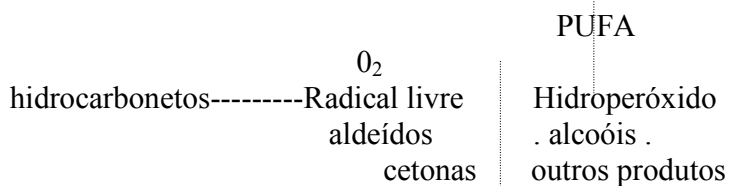
H = tomo de H adjacente a uma dupla ligação

ROOH = hidroperóxidos

A susceptibilidade ao processo de oxidação depende da capacidade (habilidade) dos ácidos graxos doarem um tomo de hidrogênio, com produção de um radical livre de lipídio o qual, por sua vez, reage com oxigênio molecular para formar um radical peróxido. Assim, os tomos de carbono adjacentes às duplas ligações tendem a doar um tomo de hidrogênio, levando à formação de radicais estabilizados por ressonância (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1990). Os produtos primários da autooxidação lipídica são hidroperóxidos, os quais não causam problemas de flavor e ranço. Entretanto, a decomposição de tais hidroperóxidos em produtos secundários como hidrocarbonetos, alcoóis, cetonas e aldeídos, influenciam significativamente o valor nutritivo das silagens de pescado. Dependendo da composição dos ácidos graxos nos lipídios, a proporção desses produtos de oxidação vai variar extensivamente (GRAY, 1978). (Figura anexa)

Mecanismos de oxidação lipídica e formação de produtos.

ácidos graxos poli insaturados-----Radical livre----Peróxido ativado (PUFA)



Oxigênio, luz, calor, metais, pigmentos e grau de insaturação dos ácidos graxos influenciam as reações descritas anteriormente, tendo como principal característica a rancidez oxidativa, como sendo uma das principais causas da deterioração da silagem de pescado quando expostas ao oxigênio atmosférico, devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, como o eicosapentaenóico C20:5 e o docosahexaenóico C22:6, específicos do pescado (GRAY, 1978).

Quando a concentração de hidroperóxidos é baixa, sua decomposição dá-se segundo a reação monomolecular seguinte: ROOH - RO + OH. Entretanto, se a concentração é elevada a reação é do tipo bimolecular: 2ROOH - RO. + ROO. + H2O. Os radicais podem também participar na fase de propagação, apesar de que predominam os radicais ROO. de maior

energia. Os hidroperóxidos têm tendência a unir-se entre si mediante pontes de hidrogênio, quando a temperatura é baixa ou sua concentração elevada.

A decomposição dos hidroperóxidos lipídicos envolve um conjunto complexo de reações. Produtos voláteis são formados pela clivagem homolítica, havendo separação de radicais hidroxilas e formação de radicais alcóxi (FRANKEL, 1983). A natureza do produto volátil, formado a partir de um hidroperóxido particular, depende da composição da cadeia alquila e a posição onde a cisão da cadeia acontece (MOTTRAM, 1987).

Os hidroperóxidos lipídicos podem também condensar em dímeros e polímeros. Esses materiais de alto peso molecular, podem, no entanto, oxidar-se e decompor-se em produtos voláteis de quebra. Produtos secundários posteriores consistem de materiais monoméricos oxigenados, incluindo epoxiidroperóxidos, cetoidroperóxidos, diidroperóxidos, peróxidos cíclicos e endoperóxidos bicíclicos, os quais podem também sofrer nova quebra, produzindo materiais voláteis e dialdeídos que contribuem para a degradação do flavor dos alimentos (FRANKEL, 1983).

Segundo HARPER (1977), a oxidação lipídica é uma alteração química que reduz o sabor e odor desagradáveis da gordura dos alimentos. Acredita-se que o oxigênio do ar ataca a ligação dupla dos ácidos graxos insaturados para formar uma ligação peróxido. Certos metais como o cobre e o chumbo catalisam a oxidação. A exclusão do oxigênio ou a adição de um antioxidante retarda o processo. A peroxidação lipídica é catalisada in vivo, por compostos heme, com a hemoglobina e mioglobina.

De acordo com PEARSON et al (1983), a deterioração oxidativa dos lipídios dos alimentos envolve primariamente reações de autooxidação que são acompanhadas por várias reações secundárias tendo características oxidativas e não oxidativas. Os lipídios importantes envolvidos na oxidação são as porções dos ácidos graxos insaturados, tais como as do oléico, linoléico e linolênico. A velocidade de oxidação desses ácidos graxos aumenta geometricamente com o grau de insaturação.

A silagem de pescado apresenta sérios problemas, e entre eles está o armazenamento, pois possui área superficial muito maior e portanto, mais exposta ao ar, sendo que a grande maioria das silagens de pescado são armazenadas por longo período de tempo e em condições normais de temperatura ambiente. Além disso o próprio processo incorpora oxigênio ao produto, muitas vezes a um nível de 100% de oxigenação (GRAY & PEARSON, 1987), acelerando intensamente a peroxidação de lipídios e o inconveniente de apresentar níveis relativamente altos de ácidos graxos insaturados e baixas concentrações de antioxidantes naturais (tocoferóis), tornando-as relativamente instável (EINSET et al., 1957).

CHEFTEL et al (1986) discutiram as possíveis reações entre malonaldeído e amino grupos livres de proteínas as quais levaram à formação de ligações covalentes irreversíveis resultando em intensa perda do valor nutricional do produto.

Reações de proteínas com lipídios peroxidados tem sido extensivamente estudadas em sistemas modelos (BUTTUKUS, 1967; JARENBACK & LILJEMARK, 1975). De acordo com vários autores (KANNER & KAREL, 1976; FUNNS et al., 1982) lipídios peroxidados podem causar polimerização e insolubilização de proteína, cisão da cadeia polipeptídica, destruição de aminoácidos e formação de produtos de adição com proteínas. Essas interações influenciam as propriedades nutricionais e funcionais do material utilizado, e quanto maior a instabilidade dos ácidos graxos, maior a oxidação lipídica, como é o caso da silagem de pescado, e portanto maiores serão os efeitos sobre o produto a ser utilizado.

Quando proteínas são expostas a lipídios peroxidados, uma considerável proporção de lipídios complexa-se com proteínas através de associação hidrofóbica e/ou ligações de hidrogênio, conforme estabelecido por NARAYAN & KUMMEROW (1963).

Em sistemas com alta atividade de água ou solução aquosa, como é o caso das silagens de pescado, proteínas formam ligações cruzadas entre si na presença de lipídios peroxidados com simultânea perda de solubilidade (GARDNER, 1979). Tais lipídios peroxidados podem também ligar-se covalentemente à proteína (NIELSEN, 1978) tornando vários grupamentos amino ou sulfidrila indisponíveis. Cisão de proteínas também podem ocorrer com prejuízo aos aminoácidos, sendo os mais susceptíveis a reação: histidina, cisteína/cistina, metionina, lisina e tirosina (OBRIEN, 1966).

Em relação à reação de proteínas com produtos secundários de oxidação lipídica, a interação entre malonaldeído e miosina está entre as mais estudadas. Malonaldeído origina-se de endoperóxidos formados via autooxidação de ácidos graxos polinsaturados e sua detecção é a base do método utilizado no presente trabalho para o desenvolvimento de rancidez na silagem de tilápia do Nilo através do teste do ácido 2-tiobarbitúrico (SINNHUBER & YU, 1958).

3. Pesquisas com o uso da silagem de peixe na alimentação animal

3.1. Uso da Silagem de Peixe na alimentação Formulação de Suínos nas Fases Crescimento e Terminação

A formulação de rações é de fundamental importância, pois além de fornecerem os nutrientes e calorias indispensáveis aos animais numa taxa de conversão alimentar aceitável, não podem dispor de uma composição inadequada em aminoácidos, o que, sem dúvida, iria interferir negativamente na formulação final das rações destinadas aos animais. No caso específico da silagem de peixe, quando adicionada às rações, alguns autores consideram-na nutricionalmente adequada (GILDBERG et al., 1977; RAA et al., 1976; STROM et al., 1981).

Outro fator a ser observado quando se estuda alimentos alternativos altamente protéicos para animais monogástricos é o conhecimento das exigências de lisina, metionina, cistina e triptofano na alimentação dos suínos (GREEN, 1984; HALL, 1985; VAN WYK et al., 1977; TIBBETS et al., 1981; LUCAS et al., 1970; KOMPIANG et al., 1980; HALE et al., 1967; WAGNER et al., 1963). Os efeitos negativos de altos níveis de silagem na ração sobre o desempenho de suínos em crescimento têm sido demonstrado por vários pesquisadores (TIBBETS et al., 1981). Esse efeito é variável em função da fonte protéica utilizada na ração (GREEN et al., 1988) e do período de fornecimento desta ração, pois, tanto os suínos quanto as aves apresentam certa dificuldade de adaptação a rações com elevado teor de proteína e consequentemente com menor densidade devido à hipertrofia de seu aparelho digestivo e ao aumento da própria capacidade de digestão da proteína (ITOH et al., 1973; CASTER et al., 1962).

De um modo geral, a silagem de peixe pode ser utilizada nas rações de engorda de suínos, proporcionando uma grande ingestão de lisina, assim como de quantidades adequadas de outros aminoácidos essenciais, sendo que a composição em aminoácidos nos diversos tipos de silagem tem se mostrado variar particularmente com o tipo de material utilizado na sua elaboração, ou seja, se com o peixe inteiro ou em partes (ITOH et al., 1973).

Durante a preparação da silagem, os aminoácidos são relativamente estáveis mas, na hidrólise ácida, se observa uma diminuição do triptofano e uma elevada estabilidade da histidina. A tirosina se separa progressivamente da fase aquosa por cristalização e a metionina é estável em meio ácido (JACKSON et al., 1984). Por exemplo, somente 8% de nitrogênio amínico se transforma em amônia, em silagem de vísceras de bacalhau armazenadas por 220 dias a 27°C, o que é muito importante. O triptofano tende a se decompor nas silagens ácidas

mas a metionina e histidina são mais estáveis (BACKHOFF, 1976, RAA & GILDBERG, 1982).

Diversos trabalhos concordam que a lisina é um dos aminoácidos limitantes para suínos em rações a base de milho e farelo de soja (SHARDA et al., 1976; EASTER & BAKER, 1980). Há indicações de que o aumento dos níveis de proteína das rações resulta em maiores exigências de aminoácidos, como demonstram vários trabalhos (McWARD et al., 1959; KLAY, 1964; BAKER et al., 1975), sendo que as exigências de lisina (% na ração) para suínos em crescimento e terminação requerem uma redução de 0,02% para cada 1% de diminuição no nível total da proteína da ração (SHARDA et al., 1976). Alguns trabalhos mostram que o aumento no teor protéico nas rações melhora o desempenho ou resulta em carcaças mais magras (HALE & SOUTHWELL, 1967; LEE et al., 1967; STANHLY & WAHLSTROM, 1973).

Diante disto, o conhecimento das exigências de lisina para os suínos é particularmente importante, por ser este o primeiro aminoácido limitante em rações a base de milho e farelo de soja. No entanto, alguns trabalhos demonstram que uma suplementação excessiva de alguns aminoácidos e em especial a lisina e a metionina tem efeitos negativos sobre o consumo de alimentos e sobre o crescimento do animal (DISNEY et al., 1978; BAKER et al., 1975). Por outro lado, a deficiência de metionina leva a um desequilíbrio em aminoácidos, assim como a uma menor ingestão de alimentos GILDBERG & RAA (1977), sendo que seus efeitos negativos refletem-se na eficiência da conversão alimentar e na qualidade da carcaça.

BAKER et al (1975) observou que o total de lisina disponível na silagem de bacalhau era similar aos encontrados no peixe integral e que, durante o período de 8 dias de armazenagem, os teores de metionina, cistina e lisina aumentaram para em seguida decrescerem com mais de 60 dias de armazenagem. O mesmo autor, estudando a possibilidade de substituição do milho e farelo de soja pela silagem de peixe nas rações de suínos nas fases de crescimento e terminação, verificaram que os animais apresentavam aumento de ganho de peso significativamente maior que o obtido com rações contendo somente milho e farelo de soja, proporcionando um aumento aproximado de 18% no ganho de peso dos animais.

COLE (1978) sugeriu também que os três primeiros aminoácidos mais comumente limitantes em dietas para suínos são, em ordem, a lisina, treonina e metionina + cistina. Em todas as silagens de peixe, nenhum desses aminoácidos foi o primeiro limitante.

Outros autores constataram pequenas mudanças nos níveis de aminoácidos essenciais durante a autólise e armazenagem da silagem de peixe num período de 150 dias a uma temperatura de 18 a 22°C, e que, suplementações de aminoácidos em rações para suínos como forma de redução de parte do componente protéico têm merecido especial atenção de vários pesquisadores (SHARDA et al., 1976; GATLIN III, 1987; GILDBERG & RAA, 1979), com a constatação de que o ganho de peso e o índice de conversão alimentar dos animais eram maiores quando se empregava silagem de peixe como fonte protéica, comparado com outras fontes como farinha de peixe.

GREEN (1984), realizando trabalho com suínos com o propósito de determinar o nível de silagem de peixe mais adequado para rações contendo 13% de proteína bruta para a fase de terminação de suínos, verificou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, suplementação com 5 e 10% de silagem de peixe, para o ganho de peso médio e nível de uréia no soro sanguíneo dos animais. Porém, para a conversão alimentar foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, indicando uma melhora nutricional quando os animais eram tratados com rações com adição de 5% de silagem na base protéica. O mesmo autor constatou que a suplementação de silagem de peixe com níveis acima de 10% nas rações a base de milho e farelo de soja contendo 14% de proteína bruta, utilizadas em

leitões, não ofereceram melhoria nos resultados de desempenho dos animais no que concerne ao ganho de peso e conversão alimentar.

LUCAS & MILES (1970), trabalhando com suínos de 20 a 55 kg de peso vivo utilizando rações a base de milho e farelo de soja com 16% de proteína bruta suplementada com silagem de peixe, verificaram que o ganho de peso dos animais decresceu linearmente ($p < 0,05$), com o aumento dos níveis de silagem de peixe na ração entre 10 e 12%. Os mesmos autores relatam que, do ponto de vista nutricional, em trabalho com 72 suínos com peso inicial de 56 kg, alimentados com ração suplementada com cinco níveis diferentes de silagens de pescado, verificaram que os melhores resultados de ganho de peso e de conversão alimentar ocorreram nos níveis entre 5 e 8% de silagem de peixe na ração.

BATTERHAM *et al.*, (1980), com o propósito de determinar as exigências da silagem de peixe em leitões de 8 a 12 kg de peso vivo, utilizaram ração a base de milho, farelo de soja, com seis níveis de silagem, 0, 3, 6, 9, 12 e 15% em substituição ao milho e ao farelo de soja e verificaram que o ganho de peso diário e a conversão alimentar melhoraram linearmente ($P < 0,01$) com o aumento do nível de silagem na ração, tendo observado uma exigência estimada de 6% para ganho de peso diário e conversão alimentar respectivamente, através, do modelo descontínuo (LRP), não tendo se verificado efeito ($p > 0,05$) nos níveis de silagem sobre o consumo de ração.

COELHO *et al.*, (1986), estudando o efeito da suplementação de lisina em rações de suínos de 10 a 20 kg de peso vivo, verificaram que não houve diferença significativa ($P > 0,05$), para ganho de peso e consumo de ração entre os tratamentos, mas quanto à conversão alimentar, esta melhorou com a adição de lisina e os resultados obtidos indicaram que é possível a redução de duas unidades percentuais de proteína nas rações de suínos com 18% de proteína bruta, com a suplementação de lisina.

Alguns trabalhos citam que o triptofano decompõe-se na silagem ácida (KOMPIANG *et al.*, 1980; BACKHOFF, 1976), sendo que a metionina e a histidina também podem se decompor pois são instáveis durante a armazenagem (DISNEY *et al.*, 1978). Outros autores determinaram a composição em aminoácidos na silagem de peixe inteiro e na silagem de vísceras de bacalhau armazenadas por 220 dias à temperatura de 27°C e concluíram que somente 8% dos aminoácidos nitrogenados eram eliminados como amônia na silagem de vísceras de bacalhau, implicando em uma insignificante redução do valor nutricional (GILDBERG & RAA, 1977),

Tabelas desenvolvidas em condições de clima temperado como a do (AGRICULTURE RESEARCH COUNCIL, 1981) recomendam que a exigência de lisina para suínos na fase de crescimento pesando de 15 a 50 kg de peso é de 1,10%, enquanto que o (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1988) recomenda para suínos em fase de 20 a 50 kg de peso vivo uma exigência de lisina de 0,75% em relação à dieta total.

O conhecimento das exigências nutricionais e maiores informações da pesquisa sobre a utilização de alimentos alternativos, como substitutos do milho e farelo de soja, sem dúvida poder contribuir para a redução dos custos de produção das rações que representam o maior dispêndio na exploração de suínos (GREEN, 1984).

3.2. Uso da Silagem de peixe na alimentação alevinos de pescado

3.2.1. Valores de pH da silagem durante a armazenagem.

Em estudo conduzido com silagens de peixe, ESPE *et al.*, (1989) verificaram que, o processo de liquefação pode acontecer com o ácido fórmico dentro de uma variação de pH entre 4,0 a 4,5, devido às propriedades anti-sépticas deste ácido, em relação aos ácidos

inorgânicos com pH igual a 2,0. O ácido fórmico tem como vantagem de que a preservação é conseguida num pH mais alto e o alimento não necessita de neutralização, liquefazendo-se mais rapidamente, de modo que os lipídios separem-se mais facilmente das proteínas (HARDY *et al.*, 1983).

BACKHOFF (1976) relata que a silagem convencional é acidificada a um pH de 3,9 - 4,2, liquefazendo-se em três dias, à temperatura de 27 à 30°C, separando-se da camada lipídica, haja vista que, nestas condições, não haverá crescimento de certos microrganismos que podem conduzir à putrefação da silagem conservando a sua qualidade inicial por muitos meses.

Diversos autores, GILDBERG & RAA (1977); BACHOFF (1976), analisando o pH de diferentes silagens de pescado encontraram resultados semelhantes, na faixa de 3,8 a 4,2 enquanto BERAQUET & GALACHO (1983) obtiveram na faixa de 3,2 a 3,9 para sardinha (*Sardinella brasiliensis*) inteira.

Outros autores mostraram que a liquefação completa das silagens de peixe é favorecida por valores ácidos de pH 3,8 a 4,0 e temperatura acima de 27°C, sendo que as transformações mais óbvias que ocorrem durante a armazenagem da silagem de peixe são a autólise dos tecidos e liberação de amônia (DISNEY *et al.*, 1979).

TATTEERSON & WINNDSOR (1974) fazem referências à produção de ácido lático, que é importante na diminuição do pH, que fica em torno de 4,2 diminuindo o crescimento de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Schromobacter*, *Pseudomonas*, etc.

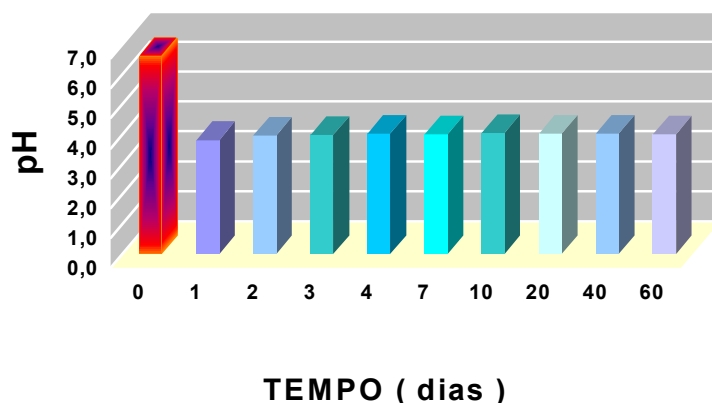


Figura 1 Valores de pH da silagem de resíduos do filetagem de tilápia

3.2.2. Alterações na fração protéica

3.2.2.1. Conteúdo de nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total na silagem de pescado

A extensão da autólise (% de NNP) de diferentes partes do pescado está relacionada com o material utilizado, com o peixe inteiro ou em partes, pois, durante o processo de acidificação da silagem as proteínas são degradadas a peptídes de baixo peso molecular e aminoácidos livres pela ação de enzimas naturalmente presentes no pescado. Consequentemente, a fração solúvel, isto é, não, precipitada pelo ácido tricloroacético a 10% (p/v), aumenta, e a relação entre esse nitrogênio não-protéico e o nitrogênio total serve como índice do grau de solubilização da silagem.

Entretanto, podemos observar, que os valores da variação do nitrogênio não-protéico, sofrem um aumento no conteúdo de nitrogênio em relação ao nitrogênio total, durante 30 dias de armazenagem à temperatura de 25°C, sendo rápida nos primeiros dias, atingindo níveis entre 55 a 60 %, para em seguida tornar-se mais lenta. A partir desta data os valores de nitrogênio não-protéico exprimem valores constantes sem muito acréscimo dos valores iniciais, representada pela equação do tipo $y = a.x/b + x$, que representa uma hipérbole.

Resultados obtidos por BERAQUET & GALACHO (1983) trabalhando com três tipos de silagens de pescado, concluíram que, a solubilização foi mais rápida para a silagem de resíduos de pescada (*Cynosion steindachner*) e, que após uma semana apresentava cerca de 35% do nitrogênio total solubilizado, enquanto para as silagens de resíduos de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) os valores correspondentes foram de 25 a 32%. Para outros autores, a atividade autolítica na silagem é determinada principalmente pela atividade das enzimas digestivas no peixe inteiro, a qual por sua vez é afetada pela acidez e temperatura (BACKHOFF, 1976; GREEN, 1984).

Segundo STONE & HARDY (1986), durante o processo de silagem, as proteínas são hidrolisadas pelas enzimas e o nitrogênio se torna mais solúvel. A proteólise na pele e vísceras é maior durante as primeiras 24 horas. O teor de solúvel aumenta de 10 a 20% nos primeiros dias de armazenagem a, por exemplo, 23°C . Após 10 dias, o aumento é de 75% e após 1 mês, de 85%. Após 3 dias de silagem 50% do total de nitrogênio está sob a forma não protéica e o teor de aminoácidos livres aumenta rapidamente durante os cinco primeiros dias (BACKHOFF, 1976).

GREEN (1984) relata que o nitrogênio não-protéico não é indicado como avaliador do índice de frescor, mas tem importância para avaliação do processo de armazenagem da silagem de pescado. O mesmo autor observa que, sua determinação resulta num índice para julgar as condições de conservação do produto, assim como o tempo de armazenagem.

HALL *et al.*, (1985) mostraram mudanças no NNP solúvel durante o processo de silagem, demonstrando o padrão típico da liberação do nitrogênio a qual é rápida nos primeiros dias para em seguida se tornar mais lenta.

TATTERSON & WINDSOR (1974) mediram o NNP em silagens de peixe inteiro savelha (*Brevotia tyrannus*) a 28-30°C, e encontraram uma elevação (do nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total) de 14% a 39% depois de 7 dias, 46% depois de 14 dias e de 51% depois de 38 dias. Os mesmos autores mediram o NNP em silagens inteiras de vários peixes de água fria a 23 ° C e os resultados foram os mesmos para todas as espécies, porém para arenques jovens (*Spratus sprattus*) foram característicos, havendo uma elevação de (nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total) de 15 a 68% após 7 dias, e acima de 89% após 14 dias.

3.2.2.2. Conteúdo de nitrogênio alfa-amínico na silagem de tilápia do Nilo.

Para o nitrogênio alfa-amínico observa-se um aumento gradual com o tempo de armazenagem da silagem sendo acelerada no início do processo, tornando-se praticamente estável dos 60 aos 90 dias, voltando a crescer após os 90 dias de forma menos acentuada.

Os valores acentuados do teor de nitrogênio alfa-amínico, durante as primeiras semanas de armazenagem a 25°C é simultânea à elevação no conteúdo de nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total discutido previamente no item anterior, em que, na formação dos produtos de degradação protéica, ocorrendo também a formação de pequenas quantidades de pirimidinas e peptídios iniciando-se a hidrólise dificultando a capacidade de armazenagem do material como também a liberação de aminoácidos de reação alcalina pelo processo autolítico.

No entanto, considerara-se os produtos secundários próprios da hidrólise protéico, mono e dimetilamina, necessários para desenvolver as características desejáveis da silagem (MENDES & LAJOLO, 1975).

Em estudo conduzido com as silagens de vísceras do bacalhau (*Gadus morrhua*) RAA & GILDBERG (1976) relataram que a concentração de nitrogênio alfa-amínico aumenta durante a armazenagem, sendo bastante nítido no início do processo para em seguida tornar-se mais lento. O mesmo autor observou valores entre 1,62 a 4,45 g/100 g de nitrogênio alfa-amínico em silagens de vísceras de bacalhau (*Gadus morhua*) armazenada à temperatura ambiente durante 160 dias.

3.2.2.3. Aminoácidos na silagem de tilápia do Nilo.

Nas Tabelas 5 e 6 estão apresentados os resultados da determinação da composição aminoacídica da silagem nova, antiga, farelo de soja, caseína e milho, assim como os valores do escore químico para obtenção da qualidade de tais fontes protéicas, obtidos em relação ao padrão teórico de referência da National Academy of Sciences (1980).

Porém, o estudo dos conteúdos de aminoácidos da silagem de tilápia das amostras estudadas foram determinados utilizando-se cromatografia de troca iônica (TI). Entretanto, para efeito de comprovação e comparação entre os resultados, a silagem também foi analisada por método de cromatografia gasosa (CG). Com o correlacionamento direto entre os resultados obtidos por cromatografia de troca iônica e os obtidos por cromatografia gasosa, tem-se boa correlação entre as amostras analisadas. Isto indica que, apesar das pequenas diferenças no geral, os dois métodos apresentaram resultados semelhantes.

Segundo (SGARBIERI (1987), o (EQ) indicará em relação a proteína de referência ou padrão, a ordem dos aminoácidos limitantes na proteína em estudo, sendo o valor encontrado para o aminoácido mais limitante uma estimativa do valor biológico ou nutritivo da proteína em estudo. A proteína padrão foi definida pela National Research Council - NCR (1980) como tendo as seguintes concentrações para os AAes (g/100gN) (Tabelas 13 e 14).

Em termos de aminoácidos essenciais, considerando o triptofano que foi determinado segundo SPIES (1967), os seguintes valores médios (g /16g N), em ordem crescente, foram encontrados na silagem nova (entre parenteses, o EQ) (Tabela 13): triptofano, 1,06 (0,96); histidina, 2,20 (1,29); metionina, 3,05; treonina, 4,35 (1,24); fenilalanina, 4,36; valina, 5,25; isoleucina, 5,64 (1,34); arginina, 8,35; leucina, 9,27 (1,32) e lisina 9,9 (1,44). O total de aminoácidos sulfurados (Met + Cys) e aromáticos (Phe e Tyr) foram, respectivamente, de 4,27/16g N (EQ 1,64), e 7,56/16g N contra 3,82 /16g N (EQ 1,61) e 6,92 /16g N encontrados por (GREEN, 1984).

Na silagem antiga (entre parênteses, o EQ) (Tabela 13): triptofano, 0,60 (0,54); histidina, 2,10 (1,23); metionina, 2,70; isoleucina, 3,80 (0,90); treonina, 3,90 (1,11); fenilalanina, 4,10; valina, 5,12 (1,06); leucina, 6,00 (0,85), lisina 6,80 (1,23) e arginina, 7,10. O total de aminoácidos sulfurados (Met + Cys) e aromáticos (Phe + Tyr) foram, respectivamente, 3,90/16g N (EQ 1,50) e 7,70/16g N contra 3,72/16g N (EQ 1,43) e 6,74/16g N encontrados por GREEN, 1984).

Pela composição dos aminoácidos, com exceção do triptofano com (escore químico EQ 0,96) a silagem nova revelou-se como boa fonte de aminoácidos essenciais (AAEs). Constatou-se também pelo escore químico (EQ) (Tabela 4), que os aminoácidos, triptofano (EQ 0,54), leucina (EQ 0,85), ácido aspártico (EQ 0,89) e isoleucina (EQ 0,90) foram limitantes na silagem antiga, sendo equivalentes ao trabalho de (GREEN, 1984), quando o autor obteve para os mesmos aminoácidos escores químicos semelhantes.

COLE (1978), sugeriu também que os três primeiros aminoácidos mais comumente limitantes em dietas para suínos são pela ordem lisina, treonina e metionina + cistina. Entretanto, alguns autores demonstraram que a suplementação de rações para suínos com lisina, metionina e triptofano, predispõe a um aumento significativo do ganho de peso, assim como na eficiência da conversão alimentar. Esta maior eficiência foi observada nas primeiras etapas de desenvolvimento dos suínos (12 - 35 kg de peso vivo) nas fases de (crescimento e terminação) observando-se aumento significativo no ganho de peso, ingestão de dieta e quociente de eficiência alimentar (BATTERHAM & GORMAN, 1980), fato observado nos ensaios biológicos no presente trabalho com ratos (Tabela 18).

EASTER & BAKER (1980). verificaram que as silagens de pescado após a autólise ácida, tem suas proteínas solubilizadas, conseqüentemente possuindo maiores teores de aminoácidos disponíveis apresentando, sobre as farinhas de pescado, a vantagem de não sofrerem processamento pelo calor, provocando alterações nos aminoácidos disponíveis. Segundo o mesmo autor, em diversos experimentos ficou demonstrado que, nas farinhas de arenque os aminoácidos metionina, lisina e triptifano são afetados pelo aquecimento, diminuindo significativamente o valor nutricional, além de concorrerem para a variação da sua composição, podendo afetar também a disponibilidade de seus nutrientes.

Ainda com relação aos resultados apresentados nas Tabelas 13 e 14 observa-se que, comparando-se as silagens de tilápia (nova e antiga) com o farelo de soja, esta última apresenta quantidades baixas em relação a cada aminoácido particularmente em relação aos sulfurados como metionina e cistina, havendo também, níveis muito baixos de ácido aspártico e glutâmico no farelo de soja em comparação com as silagens.

Entretanto, a composição dos aminoácidos nas silagens nova e antiga apresentam também muita semelhança com as farinhas de peixe (Anexo 5), quando são feitos da mesma matéria-prima, porém, deve ser lembrado que esses produtos não são produzidos a partir de uma mesma matéria-prima, o que demonstra que as silagens proporcionam uma resposta ótima em termos de taxa de crescimento e eficiência alimenta (GREEN, 1984). Muito embora, o preço da farinha de pescado no mercado mundial esteja atualmente fixado no seu conteúdo bruto em proteínas, este por si só, não reflete o real valor da farinha. O valor nutritivo real das proteínas está na capacidade de fornecerem os aminoácidos essenciais aos animais alimentados nas quantidades necessárias para suas necessidades metabólicas.

Alguns trabalhos no entanto, demonstram que uma suplementação excessiva de lisina, metionina e triptofano tem efeitos negativos sobre o consumo de alimento e sobre o crescimento. Por outro lado, a deficiência de lisina metionina e triptofano leva a um desequilíbrio de aminoácidos, assim como a uma menor ingestão de alimentos. Os efeitos negativos refletem-se sobre o ganho médio diário de peso, eficiência de conversão alimentar e na qualidade da carcaça (HALL, 1985; JURGENS et al., 1967).

BACKHOFF (1976) relata que após armazenagem por 40 dias à 30°C, cerca de 30% do triptofano era perdido na silagem de bacalhau e arenque preservados com ácido fórmico a pH ligeiramente abaixo de 4,0, que comumente se encontra, dada sua instabilidade sob condições ácidas. O mesmo ocorreu com o trabalho atual, que mostrou decréscimo nos valores de triptofano da silagem nova 30 dias em relação a silagem antiga com 90 dias de armazenagem.

Dessa forma, a magnitude da decomposição dos aminoácidos, é maior na silagem armazenada durante 90 dias em relação aos 30 dias os quais apresentam uma quantidade menor de produtos decompostos particularmente dos aminoácidos essenciais leucina, isoleucina, lisina e triptofano não afetando significativamente o ganho de peso dos animais em relação as silagens armazenadas por longos períodos de tempo.

Tabela 5. Conteúdo de aminoácidos (g /16 g N) e escore químico das fontes protéicas utilizadas para a elaboração das dietas, cuja determinação foi feita por troca iônica.

Aminoácido	Silagem nova	Silagem antiga	Farelo de soja	Caseína	Milho	Padrão I
Isoleucina	5,64	3,80	1,81	5,4	2,5	4,2
Leucina	9,27	6,00	3,69	10,2	10,3	7,0
Lisina	9,90	6,80	2,65	7,8	2,2	5,1
Metionina	3,05	2,70	0,64	2,8	1,9	-
½ Cistina	1,22	0,98	-	0,2	-	-
Sulfurados totais	4,27	3,90	0,64	3,0	1,9	2,6
Tirosina	3,20	3,12	-	6,1	-	-
Fenilalanina	4,36	4,10	2,11	5,6	3,6	-
Aromáticos totais	7,56	7,22	2,11	11,7	3,6	7,3
Treonina	4,35	3,90	1,80	4,9	2,9	3,5
Valina	5,25	5,12	2,05	6,9	3,9	4,8
Serina	3,80	3,60	2,42	6,8	3,7	-
Alanina	8,10	4,23	2,12	3,2	6,3	-
Triptofano	1,06	0,60	-	-	-	1,1
Histidina	2,20	2,10	-	2,9	-	1,7
Arginina	8,35	7,10	3,17	4,1	3,2	-
Ac. Glutâmico	18,27	12,30	8,82	27,4	17,2	-
Ac. Aspártico	12,30	7,00	5,13	8,6	5,4	7,8
Glicina	8,12	6,05	1,98	1,9	3,0	-
Prolina	4,25	3,90	2,33	10,0	7,2	-
Escore Químico	96,30	54,5	24,6	10,25	43,1	-

I. Padrão teórico (National Academy of Sciences, 1980).

Obs: O Conteúdo de triptofano foi determinado pelo método de SPIES (1967).

Tabela 6. Conteúdo de aminoácidos (g /16g N) e escore químico das fontes protéicas utilizadas para a elaboração das dietas, cuja determinação foi feita por cromatografia gasosa.

Aminoácido	Silagem nova	Silagem antiga	Farelo de soja	Caseína	Milho	Padrão 1
Isoleucina	5,28	3,35	1,80	5,2	2,4	4,2
Leucina	8,97	5,85	3,65	10,2	10,1	7,0
Lisina	10,98	6,80	2,63	7,6	2,1	5,1
Metionina	2,82	3,04	0,62	2,6	1,8	-
½ Cistina	1,20	0,98	-	0,2	-	-
Sulfurados totais	4,02	4,02	0,63	2,8	1,9	2,6
Tirosina	3,15	3,00	-	6,1	-	-
Fenilalanina	4,36	4,10	2,10	5,4	3,5	-
Aromáticos totais	7,51	7,10	2,10	11,5	3,4	7,3
Treonina	4,05	3,85	1,80	4,6	2,8	3,5
Valina	5,20	5,07	2,03	6,7	3,7	4,8
Serina	3,78	2,12	2,40	6,7	3,6	-
Alanina	8,10	4,23	2,11	3,1	6,1	-
Triptofano	1,00	0,30	-	-	-	1,1
Histidina	2,10	2,03	-	2,7	-	1,7
Arginina	7,95	7,05	3,15	4,0	3,1	-
Ac. Glutâmico	17,95	11,97	8,80	27,3	17,2	-
Ac. Aspártico	10,10	6,80	5,10	8,4	5,2	7,8
Glicina	8,10	6,01	1,97	1,7	3,0	-
Prolina	4,05	3,85	2,29	10,0	7,1	-
Escore Químico	90,9	27,2	24,2	107,69	43,1	

1. Padrão teórico (National Academy of Sciences, 1980)

Obs:O conteúdo de triptofano foi determinado pelo método de SPIES (1967).

3.2.2.4. Bases voláteis totais na silagem de tilápia do Nilo.

Na primeira fase até os 30 dias, observa-se uma inclinação suave da curva, demonstrando progressão lenta do processo representado por sigmóide de função $y = (a - d) / (1 + (x - c)^b) + d$, aumentando gradativamente de acordo com o tempo de armazenagem.

No caso específico, a partir do 80º dia, o valor das bases voláteis, embora tenha aumentado, ainda se manteve dentro dos limites normais, se comparado com os 145mgN/100 g assinalados como limite máximo para silagem de pescado (RAA & GILDBERG, 1982), já que a putrefação estava inibida pelo teor de ácido do meio, sabendo-se no entanto que o nitrogênio volátil é um dos compostos resultantes da decomposição protéica.

É importante salientar que, para certos tipos de silagens de peixe serem considerados de boa qualidade, eles devem apresentar teores de N-BVT inferior a 120mg/100g de silagem (BACKHOFF, 1976). Por sua vez JOHSEN & SKREDE (1981), sugerem como padrão tentativo, que a silagem de vísceras deva apresentar teores máximos de N-BVT na faixa de até 150mg/100g de silagem. O mesmo ocorreu com trabalhos apresentados por RAA & GILDBERG (1976), que encontraram valores de cerca de 130mg/100 g de N-BVT na silagem de resíduos durante 110 dias de armazenagem, enquanto TATTERSON & WINDSOR (1974)

informam que silagem de cabeça e vísceras apresentaram teores de N-BVT acima de 110 mg /100 g de silagem.

Outros autores julgam os altos valores de N-BVT observado no processo de silagem critérios negativos do estado sanitário, já que a putrefação estava inibida pelo teor de ácido adicionado ao meio. Por outro lado, com base nas considerações anteriores, os teores de N-BVT encontrados no presente estudo evidenciaram que a silagem não permitiu avanço de deterioração significativa, não sendo portanto considerados como critério negativos do estado sanitário da silagem. Contudo, a maior produção de N-BVT pelo processo de silagem também pode ser indicativa de maior degradação de aminoácidos e proteínas BACKHOFF (1976), advindo prejuízos no valor nutricional do produto (JOHNSEN & SKREDE, 1981).

3.2.3. Viscosidade na silagem de tilápia do Nilo.

Normalmente, em toda silagem, permanece uma fração de resíduos que não se liquefaz, isto é, o teor de nitrogênio protéico não se transforma em nitrogênio solúvel; mas esse fenômeno não explica o pequeno grau de solubilização do nitrogênio (BERAQUET & GALACHO, 1983), pois a silagem de tilápia de Nilo apresentou-se completamente liquefeita após uma semana do seu preparo. Além disso, a viscosidade diminui com o aumento da temperatura e pH (HAARD *et al.*, 1985), degradação enzimática (GILDBERG & RAA, 1977) e temperatura do meio circulante (REECE, 1980).

BACKHOFF (1976) relata que a concentração de nitrogênio não-protéico aumenta durante o armazenamento da silagem, o que foi correlacionado com o produto que ficava mais fluido, melhorando a solubilidade do produto no momento da homogeneização. Essa intensa redução na viscosidade foi simultânea à elevação nos valores de TBARS, como será discutido posteriormente, indicando que a presença de lipídios oxidados pode ter contribuído para a redução da solubilidade. Isto pode ter sido causado principalmente nas proteínas insolúveis ou ainda em função do próprio processo de adição de ácido, o qual rompe completamente as fibras musculares, levando a uma insolubilização inicial das proteínas miofibrilares (RAA & GILDBERG, 1982).

Resultados obtidos por GIURCA *et al.*, (1992) indicam mais uma vez que essa liquefação acentuada na viscosidade durante o processo de autólise, é uma indicação de maior atividade enzimica no processo autolítico, o que se explica devido a uma maior quantidade de vísceras na matéria-prima para fabricação de silagem, sendo a viscosidade do fluido expressa pelo coeficiente de viscosidade, n , cuja unidade é o Poiseulle (P) e corresponde a viscosidade de um fluido que escorre a velocidades de 1 cm/s quando sujeito a uma força de 1 dina / cm² ou 1 m/s para uma força de 1 Newton/ m² (KRAMER & TWIGG, 1970).

RAA & GILDBERG (1976) observaram que nesse período de decréscimo acentuado de medição da viscosidade, há uma relação entre o pH e o nitrogênio não-protéico, sendo que a medida que diminui o pH, é favorecida a atividade proteolítica de certas enzimas, particularmente, as que atuam sobre as proteínas do tecido muscular do pescado, produzindo a autólise, o que conduz ao aumento do conteúdo de amônia, aminas, aminoácidos e peptídios.

Os resultados de viscosidade, utilizando-se diferentes “cilindros”, (1,5), (3), (6), (12), (30) e (60) rpm (rotação por minuto), são, respectivamente, para 1 e 30 dias de autólise: 10,800 e 55 centipoise, 8.200 e 45 centipoise, 6.080 e 42 centipoise, 5.500 e 31 centipoise, 4.500 e 18 centipoise, 3.200 e 10 centipoise, o que demonstra que durante o período de armazenamento da silagem a viscosidade aparente no processo de autólise caiu gradativamente a medida que se realizava a autólise, sendo mais intensa nos primeiros dias onde a viscosidade era reduzida de 10.000 cP a 100 cP ou menos até o 30° dia de armazenamento, onde se notou uma pequena estabilidade por volta dos últimos 3 dias.

Entretanto, entre as diferentes viscosidades observadas, a (1,5 rpm) é a que resulta em maiores valores de viscosidade, indicando que foram diferentes significativamente ($p < 0,05$) e superiores às demais. HALL (1985) observou também que, quando a silagem de peixe se constituía de um líquido homogêneo, de fluxo livre, a viscosidade era reduzida de 500 cP a cada dois dias de armazenamento, à temperatura acima de 25°C.

3.2.4. Contagem de mesófilos na silagem de tilápia do Nilo.

Durante as contagens totais de mesófilos na matéria-prima e na silagem, constata-se que a população bacteriana total de mesófilos na matéria-prima, antes do processamento, e expressa em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g), varia de $1,7 \times 10^7$ UFC/g onde se observa que a contagem microbiana encontrava-se acima dos padrões estabelecidos pela COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (CNNPA, 1978).

Na etapa seguinte, na silagem logo após o processamento com adição de ácido, os valores decresceram com contagens inferiores a 10^3 UFC/g, havendo decréscimo significativo entre as amostras, indicando boas condições gerais do produto armazenado por longo período de tempo, suficiente para garantir boa estabilidade do produto final durante 160 dias.

Vale salientar que a silagem se mantém preservada, durante e o período de armazenagem com uma diminuição no crescimento de microrganismos o que sem dúvida deve-se principalmente a boa qualidade do método empregado sendo de primordial importância, principalmente na alimentação animal, fato observado por outros autores como LINDGREN & PLEJE (1983); JAMES *et al.*, (1977); LOPEZ (1990) os quais demonstram que, a adição de 3% (p/p) de ácido fórmico a 98%, as vísceras de bacalhau (*Gadus morruha*) produz uma silagem completamente estável, com um pequeno número inicial de microrganismos, impedindo a putrefação bacteriana.

STRROM & EGGUM (1981), preconizam o abaixamento do pH até 2,0 quando se utilizam somente ácidos minerais, pois em um pH acima desse valor poderá ocorrer crescimento de microrganismos, particularmente bolores.

Da mesma forma KOMPIANG *et al.*, (1980) observaram que, durante o armazenamento da silagem de pescado, só há presença de bactérias ácido-láticas, indicando que os microrganismos patogênicos tais como: coliformes, *staphylococcus aureus* e *salmonella ssp.* encontram-se restringidos pelo baixo pH do produto, as condições de anaerobiose nas quais este produto foi armazenado.

3.2.5. Alterações no óleo.

Durante a armazenagem da silagem de pescado, o óleo presente sofre transformações, a princípio, reage com o oxigênio presente tornando-se rançoso, nas reações que envolvem esse processo, produtos tóxicos e que reagem com proteínas são formados, diminuindo o valor nutricional do produto. Lipases agem sobre os acilgliceróis, hidrolisando-os e dão origem aos ácidos graxos livres. Além do potencial dano nutricional resultante de reações dos ácidos graxos livres com a proteína presentes, também se supõe que eles agem como sinergistas nas reações que causam a rancidez oxidante.

Observa-se também, que o teor de ácidos graxos livres não varia durante o transcorrer dos experimentos na armazenagem à temperatura ambiente, estabilizando-se até os dias finais do experimento, demonstrando que, a pequena variação que ocorreu nos ácidos graxos durante os 180 dias, com média de $26,41 \pm 1,19$, não mostrou diferença significativa entre as amostras ($p > 0,05$) em relação aos valores iniciais, que ficou ao redor de $24,8 \pm 0,89$.

Essa pequena diferença não significativa da porcentagem dos ácidos graxos no início do processo, demonstra a estabilidade da ação das lipases lisossômicas e das lipases de origem microbiana, que foram muito baixas nas condições do processo de armazenagem da silagem, fato observado por outros autores (GJEFSSEN & LYSO, 1979; BAYLEY *et al.*, 1952) que informam que altos índices de ácidos graxos livres são impróprios para o crescimento animal.

BERAQUET & GALACHO (1983), trabalhando com resíduos de pescada e sardinha obtiveram, após 30 dias de armazenagem, teores de ácidos graxos livres da silagem de sardinha que praticamente dobraram para 48,5% e, a partir daí, mantiveram-se razoavelmente estáveis até os 90 dias de armazenagem, período de duração do experimento. Segundo o mesmo autor, para a pescada também houve um pequeno aumento no teor de AGL até o trigésimo dia de armazenagem, a partir do qual a degradação de lipídios também se estabilizou. Isto provavelmente se deve ao pH e ao método de extração utilizado no estudo, já que REECE (1980) verificou que a recuperação do óleo em um meio ácido como a silagem resulta em valores altos de AGL, devido a dissociação e extração de sais de ácidos graxos solúveis em água e também devido a ação de lipases que atuam em pH em torno de 4,0. O mesmo autor sugere o aquecimento da silagem, no início do processo, a 45-50°C durante alguns minutos, reduzindo a atividade lipolítica das enzimas presentes, e conseqüentemente, a formação de ácidos graxos livres.

3.2.6. Composição em ácidos graxos do óleo extraído da silagem de pescado armazenado à temperatura ambiente.

Com relação à composição dos ácidos graxos encontrados na silagem de pescado, armazenada à temperatura ambiente, embora os resultados encontrados sejam compatíveis com outros estudos citados na literatura HALL & LEDWAR (1986), também observou muita semelhança com a silagem de peixes da costa brasileira XIMENES CARNEIRO (1991), devido não só a semelhança nos métodos de coleta e análise da silagem, mas principalmente devido ao teor de gordura encontrados nesses peixes

A composição lipídica da silagem e de grande importância e desempenha importantes funções metabólicas nos organismos monogástricos, como por exemplo: fornecem a maior parte das calorias necessárias ao crescimento e desenvolvimento dos animais, veiculam vitaminas lipossolúveis GRENN (1988) e fornecem ácidos graxos essenciais (AGE) e polinsaturados (AGPI) (CASTER *et al.*, 1962).

Neste trabalho foram identificados aproximadamente 98% dos ácidos graxos (AG) na silagem, correspondendo a 22 AG diferentes, todos contendo de 10 a 22 carbonos, sendo que 12 desses AG foram encontrados em concentrações inferiores a 1%, entretanto JOHNSEN & SKREDE (1981), utilizando diferente metodologia de análise identificaram 99,5% dos AG da silagem (30 AG), dos quais apenas 8 se apresentaram em concentrações superiores a 1% do total de ácidos graxos da silagem analisada.

Observamos principalmente que, os ácidos graxos 16:0, 16:1, 16:2, 17:0, 18:1, 18:2, 18:3 (n - 3) e 20:5 (n - 3), que juntos, somam 85,19% dos ácidos graxos na silagem de tilápia do Nilo, são responsáveis por grande parte das alterações provocadas pelos os ácidos graxos nos alimentos, produzindo efeitos indesejáveis como rancidez, descoloração e perda direta de nutrientes, podendo provocar lesões na parede intestinal dos animais, diminuindo o ganho de peso e a conversão alimentar, além disso, a ingestão de hidroperóxidos produtos iniciais da oxidação lipídica, são pontos importantes envolvidos na oxidação lipídica do ponto de vista nutricional.

Tabela 7. Composição dos ácidos graxos (%) na silagem de tilápia do Nilo.

Ácido graxo	%
10:0	0,13 ± 0,05
12:0	0,07 ± 0,05
13:0	0,14 ± 0,16
14:0	4,44 ± 0,44
14:1	0,34 ± 0,03
14:2	0,84 ± 0,09
15:0	0,87 ± 0,20
16:0	20,70 ± 0,03
16:1	12,91 ± 0,20
16:2	7,97 ± 1,91
17:0	3,27 ± 0,67
18:1	22,14 ± 0,56
18:2 (n -6)	8,45 ± 1,30
18:3 (n - 3)	4,53 ± 0,90
19:0	0,68 ± 0,39
20:0	0,51 ± 0,25
20:1	1,50 ± 0,39
20:2	0,24 ± 0,01
20:3 (n - 3)	0,14 ± 0,14
20:4 (n -6)	1,46 ± 0,49
20:5 (n - 3)	3,69 ± 0,37
22:1	1,53 ± 0,13

(*) Cada valor é a média e o desvio-padrão de amostras.

O ácido oléico (18:1) foi o AG encontrado em maior quantidade na silagem de tilápia do Nilo (Tabela 15), corroborando com os resultados apresentados na literatura (BACKHOFF, 1976; GRENN, 1988), sendo que a maior quantidade deste, seja devido a sua presença nos lipídios de peixe (OLCOTT, 1962).

Na análise dos valores encontrados para a silagem de tilápia do Nilo, em comparação com o perfil de ácidos graxos estudados por HALL & LEDWARD (1966) mostraram que, as quantidades foram semelhantes aproximadamente nos ácidos graxos 14:0 e 20:5; maiores nos ácidos graxos 16:0, 18:0 e 18:1, menores nos ácidos graxos 16:1, 18:1, 18:3, 20:4, 22:5 e 22:6.

JOHNSEN & SKREDE (1981) verificaram que a composição em ácidos graxos do óleo da silagem ácida de peixes elaborada de bacalhau tem as seguintes porcentagens (p/p): 14:0 (3,5%), 16:0 (13,2%), 18:0 (4,1%), 16:1 (9,2%), 18:1 (25,0%), 20:1 (12,3%), 22:1 (5,7%), n - 6 (2,6%) e n - 3 (18,8%). Entretanto, por outro lado, por apresentar ácidos graxos altamente insaturados, mais numerosos do que os lipídios de outros alimentos, a fração lipídica da silagem de pescado e de seus produtos é mais rapidamente oxidada, e as reações são mais complexas do que em outros tipos de alimentos (OLCOTT, 1962).

O óleo da silagem de pescado tem a propriedade bastante útil de fornecer ácidos graxos essenciais para engorda de suínos. Porém a necessidade de certos ácidos graxos em dietas de suínos ainda está sendo debatida. Os AGPI 18:2 w 6 e 18:3 w 3 não são sintetizados pelo organismo animal, sendo fornecidos pela dieta e através do mecanismo de dessaturação e alongação da cadeia carbônica, dando origem aos AGPI de cadeia longa, como o 20:4 w 6 (ácido araquidônico) eicosapentaenoico (20:5 w 3) e docosahexanoico (22: 3 w 6) (CASTERR *et al.*, 1962). Portanto, a alta insaturação destes AGPI pode resultar em reações de oxidação,

cujos produtos interagem com as proteínas da silagem diminuindo seu valor nutricional (DE OLIVEIRA, 1977).

3.2.7. Teor de malonaldeído estimado pela técnica do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) na silagem de pescado

A extensão da oxidação lipídica na silagem deverá ser monitorada através do teste de TBA expresso pelo número de TBARS ou substâncias relativas ao ácido tiobarbitúrico em mg de malonaldeído/kg da amostra. Durante autooxidação de ácidos graxos polinsaturados, malonaldeído é produzido sendo altamente reativo e permanecendo ligado a outros componentes dos alimentos (SHAHIDI & HONG, 1991).

De acordo com SINNHUBER & YU (1958) o método mede a intensidade da cor desenvolvida a 535 nm, quando o material contendo lípidos instaurados oxidados, é colocado em reação com o ácido 2-tiobarbitúrico em meio ácido; a intensidade de cor é uma medida da formação de um pigmento vermelho, composto de 2 moléculas de TBA e 1 de malonaldeído que é um produto de degradação secundária da autooxidação de lipídios. Assume-se que a intensidade da cor é uma medida da concentração do malonaldeído. A concentração de malonaldeído tem sido positivamente correlacionada com a rancidez oxidante (IGENE & PERSON, 1979)

De um modo geral, a oxidação da silagem, medida pelo nível de malonaldeído formado, apresenta um aumento progressivo significativo da produção de malonaldeído durante o curso da armazenagem, atingindo 45 mg em 180 dias. Possivelmente, os compostos que reagem como o ácido tiobarbitúrico que são de estrutura semelhante ao aldeído malônico, são carregados pela silagem, já que são parcialmente solúveis em água.

Resultados obtidos por GREEN (1984), mostram que, o número de TBA entre 20 - 40 mg 100g estaria associado ao limiar de percepção do sabor de ranço referente à silagem, indicando que essa faixa de valores seriam muito baixas. Entretanto, esse aumento no valor de TBA em silagem de peixe tem sido atribuído à reação do malonaldeído com as proteínas musculares (BREMER et al., 1978), sendo que este fato ilustra a dificuldade de se estabelecer valores de TBA claramente associados a distintos estágios de deterioração oxidativa (HALL, 1985).

Em estudo conduzido com silagem de vísceras de bacalhau (*Gadus morhua*), CHEFTEL *et al.*, (1986), verificaram as possíveis reações entre malonaldeído e amino grupos livres de proteínas, as quais levaram à formação de ligações covalentes irreversíveis resultando em intensa perda de solubilidade, fato observado também por KOMPIANG *et al.*, (1980).

3.2.8. Valores do índice de peróxido na silagem de pescado durante a armazenagem

Os valores do índice de peróxidos na silagem durante o processo de armazenagem decresceram linearmente e significativamente durante todo o período de armazenagem havendo decréscimo de 25,22 meq O₂/kg do período o inicial até 5,40 meq O₂/ kg de óleo aos 180 dias.

Essa intensa inclinação acentuada da reta, portanto representa forma típica de decomposição dos peróxidos, que têm um valor máximo e logo decrescem, com o aumento das TBARS. Em produtos marinhos, valores de peróxidos de 25 a 30 meq O₂ /kg da gordura são considerados aceitáveis (LOVERN, 1962).

Assim, o índice de peróxido que mede a quantidade de oxidantes contidos numa determinada substância, assumindo que todos eles são peróxidos, apresentou um decréscimo

nos valores a partir do 15^o dia até atingir uma decomposição regular e constante, tendendo a uma estabilidade no fim do processo, fato observado também por LEA (1962), que faz algumas citações a respeito do assunto relatando diminuição elevada desde o início não sendo observado odor de ranço no produto. Segundo LOGANI & DAVIS (1980), as reações entre maiores níveis de peróxidos e proteínas causam a perda da atividade enzimática, polimerização, quebra da cadeia polipeptídica, formação acelerada de pigmentos marrons e destruição de resíduos de aminoácidos lábeis, o que não parece ser o caso do presente trabalho.

Resultados obtidos por GREEN, (1984), confirmam que os valores de peróxidos diminuem quadraticamente com o tempo de armazenagem de 16,3 meq O₂/kg de óleo no 1^o dia a um nível relativamente estável de aproximadamente 5,3 meq O₂/kg de óleo do 40^o dias a 111^o dia de armazenagem. Entretanto, uma concentração máxima de peróxidos foi registrada no 1^o dia de armazenagem que, em seguida, diminuiu, provavelmente como resultado da decomposição dos peróxidos em produtos secundários, fato observado em silagens de pescado inteiro por LUNDBERG & JARVI (1968) e LABUZA (1971). O desenvolvimento de sabores incomuns na gordura é atribuído a estes produtos secundários de oxidação especialmente carbonílos (LABUZA, 1971)

4. CONCLUSÕES

Da interpretação dos resultados analíticos e de diversos ensaios biológicos sobre a elaboração e as propriedades nutritivas da silagem de pescado, podemos chegar às seguintes conclusões:

1. A utilização da silagem, é viável, adaptando-se bem à formulação 3% (p/p) de ácido fórmico até a completa liquefação da mistura, mostrando o produto composição centesimal, quase idêntica à matéria prima.
2. O método de obtenção da silagem, é bastante simples e versátil, constituindo-se numa fonte de aminoácidos livres de alta qualidade dificilmente obtida por outros processos tecnológicos, constatado pelo escore químico (EQ) a exceção do triptofano (EQ 0,96), sendo adequado para alimentação animal durante 30 dias após a formulação;
3. No nitrogênio não-protéico e nitrogênio alfa-amínico, observa-se um aumento gradual com o tempo de armazenagem da silagem de tilápia do Nilo, sendo acelerado no início e tornando-se estável após 30 dias, indicando que a autólise se reduz consideravelmente após este período de tempo.
4. A magnitude da decomposição dos aminoácidos, é maior na silagem armazenada durante 90 dias do que naquela com 30 dias, particularmente dos aminoácidos essenciais leucina, isoleucina, lisina e triptofano, refletindo efeitos negativos sobre o ganho de peso médio diário, dos ratos quociente de eficiência alimentar e quociente de eficiência protéica líquida (NPR).
5. Em relação às bases voláteis totais, observa-se que a partir dos 90 dias, haverá aumento significativo da produção de BVT sendo portanto um indicativo de maior degradação de aminoácidos e proteínas por enzimas microbianas, permitindo o avanço da deterioração significativa do produto afetando os parâmetros de qualidade da silagem. Embora o valor das BVT tenha aumentado, ainda se manteve dentro dos limites normais se comparado com os 140 mg N / 100 g assinalados como limite máximo para silagem de peixe;
6. A viscosidade durante o processo de armazenagem diminuiu significativamente à medida que se realizava a autólise, sendo a redução mais intensa nos primeiros dias e ocorrendo até o 30^o dia de armazenamento, sendo que, à medida em que a viscosidade era reduzida, aumentava-se a solubilidade do produto tornando-o completamente liquefeito, favorecendo assim a facilidade de mistura da silagem com outros ingredientes sólidos dietéticos ;

7. Durante o armazenamento da silagem haverá diminuição do nível de bactérias mesófilas, ocorrendo uma redução significativa da contagem de microrganismos durante o armazenamento à temperatura ambiente, sendo que este efeito foi mais acentuado a partir da segunda semana, situando-se a contagem abaixo de 10^3 UFC / g, suficientes para garantir boa estabilidade do produto, por um período de 160 dias;

8. A rancidez oxidativa da fase gordurosa da silagem apresenta-se baixa durante a moagem e adição de ácido, com valores de TBA na faixa de 10,29 mg/100 g nas primeiras 24 horas. Porém, haverá um aumento substancial dos valores de TBA até 45,22 mg/100 g durante o período de armazenamento à temperatura ambiente devido à prolongada exposição do produto ao oxigênio do ar e à temperaturas de armazenamento, condições estas apropriadas para este tipo de reação oxidativa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (A.R.C.). **The nutrient requirements of pigs**. Farnham Royal, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981. p. 307-310.
- ALLEN, C.E.; FOEGEDING, E.A. Some lipids characteristics and interactions in muscle foods: a review. **Food Technol.** v. 35, n.5, p. 253-7, 1981.
- AMAYA-FARFAN, J. **Química de proteínas aplicada a ciência e tecnologia dos alimentos**. Campinas, Ed. UNICAMP, 1980. 99p.
- BACKHOFF, H.P. Some chemical changes in fish silage. **J. Food Technol.**, v. 11, p. 353-63, 1976.
- BAYLEY, B.E.; CARTER, N.M.; SWAIN, L.A. Marine oils with special reference to those of Canada. **J. Fish. Res. Bd. Can.** v. 89, p. 1-10, 1952.
- BAKER, D.H.; KATZ, R.S.; EASTER, R.A. Lysinere queriment of growing pigs at two dietary protein. **J. Anim. Sci.** v. 40, n. 5, p. 851-6, 1975
- BALOGUN, A.M.; OYEYEMI, I.E. Cost analysis of a small scale fish silage production from cannery wastes in Nigeria. **J. West Afr. Fish.**, v. 2, p. 66-77, 1986.
- BATISTA, I. Fish silage: preparation and uses. In: BRUNO, A. ed. Nutrition in marine aquaculture. Tunis, **FAO/UNDP/MEDRAP**, 1987. p. 227-248.
- BATTERHAM, E.S.; GORMAN, T.B.S. Fish silage for growing pigs. In: FARRELL, D.J. ed. **Recents advanced in animal nutrition**. Armidale, University of New England, 1980, p. 111-5.
- BERAQUET, N.J.; GALACHO, S.A.A. Composição, estabilidade e alterações na fração protéica e no óleo de ensilados de resíduos de peixe e de camarão. **Col. ITAL.** v. 13, p. 149-74, 1983.
- BERTULO, E. Ensilado de pescado en la pesqueria artesanal. In: **FAO. Consulta de expertos sobre tecnologia de produtos pesqueros en America Latina**. 2. Montevideo. Roma, FAO. 49p. 1989.
- CASTER, W.O.; AHN, P.; HILL, E.G.; MOHRHAUER, H.; HOLMS, R.T. Determination of linoleate requirement of swine by a new method of estimating nutritional requirement. **J. Nutr.** v. 78, p. 147-52, 1962.
- CHANEY, S.G. Principles of nutrition. II: Micronutrients. In: DELVIN, T. ed, **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. New York, Hobart, 1986. p. 964-78.
- CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. Aminoacids peptides and proteins. In: FENNEMA, O.R. ed. Food Chemistry, 2.ed., New York, Mancel Dekker, 1986. 245p.
- CNNPA - COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Padrões Microbiológicos. Resol. no. 13/78. Brasília, 1978.

- COELHO, L.S.S.; COSTA, P.M.A.; PEREIRA, J.A.A.; ROSTAGNO, H.S.; BARBOSA, H.P. Exigências de lisina para suínos de 15 a 30kg de peso vivo em rações de baixo nível protéico. **Rev. da Socie. Brasil. de Zootec**, v. **16**, n. 1, p. 60-71, 1986.
- COLE, D.J.A. Amino acid nutrition of the pig. In: HARESIGN, W. LEWIS, D. ed. **Recent advances in animal nutrition**. London, Butterworths, 1978. p. 59-62.
- CONNELL, J.L.; HOWGATE, P.F. The amino acid composition of some British food fishes. **J. Sci. Food Agric**. v. **10**, p. 241-248, 1959.
- DE ANGELIS, R.C. **Fisiologia da nutrição**. 2. ed. São Paulo, EDART, 1979. 209p.
- DISNEY, J. G; HOFFMAN, A. Development of a fish silage/ carbohydrate animal feed for use in the tropics. **Tropical Sci**. v. **20**, n. 2, p. 129-35, 1978.
- DISNEY, J.G.; JAMES, D. Fish silage production and its use. Rome, FAO, 1980. 105p. (FAO Fish Rep. No. 230).
- DISNEY, J.G.; TATTERSON, I.N.; OLLEY, J.; CLUCAS, I.J.; BARRANCO, A.; FRANCIS, B.J. Development of a fish silage/carbohydrate animal feed for use in the tropics. **Tropical Sci**. v. **20**, n. 2, p. 129-44, 1979.
- DUPONT, A. Amino acid content of Indonesian fresh water fish. **Biochem. Z.** v. **330**, p. 174-6, 1958.
- EASTER, R.A.; BAKER, D.H. Lysine and protein levels in corn soybean meal diets for growing - finishing swine. **J. Anim. Sci**. v. **50**, n. 3, p. 467-71, 1980.
- EINSET, E.; OLCOTT, H.; STANSBY, M.E. Oxidation deterioration in fish and fishery products. IV. Progress in studies concerning oxidation of extracted oils. **Comm. Fish. Rev.** v. **19**, n. 5a. p. 35-42, '957.
- ESPE, M.; RAA, J.; NJAA, L.R. Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. **J. Sci. Food Agric**. v. **49**, n. 2. p. 259-70, 1989.
- FAGBENRO, O.A.; JAUNCEY, K. Chemical and nutritional quality of dried fermented fish silages and their nutritive value for tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Animal Feed Sci. Technol.** v. **45**, p. 167-76, 1994
- FAMMATRE, C.A.; MAHAN, D.C.; FETER, A.W.; GRIFO, A.P.; JUDY, J.K. Effects of dietary protein, calcium and phosphorus levels for growing and finishing swine. **J. Anim. Sci**. v. **44**, n. 1. p. 65-71, 1977.
- FAO **Relatório de tecnologia e controle de qualidade de produtos de pesca**. Praia, Rep. de Cabo Verde, 27/11 a 11/12 de 1984. Roma 24 p.1989.
- FOEGEDING, E.A. Functional properties of turkey salt-soluble proteins. **J. Food Sc.** v. **52**, n. 6. p 1495-9, 1987.
- FRANKEL, E.N. Recent advances in the chemistry of rancidity of fats. In: OLCOTT, H. (ed). **Recent advances in the chemistry of meat**. London, Royal Society Chemistry, 1983. Cap. 6, p. 86-118.
- FREEMAN, H.C.; HOOGLAND, P.L. Processing of cod and haddock viscera. I. Laboratory experiments. **J. Fish. Res. Bd. Can.** v. **13**, n. 6. p. 869-877, 1956.
- FUNNS, J.A.; WEISS, V.; KARELL, M. Effects of reaction conditions and reactant concentrations on polymerization of lysozyme reacted with peroxidizing lipids. **J. Agric. Food Chem.** v. **30**, n. 10, p. 1204-8, 1982.
- GARDNER, H.W. Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and aminoacids: a review. **J. Agric. Food. Chem.** v. **27**, n. 2, p. 220-9, 1979.
- GATLIN III, D.M. Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the goldfish, golden shiner and fathead minnow. **Aquaculture**, v. **60**, n. 2, p. 223-9, 1987.
- GILDBERG, A.; RAA, J. Properties of propionic acid/formic acid preserved silage of cod viscera. **J. Sci. Food Agric**. v. **28**, n. 3, p. 647-53, 1977.

- GILDBERG, A.; RAA, J. Solubility and enzymatic solubilization of muscle and skin of capelin (*Mallotus villosus*) at different pH and temperature. **Comp. Biochem. Physiol.** v. **63B**, p. 309-11, 1979.
- GIURCA, R.; LEVIN, R.E. Optimization of the acetic acid fermentation of hydrolyzed cod gurry with molasses. **J. Food Biochem.** v. **16**, p. 83-97, 1992.
- GJEFSEN, T.; LYSO, A. Hydrogenated marine fat with high content of free fatty acids in feed mixtures for growing-finishing pigs. **Acta. Agric. Scand.** v. **29**, p. 65-73, 1979.
- GRAY, J.I. Measurement of lipid oxidation. A review. **J. Am. Oil. Chem. Soc.** v. **55**, n. 7 p. 539-46, 1978.
- GRAY, J.I. & PEARSON, A.M. Rancidity and warmed-over-flavor In: PEARSON, A.M. & DUTSON, T.R. ed. New York, AVI, **Advances in meat research: restructured meat and poultry products.** 1987. v.3.
- GREEN, S. **The use of fish silage in pig nutrition.** Nottingham, 1984. 230p. Thesis (Ph.D.) University of Nottingham.
- GREEN, S.; WISEMAN, J.; COLE, D.J.A. Examination of stability, and its effect on nutritive value, of fish silage in diets for growing pigs. **Animal Feed Sci. Technol.** v. **21**, n. 1, p. 43-56, 1988.
- GURGEL, J.J.S.; FREITAS, J.V.F. Sobre a composição de doze espécies de peixe de valor comercial de açudes do Nordeste brasileiro. **Bol. Tecn. DNOCS.** v. **30**, n. 2, p. 49-57, 1972.
- 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. **J. Sci. Food Agric.** v. **36**, p. 229-41, 1985.
- HALE, O.M.; SOUTHWELL, B.L. Differences in swine performance and carcass characteristics because of dietary protein level, sex and breed. **J. Anim. Sci.** v. **26**, p. 341-6, 1967.
- HALL, G.M. **Silage from tropical fish.** Nottingham, 1985. 278p. Thesis (Ph.D.) - University of Nottingham.
- HALL, G.M.; LEDWARD, D.A. Silage from tropical fish 3. Lipid behaviour. **J. Food Technol.** v. **21**, p. 45-54, 1986.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metals ions in human diseases: an overview. **Methods Enzymol.** v. **186**, n. 1 p. 1-85, 1990.
- HARDY, R.W.; SHEARER, K. D.; SPINELLI, J. The nutritional properties of co-dried fish silage in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) dry diets. **Aquaculture.** v. **38**, p. 35-44, 1984.
- HARPER, H.A. **Manual de química fisiológica.** 4. ed. São Paulo, Atheneu, 1977. 400p.
- HARRIGAN, W.F.; McCANCE, M.E. Determination of the number of viable organism in a sample. A. Colony count methods I. Pour plate method. In: JAMES, D.G. (ed). **Laboratory methods in food and dairy microbiology.** London Academic Press, 1976. p.25-54.
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Prac.** v. **22**, p. 475-6, 1973.
- HENRIK, K. N.; LOLIGER, J.; HURRELL, R.R. Reactions of proteins with oxidizing lipids. **Brist. J. Nutrit.** v. **53**, p. 61-73, 1985.
- HURLEY, L.S.; COSENS, G.; THERIAULT, L.L. Teratogenic effect of magnesium deficiency in rats. **J. Nutrit.** v. **106**, p. 1254-60, 1976.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF) **Microrganisms in foods: their significance and methods of enumeration.** 2. ed. Toronto, University of Toronto Press, 1978. v. 1.
- IGENE, J.O.; PEARSON, A.M. Role of phospholipids and triglycerids in warmed-over-flavor development in meat model system. **J. Food Sci.** v. **44**, n. 12 p. 1285-8, 1979.

- IRRMAN, M.A.K. Determination of aminoacids by gaschromatography. **J. Chromatography**. v. **97**, p. 175-9, 1974.
- ITOH, H.; KISHI, T.; CHIBATA, I. Comparative effects of casein and amino acid mixture simulating casein on growth and food intake in rats. **J. Nutr.** v. **103**, p 1709-15, 1973.
- JACKSON, A.J.; KERR, A.K.; COWEY, C.B. Fish silage as a dietary ingredient for salmon. I. Nutritional and storage characteristics. **Aquaculture**. v. **38**, p. 211-20, 1984.
- JAMES, M.A.; IYER, K.M.; NAIR, M.R. Comparative study of fish ensilage prepared by microbial fermentation and formic acid silage. In: JAMES, D.G. ed. **Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish**. London. Tropical Products Institute. 1977. p. 273-75, 1977.
- JARENBACK, L.; LILJEMARK, A. Ultrastructural changes during frozen storage of cod. III. Effects of linoleic acid and linoleic acid hydroperoxides on myofibrillar proteins. **J. Food Technol.** v. **10**, n. 3, p. 437-41, 1975.
- JAYAWARDENA, K.M.; GUNERAIN, Q.; VILLADSEN, A.; POULTER, R.G. Studies on the preparation of fish silage. III. Dried silage products. **Bull. Fish. Res. Stn. Sri Lanka**. v. **30**, p. 33-6, 1980.
- JOHNSEN, F. **Fish viscera silage as a feed for ruminants**. Norway, 1981. Thesis(Ph.D). Agriculture University of Norway,
- JOHNSEN, F.; SKREDE, A. Evaluation of fish viscera silage as a feed resource. **Acta. Agric. Scand.** v. **31**, p. 21-8, 1981
- JONES, N.R. The free amino acid of fish. II. Fresh skeletal muscle from lemon sole (*Pleuronectes microcephalus*). **J. Sci. Food Agric.** v. **10**, p. 282-8, 1959.
- JUNK, W.J. Temporary fat storage, an adaptation of some fish species to the water level fluctuations and related environmental changes of the Amazon river. **Amazoniana**. v. **9**, p. 315-51, 1985.
- JURGENS, M.H.; HUDMAN, D.B.; ADAMS, C.H.; PEO, Jr., E.R. Influence of a dietary supplement of lysine fed at two levels of protein on growth, feed efficiency and carcass characteristics of swine. **J. Anim. Sci.** v. **26**, n. 2 p. 323-7, 1967.
- KANNER, J.; KAREL, M. Changes in lysozyme due to reactions with peroxidizing methyl linoleate in a dehydrated model system. **J. Agric. Food Chem.** v. **24**, n. 3, p. 468-72, 1976.
- KAREL, M. **Symposium: proteins interactions in biosystems protein-lipid**. **J. Food Sc.** v. **38**, n. 5, p. 756-63, 1973.
- KHALIL, M.E.; MOUSTAFA, E.K.; OSMAN, H.O.A. Composition of boliti (*Tilapia nilotica*) muscle proteins. **Food Chem.** v. **5**, p. 175-84, 1980.
- KLAY, R.F. Lysine and nitrogen utilization by pigs at four protein levels. **J. Anim. Sci.**, **23**(3):881-4, 1964.
- KOMPIANG, I.P.; ARIFUDIN, R.; RAA, J. Nutritional value of ensilaged by-catch fish from Indonesianskrimp trawlers. In: CONNELL, J.J. ed. **Advances in fish Science and technology** Farnham, Fishing News Books, 1981. p. 52-9.
- KOMPIANG, I.P.; YUSHADI, S.; CRESSWELL, D.C. Microbial fish silage: chemical composition, fermentation characteristics and nutritional value. In: DISNEY, J.G.; JAMES, D. ed. **Fish silage production and its use**. Rome, FAO, 1980. p. 38-43 (FAO Fish Rep. 230)
- KRAMER, A.; TWIGG, B.A. **Quality control for the the food industry: fundamentals**. Westport, AVI, 1970, p. 556-8.
- LABUZA, T.P. Kinetics of lipid oxidation in foods. **Crit. Rev. Food Technol.** v. **2**, p. 355-8, 1971.
- LAJOLO, F. M.; ZUCAS, S.M.; DOMINGUES, J.B. Estudo bromatológico de concentrados protéicos obtidos a partir da *Sardinella aurita* e da *Tilapia melanopleura* I. Ensaio das proteínas. **Arch. Latinoam. Nutrit.** v. **25**, p. 67-78, 1975.

LANTZ, A.W. Special products from freshwater fish. **Bull. Fish. Res. Bd. Can.** v. **151**, p. 45-8, 1966.

LEA, C.H. In: Lipids and their oxidation. SCHULTZ, H.W. DAY, E.A.; SINNHUBER, R.O. ed. Westport, AVI, 1962. p. 5-12.

LEE, C.J.; McBEE Jr., J.L.; HORVATH, D.L. Dietary protein level and swine carcass traits. **J. Anim. Sci.** v. **26**, n. 3, p. 490-4, 1962.

LESSI, E.; XIMENES CARNEIRO, A.R.; LUPIN, H.M. Obtención de ensilado biológico de pescado. In: HARDY, D.E. ed. Consulta de expertos sobre tecnología de productos pesqueros en América Latina, 2. Montevideo. Roma, FAO, 1989. 8pp.

LEVIN, R.E.; WITKOWSKI, R.; MEIRONG, Y. Preparation of fish silage with phosphoric acid and potassium sorbate. **J. Food Biochem.** v. **12**, n. 4, p. 253-9, 1989.

LINDGREN, S.; PLEJE, M. Silage fermentation on fish waste products with lactic acid bacteria. **J. Sci. Food Agric.** v. **34**, p. 1057-67, 1983.

LIU, T.Y.; CHANG, Y.H. Hydrolysis of proteins with p-toluenesulfonic acid. Determination of tryptophan. **J. Biol. Chem.** v. **246**, p. 2842-8, 1971.

LOGANI, M.K.; DAVIS, S. Lipid oxidation: biological effects and antioxidants: a review. **Lipids.** v. **15**, n. 6, p. 485-95, 1980.

LOPEZ, C.S. Microbial ensilage of trash fish for animal feeds. In: REILLY, P.J.A.; PARRY, R.W.H.; BARILE, L.E. ed. **Post-harvest technology. preservation and quality of fish in South-east Asia.** Stockholm, IFS. 1990. p. 189-92.

LUNDBERG, W.O.; JARVI, P. Peroxidation of polyunsaturated fatty compounds. In: HOMAN, R.T. ed. **Progress in the chemistry of fats and other lipids.** Oxford; Pergamon Press, 1968. v. 9, pt.3, p. 35-52.

LUCAS, I.A.M.; MILES, K.L. Comparison of protein concentrations in diets given unchanged to pigs from 18 to 93 kg live weight. **Animal Product.** v. **12**, p. 403-12, 1970.

LUSCOMBE, J. Feeding fish silage. **Pig Farm. Suppl.** p. 61-72, Dec. 1973.

MACKIE, I.M.; HADY, R.; HOBBS, G. **Fermented fish products.** Rome, FAO, 1971. 54p. (FAO. Fish Rep., 100).

MAI, J.; SHETTY, J.K.; KAN, T.M.; KINSELLA, J.E. Protein and amino acid composition of select freshwater fish. **J. Agric. Food Chem.** v. **28**, p. 884-5, 1980.

MAIA, E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; AMAYA-FARFAN, J. Proximate, fatty acid and amino acid composition of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. **Food Chem.** v. **12**, p. 275-86, 1983.

MANDELLI, M.Q. A preservação ácida no aproveitamento econômico do pescado e dos resíduos de sua industrialização. **Equipescas J.** v. **44**, p. 47-52, 1972.

MARCH, B.E.; BIELY, J.; TARR, H.L.A. Nutrient composition and evaluation of British Columbia whole herring meal. **J. Fish. Res. Bd. Can.** v. **20**, p. 229-33, 1963

McALESSSE, D.; FORBES, R.M. The requirement and tissue distribution of magnesium in the rat as influenced by environmental temperature and dietary calcium. **The J. Nutrit.** v. **73**, p. 94-106, 1961.

McBRIDEM, J.R.; IDLER, D.R.; MACLEOD, R.A. The liquefaction of British Columbia Herring by ensilage, proteolytic enzymes and acid hydrolysis. **Fish. Res. Bd. Can.** v. **18**, n. 1, p. 94-7, 1961.

McWARD, G.W.; BECKER, D.E.; NORTON, H.W.; TERRIL, S.W.; JENSEN, A.H. The lysine requirement of weanling swine at two levels of dietary protein. **J. Anim. Sci.** v. **18**, n. 3, p. 1059-66, 1959.

MEDINA, S.; BLANCO, M.; NIND, A.; LARRU, F.; LOBILLO, E. Determinación espectrofotométrica de hierro, manganeso, cobre, molibdeno, cobalto y fósforo total en la

hueva de la merluza (*Merluccius merluccius* L.) **Anales bromatol.** v. **8**, n. 2, p. 313-5, 1956.

MENDES, M.H.M.; LAJOLO, F.M. Evolução das bases voláteis totais e de trimetilamina em pescados e seu uso como indicador de qualidade. **Rev. Farm. Bioquim.** Universidade de São Paulo. v. **13**, n. 2, p. 303-22, 1975

MEINKE, W.M.; MATTIL, K.F. Autolysis as a factor in the production of protein isolates from whole fish. **J. Food Sci.** v. **38**, p. 864-7, 1973.

MICHNER, H.D.; ELLIOT, R. P. Minimum growth temperature for food-poisoning, fecal-indicator, and psychrophilic microorganism. **Advan. Food. Res.** v. **13**, p. 349-96, 1964.

MORGA, A.A. **Avaliação do índice de frescor da pescada foguete (*Macrodon ancylodon*) conservada em gelo.** Campinas, Universidade Estadual de Campinas. 1975. 80p. Tese (Mestrado) Faculdade de Tecnologia de Alimentos.

MOTTRAM, D. Lipid oxidation and flavor in meat and meat products. **Food Sc. Technol. Today** v.1, n. 3, p. 159-62, 1987.

NARAYAN, K.A.; KUMMEROW, F.A. Factors influencing the formation of complexes between oxidized lipids and proteins. **J. Am. Oil Chem. Soc.** v. **40**, n. 8, p. 339-42, 1963.

NEILANDS, J.B.; SIRNY, R.J.; SOHLJELL, I.; STROM, F.M.; ELVEHJEM, C.A. The nutritive value of canned foods, II. Amino acid content of fish and meat products. **J. Nutr.** v. **39**, p. 187-94, 1949.

NIELSEN, H. Reaction between peroxidized phospholipid and protein. I. Covalent binding of peroxidized cardiolipin albumin. **Lipids.** v. **13**, n. 4, p. 253-8, 1978.

O BRIEN, P.J. The effects of hydrogen peroxid or lipid peroxid on cytochrome C. **Biochemical J.** v. **101**, n. 2, p. 12-28, 1966.

OETTERER DE ANDRADE, M. **Produção de silagem a partir da biomassa de pescado:** levantamento bibliográfico sobre os diferentes tipos de silagem que podem ser obtidos com pescado; silagem química, enzimática e microbiana. Piracicaba, Depto. Ciênc. Tecnol. Agroind. da ESALQ/USP, 1992.25p.

OETTERER DE ANDRADE, M. **O processo de fermentação do pescado (Anchovamento):** Curso de especialização em Tecnologia de Produtos Pesqueiros, Fortaleza - UFC / LABOMAR / Depto.Eng de Pesca, 1991. 35p.

OETTERER DE ANDRADE, M. Pescado fermentado. In: AQUARONE, E.; LIMA DE ALMEIDA, U.; BORZANI, W. coord. **Alimentos e bebidas por fermentação.** São Paulo. Edgard Blucher, 1983. p. 177-202 (Biotecnologia, v.5).

OLCOTT, H.S. Marine products. In: SCHULTZ, H.W.ed. Symposium of foods: lipids and their oxidation. Westport,AVI 1962.p. 354-59.

OLLEY, J.; FORD, J.E.; WILLAMS, A.P. Nutritional value of fish visceral meals. **J. Sci. Food Agric.** v. **19**, p. 282-5, 1968.

OPSTVEDT, J. Influence of residual lipids on nutritive value of fish meal. V. Digestion and deposition of marine fatty acids in chickens. **Acta. Agric. Scand.** v. **23**, p. 17-23, 1973.

PEARSON, A.M.; GRAY, J.I.; ARLENE, M.; HORENSTEIN, N.A. Safety implication of oxidized lipids in muscle foods. **Food Technol.** v. **37**, n. 7, p. 121-5, 1983.

PETERSEN, H. Acid preserved of fish and fish offal. **FAO Fish. Bull.** v. **6**, n. 1, p. 18-22, 1953.

POTTER, N.N. Fish viscera silage. **Food Sci.** 2 ed. New York, AVI. 1973. 706p.

POULTER, R.G.; JAYAWARDENA, K.M.; GANEGODA, P.; RANAWEERA, K.N.P. Studies on fish silage in Sri Lanka - A summary. In: GILDBERG, A. ed. **Fish silage production and its use.** Sri Lanka, Editora, 1980 (FAO Fisheries Report, n.230). p. 64-6.

- RAA, J.; GILDBERG, A. Autolysis and proteolytic activity of cod viscera. **J. Food Technol.** v. **11**, p. 619-28, 1976.
- RAA, J.; GILDBERG, A. Fish Silage; a review. **CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** v. **16**, n. 4, p. 383-419, 1982.
- SATHE, S.K.; DESHPANDER, S.S.; SALUNKHE, D.K. Dry beans of Phaseolus. Part2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.** v. **21**, p. 41-93, 1984.
- SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição.** fator de saúde e desenvolvimento. p. 19 e 243. Ed. UNICAMP/ALMED, Campinas, São Paulo, 1987.
- SHAHIDI, F.; HONG, C. Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. **J. Food Biochem.** v. **21**, n. 2, p. 145-9, 1991.
- SHARDA, D.P.; MAHAN, D.C.; WILSON, R.F. Limiting amino acid in low protein corn soybean meal diets for growing-finishing swine. **J. Anim. Sci.** v. **42**, n. 5, p. 1175-81, 1976.
- SIEBERT, G. Enzymes of marine fish muscle and their role in fish spoilage. In: HEEN, E.; KREUZER, R. ed. **Fish in nutrition.** London, Fishing News Books, 1961. p 80-7.
- SINNHUBER, R.O.; YU, T.C. 2-Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. II. The quantitative determination of malonaldehyde. **Food Technol.** v. **12**, p. 9-12, 1958.
- SIMPSON, R.J.; NEUBERGER, M.R.; LIU, T.Y. Complete amino acid analysis of proteins from a single hydrolysate. **J. Biol. Chem.** v. **251**, p. 1936-40, 1976.
- SMITH, K.J. Soybean meal: production, composition and utilization. **Feedstuffs Jan.** 17th, 22, 1977.
- SPIES, J. R. Determination of triptophan in proteins. **Anali. Chem.** v. **39**, p. 1412-6, 1967.
- STONE, F.E.; HARDY, R.W. Nutritional value of acid stabilised silage and liquified fish protein. **J. Sci. Food Agric.** v. **37**, p. 797-802, 1986.
- STROM, T.; EGGUM, B.O. Nutritional value of fish viscera silage. **J. Sci. Food Agric.** v. **32**, p. 115-7, 1981.
- TATTERSON, I.N.; WINDSOR, M.L. Fish Silage. **J. Sci. Food Agric.** v. **25**, p. 369-79, 1974.
- THATCHER, F.S.; CLARK, D.S. **Microrganisms in foods.** London, Academic Press, 1965. v. 3, chap. 3.
- TIBBETS, G.W.; SEERLEY, R.W.; McCAMPBELL, H.C.; VEZEY, S.A. An evaluation of an ensiled waste fish product in swine diets. **J. Animal Sc.** v. **52**, p. 93-100, 1981.
- VAN WYK, G.N.; FRANCK, F.; POTGIETER, B.J.; WESSELS, J.P.H.; ATKINSON, A. Utilization of fish silage. A study of its intake by porkers. **Agroanimalia.** v. **9**, p. 13, 1977.
- VAN WYK, H.J.; HEYDENEYCH, C.M.S. The production of naturally fermented fish silage using various lactobacilli and different carbohydrate sources. **J. Sci. Food Agric.** v. **36**, p. 1093-1103, 1985.
- XIMENES CARNEIRO, A.R.X. Elaboração e uso de ensilado biológico de pescado na alimentação de alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Manaus, 1991. 81 p. Tese (Mestrado) - INPA. FUA
- WAGNER, G.R.; CLARK, A.J.; HAYS, V.W.; SPEER, V.C. Effect of protein energy relationship on the performance and carcass quality of growing swine. **J. Anim. Sci.** v. **22**, n. 1, p. 202-8, 1963.
- WEE, K.L. KERDCHUEN, N.; EDWARDS, P. Use of waste grown tilapia silage as feed for *Clarias batrachus* L. **J. Aquacult. Trop.** v. **1**, p. 127-37, 1986.
- WIGNALL, J.; TATTERSON, I.N. Fish silage. Process. **Biochem.** v. **11**, p. 17-22, 1976.

ANEXO 1.

Espécies em açudes administrados pelo DNOCS, por tonelada. Diretoria de pesca e Piscicultura DIPIS/D - Divisão de Desenvolvimento da Pesca Produção de Pescados.

Espécie/Ano	1989	1990	1991	Total
Apaiari	405.690	418.369	346.605	.170.664
Carpa	6.256	9.325	1.367	16.948
Curimatã pacu	2.114	5.562	2.003	9.679
Pescada Cacunda	103.769	54.448	70.223	228.440
Pescada do Piauí	2.284.269	2.199.226	1.498.071	5.981.566
Piau verdadeiro	8.497	2.493	2.551	13.541
Tambaquí	1.391	1.835	6.510	9.736
Tilápia do Congo	336.806	326.555	362.367	1.025.728
Tilápia do Nilo	4.378.376	3.519.486	3.168.827	11.066.689
Tucunaré comum	1.225.662	1.366.097	1.344.310	3.936.069
Tucunaré Pinima	512.112	826.605	513.374	1.862.091
Camarão	1.211.341	1.129.496	881.749	3.222.586

Fonte: GURGEL & FREITAS (1972).

ANEXO 2.

Composição química aproximada em 12 espécies de peixes de água doce, de valor comercial, dos açudes do Nordeste brasileiro.

Espécie	Matéria seca %	Proteína %	Gordura %	Cinzas %
Apaiari	22 – 27,8	16 - 22,3	0,6 - 8,7	1,3 - 6,0
Pescada do Piauí	18 – 26,1	15 - 20,2	0,2 - 6,2	1,1 - 2,6
Curimatã Comum	23 - 40,4	16 - 21,4	4,1 - 26,1	1,1 - 3,6
Piau Comum	23 - 32,0	16 - 18,9	6,5 - 11,6	1,4 - 3,0
Piau verdadeiro	22 - 42,2	17 - 21,8	2,1 - 20,0	1,4 - 3,0
Til pia	20 - 29,8	18 - 21,0	0,9 - 7,10	1,2 - 2,9
Traíra	20 - 33,9	18 - 24,0	0,9 - 4,8	1,3 - 2,8
Tucunar, comum	21 - 27,7	18 - 27,9	0,2 - 2,2	1,7 - 3,6
Cangatí	21 - 34,4	12 - 18,9	5,3 - 20,4	1,3 - 5,0
Mandi	38 - 45,7	13 - 18,0	21,9 - 26,4	1,1 - 2,7
Sardinha	19 - 27,9	16 - 19,1	1,6 - 7,6	1,4 - 2,4
Branquinha	20 - 36,4	15 - 17,8	6,5 - 25,0	1,2 - 2,1

Fonte: GURGEL & FREITAS (1972)

ANEXO 3.

Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de tilápia, *Oreochromis (Oreochromis) niloticus (Linnaeus)*, proveniente de Pirassununga, São Paulo¹.

Aminoácido	Abril	maio	junho	Média ± dp
Acido aspártico	10,0	11,3	12,0	11,1 ±1,0
Treonina	4,8	5,0	1,8	3,9 + 1,8
Serina	4,3	4,2	0,6	3,0 + 2,1
Acido glutâmico	19,6	17,2	20,4	19,1 + 1,7
Prolina	2,5	3,8	4,0	3,4 + 0,8
Glicina	5,1	4,9	5,1	5,0 + 0,1
Alanina	6,8	6,8	7,6	7,1 + 0,5
1/2 Cistina	0,6	0,8	0,0	0,5 + 0,4
Valina	6,0	6,2	6,7	6,3 + 0,4
Metionina	1,5	1,6	0,7	1,3 + 0,5
Isoleucina	5,9	5,2	6,2	5,8 + 0,5
Leucina	9,8	9,5	10,0	9,8 + 0,2
Tirosina	3,5	3,8	4,2	3,8 + 0,3
Fenilalanina	5,2	5,0	5,4	5,2 + 0,2
Histidina	3,5	2,8	2,9	3,1 + 0,4
Lisina	8,4	11,6	10,7	10,2 + 1,6
Argenina	7,8	7,0	6,9	7,2 + 0,5
Amônia	1,6	1,8	3,3	2,2 + 0,9

Fonte: MAI *et al* (1980)

1 - Os valores mensais foram obtidos de uma determinação no músculo desengordurado, de lotes compostos por 6 peixes no mês de abril e 10 peixes nos meses de maio e junho.

dp - desvio padrão.

ANEXO 4.

Determinação da contagem total de placas de bactérias mesófilas na silagem de pescado.

Nesta determinação, 1.0ml da diluição adequada do material a ser examinado, em duplicata, é inoculado, assepticamente, em profundidade em placas de Petri esterilizadas e a seguir vertidos, 15ml de Ágar M, todos Padrões, fundido e resfriado a 45°C.

Por meio de movimentos rotatórios das placas procede-se a homogeneização. As mesmas são mantidas em temperatura ambiente.

Após a solidificação do ágar, as placas são incubadas a 23°C por 5 dias (MOSSEL & QUEVEDO, 1967) para a contagem de mesófilas.

Após a incubação seleciona-se as placas contendo entre 30 a 300 colônias e procede-se, nestas placas, a contagem do número de colônias, o qual será multiplicado pelo inverso da diluição correspondente.

As contagens de bactérias mesófilas, por grama de amostra analisada, serão obtidas através da média aritmética dos resultados em duplicata (ICMSF, 1978).

Os resultados são expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama ou milímetro de amostra (UFC/g).

ANEXO 5.

Composição em aminoácidos de diferentes tipos de silagens de peixe dois tipos de farinhas de pescado e um tipo de farinha de soja.

Aminoácido (gAA/16gN)	Silagem d/resíduos	Silagem arenque	Silagem arenque s/ óleo	Farinha peixe branco	Farinha arenque	Farinha soja
Aspártico	9,9	8,7	7,0	8,5	9,1	12,3
Treonina	4,6	5,1	3,0	3,8	4,3	4,2
Serina	5,5	4,6	3,2	4,8	3,1	5,6
Glutâmico	14,5	13,4	9,8	12,8	10,4	19,9
Prolina	-	-	-	-	-	2,1
Glicina	9,1	7,4	6,4	9,9	6,0	4,5
Alanina	8,1	7,1	5,2	6,3	6,2	4,6
1/2Cistina	0,8	0,6	0,8	0,9	1,0	1,7
Valina	4,8	5,6	3,3	4,5	5,4	4,5
Metionina	2,7	1,9	1,8	2,6	2,9	1,4
Isoleucina	4,2	4,4	2,8	3,7	4,5	4,4
Leucina	6,8	8,6	5,2	6,5	7,5	7,7
Tirosina	3,1	2,5	1,6	2,6	3,1	3,7
Fenilalanina	3,4	5,7	3,5	3,3	3,2	5,2
Triptofano	0,9	1,4	-	-	-	-
Lisina	7,1	9,9	6,2	6,9	7,7	6,7
Histidina	2,7	2,7	1,7	2,0	2,4	2,4
Arginina	7,6	8,6	5,1	6,4	5,9	7,4

Fonte: SHARDA *et al* (1976).