

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FUNCIONAL E
NUTRICIONAL DE ENSILADOS DE RESÍDUOS DE PESCADO DA FAMÍLIA
LUTJANIDAE

ANTONIO DIOGO LUSTOSA NETO

C 342432
Disponível.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

T
664
L99e
1994
ex. 02

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, COMO
REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

UFC/BU BCT 23 Mai 1997



R598330 Elaboração e caracterização química, fun
C342432

FORTALEZA - 1994

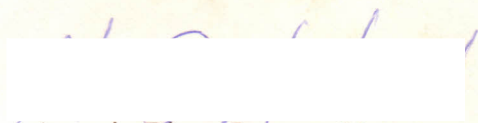
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L99e Lustosa Neto, Antonio Diogo.
 Elaboração e caracterização química, funcional e nutricional de ensilados de resíduos de pescado da família Lutjanidae / Antonio Diogo Lustosa Neto. – 1994.
 76 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 1994.
 Orientação: Prof. Dr. Jorge Fernando Fuentes Zapata.
1. Tecnologia de alimentos. I. Título.


CDD 664


Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos, outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se à disposição dos interessados na biblioteca Central da referida Universidade.


A citação de qualquer trecho desta Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.


Antonio Diogo Lustosa Neto

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26 / 08 / 94


Prof. Jorge Fernando Fuentes Zapata
Orientador


Prof. Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira


Prof. Antonio Martin


Prof.ª Maria de Fátima Freire Fuentes

UFC/BU/BCT 23/05/1997



R598330
C342432
T664

Elaboração e caracterização
química, fun

1.99e

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

A Amália, Guilherme, Gustavo e D.Flori (*in memoriam*) DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Ceará (UFC), especialmente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pelo que me ensinaram.

Ao Professor JORGE FERNANDO FUENTES ZAPATA do DETAL/UFC, por todo o apoio, incentivo, orientação, profissionalismo e, principalmente pela amizade.

Ao Professor GUSTAVO HITZSCHKY FERNANDES VIEIRA do LABOMAR/UFC, pelas importantes sugestões que me foram dadas no decorrer deste trabalho e, principalmente pela amizade que tenho por ele.

Ao Dr. ANTONIO MARTIN do Depto. de Bioquímica da Memorial University of Newfoundland, pelo apoio, incentivo e idéias na parte analítica desta tese.

A Professora MARIA DE FÁTIMA FREIRE FUENTES, pelas sugestões e apoio na elaboração deste trabalho.

Ao Dr. ANTHONY DICKINSON, Diretor Operacional do CCIFTD da Memorial University of Newfoundland no Canadá, por toda a atenção, amizade, companheirismo e solidariedade, quando de minha estada no Canadá para realizar a parte analítica desta tese.

Ao Dr. STEPHEN GODDARD, do Marine Institute da Memorial University of Newfoundland, pelo apoio fundamental na realização das análises no Canadá e, especialmente, pela grande amizade que fizemos.

A todos os Professores do DETAL/UFC, especialmente, aos professores, RENATO CASEMIRO, pela atenção e apoio no fornecimento de inóculos de iogurte usados nesta tese e FREDERICO BEZERRA, pela confiança e oportunidade que me deu de lecionar para as turmas de graduação do Curso de Engenharia de Alimentos e, principalmente pela amizade.

Aos companheiros ABRAÃO, FERNANDO, UTE, FRANCY, ICO, MARFISA, ELIANA e ELMA, que compartilharam comigo o dia-a-dia do curso de mestrado.

Ao Engenheiro de Pesca EDUARDO CASTELO BRANCO, pela sua valiosa colaboração, apoio e dedicação, na elaboração desta tese e, especialmente pela amizade que sempre nos uniu

Ao Auxiliar de Laboratório LUIZ BITU do Laboratório de Carnes e Pescado do DETAL/UFC e as estagiárias IRACEMA e MARIA, pela valiosa colaboração a mim dispensada.

Ao TONY e a ANDRÉA BEZERRA, pelo apoio e colaboração no levantamento bibliográfico no Canadá para esta tese, e especialmente pela amizade.

A SÔNIA, GLADSTONE, NÁDIA E NETO, da loja Camocim Peixes, pelo fornecimento da matéria prima utilizada nesta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro para a realização desta tese.

Ao Governo do Estado do Piauí através da Secretaria de Planejamento, pelo suporte financeiro na minha manutenção em Fortaleza.

A Agência Canadense de Desenvolvimento Internacional (CIDA), pelo suporte financeiro para realizar a parte analítica da tese no Canadá.

Finalmente, o autor expressa imensa gratidão a sua família pela ajuda, solidariedade e paciência durante o período do mestrado, e a todas aquelas pessoas que fazem parte do meu mundo.

SUMÁRIO

página

	<u>LISTA DE QUADROS</u>	
	<u>LISTA DE TABELAS</u>	
	<u>LISTA DE FIGURAS</u>	
	RESUMO	
	ABSTRACT	
1	<u>INTRODUÇÃO</u>	01
2	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	05
2.1	<u>O pescado como substrato para obtenção de ensilados</u>	05
2.1.1	Fração Protéica	06
2.1.2	Fração Lipídica	07
2.1.3	Minerais e Vitaminas	07
2.1.4	Alterações <i>Post Mortem</i>	08
2.1.5	Microbiota	08
2.2	<u>Utilização dos resíduos do pescado</u>	10
2.3	<u>Ensilado de pescado</u>	12
2.3.1	Ensilado químico de pescado	14
2.3.2	Ensilado biológico de pescado	19
2.3.3	Propriedades e utilização dos resíduos de pescado	24
3	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	28
3.1	<u>Material</u>	28
3.2	<u>Delineamento do experimento</u>	28
3.3	<u>Elaboração do ensilado biológico de resíduo de pescado (EBRP)</u>	33
3.4	<u>Métodos</u>	34
3.4.1	Análises da materia prima e dos produtos obtidos	34
3.4.1.1	Determinação da composição química proximal	34
3.4.1.2	Determinação de pH	34
3.4.1.3	Determinação de acidez expressa em ácido láctico	35
3.4.1.4	Determinação da atividade de água (a_w) nos produtos	35
3.4.1.5	Determinação das propriedades funcionais das proteínas dos EBRP	35

3.4.1.6	Caracterização nutricional	36
3.4.1.7	Análise microbiológica	38
4	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	39
4.1	<u>Composição química dos resíduos utilizados e dos produtos</u>	39
4.2	<u>Rendimento do processo de secagem dos ensilados (EBRP)</u>	42
4.3	<u>Determinação de pH e acidez expressa em ácido láctico</u>	42
4.4	<u>Atividade de água</u>	45
4.5	<u>Propriedades funcionais dos ensilados secos</u>	45
4.6	<u>Caracterização nutricional</u>	48
4.6.1	Determinação de aminoácidos	48
4.6.2	Determinação de minerais	50
4.6.3	Determinação do conteúdo dos ácidos graxos	52
4.7	Análises microbiológicas	53
5	<u>CONCLUSÕES</u>	55
6	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	56
7	<u>APÊNDICE</u>	66

LISTA DE QUADROS

QUADROS	página
QUADRO 01 - Nomenclatura dos ensilados de pescado (BERTULLO, 1984).....	13
QUADRO 02 - Microorganismos proteolíticos utilizados na produção de ensilados biológicos de pescado (BERTULLO, 1989)	22

LISTAS DE TABELAS

TABELAS	páginas	
01	Composição química percentual de resíduos da filetagem do pescado da família <i>Lutjanidae</i> e de ensilados frescos e secos obtidos a partir desses resíduos.....	41
02	Rendimentos dos ensilados biológicos de resíduos de pescado (EBRP) - Em relação aos ensilados frescos após a secagem feita ao sol por 20 horas descontínuas	42
03	Variação média do pH dos EBRP da família <i>Lutjanidae</i> em relação ao tempo de fermentação.....	45
04	Atividade de água de ensilados secos de resíduos de pescado da família <i>Lutjanidae</i>	47
05	Propriedades funcionais dos ensilados secos de resíduos de pescado da (família <i>Lutjanidae</i>).	49
06	Conteúdo de aminoácidos dos ensilados secos de resíduos de pescado da família <i>Lutjanidae</i> nos três tratamentos (1).....	51
07	Conteúdo de ácidos graxos dos óleos dos ensilados secos de resíduos de pescado da família <i>Lutjanidae</i> nos três tratamentos (1).....	53
08	Contagem padrão de bactérias em placas, contagem de <i>Coliformes</i> , Contagem de <i>Staphylococcus</i> , e pesquisa para detecção de <i>Salmonella</i> , em amostras de ensilado biológico de resíduo de pescado seco da família <i>Lutjanidae</i> nos três tratamentos (1)	54

TABELAS DO APÊNDICE

páginas	TABELAS
A-01	Composição química percentual de resíduos de filetagem do pescado da família <i>Lutjanidae</i> e de ensilados líquidos e secos obtidos a partir desses resíduos na primeira oportunidade..... 67
A-02	Composição química percentual de resíduos de filetagem do pescado da família <i>Lutjanidae</i> e de ensilados líquidos e secos obtidos e partir desses resíduos na segunda oportunidade. 68
A-03	Análise de variância dos dados de umidade do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) líquido, utilizados na composição química proximal..... 69
A-04	Análise de variância dos dados de proteína do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) líquido, utilizados na composição química proximal 69
A-05	Análise de variância dos dados de gordura do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) líquido, utilizados na composição química proximal 70
A-06	Análise de variância dos dados de cinzas do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) líquido, utilizados na composição química proximal. 70
A-07	Análise de variância dos dados de carboidratos do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) líquido, utilizados na composição química proximal. 71
A-08	Análise de variância dos dados de umidade do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na composição química proximal 71

A-09	Análise de variância dos dados de proteína de ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na composição química proximal.	72
A-10	Análise de variância dos dados de gordura do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na composição química proximal.	72
A-11	Análise de variância dos dados de cinzas do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na composição química proximal.	73
A-12	Análise de variância dos dados de carboidratos do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na composição química proximal.	73
A-13	Varição média do pH dos EBRP da família <i>Lutjanidae</i> em relação ao tempo de fermentação.	74
A-14	Análise de variância dos dados de atividade de água (aw) do ensilado biológico de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco.	75
A-15	Análise de variância dos dados de atividade de água (aw) do ensilado biológico de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco.	76
A-16	Análise de variância dos dados de sólidos em suspensão do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na determinação das propriedades funcionais.	76
A-17	Análise de variância dos dados de solubilidade do ensilado biológico de resíduo de pescado (família <i>Lutjanidae</i>) seco, utilizados na determinação das propriedades funcionais.	77

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS

páginas

01	Fluxograma de elaboração de ensilado biológico de resíduo de pescado (EBRP), utilizando bactérias do iogurte (<i>L. bulgaricus</i> e <i>S. thermophilus</i>), melão e cloreto de sódio.....	29
02	Varição do pH em resíduo de pescado (migongas, carcaças e vísceras), submetido à ensilagem biológica por um período de 6 dias (144 hs).	44
03	Fotografia dos recipientes contendo fermento biológico de inóculo de yogurt (<i>L. bulgaricus</i> e <i>S. thermophilus</i>), melão de cana e cloreto de sódio (NaCl).	30
04	Fotografia do recipiente contendo a matéria prima (resíduos de pescados triturados da família <i>Lutjanidae</i>).	30
05	Fotografia da separação em prensa hidráulica do caldo gorduroso e resíduos sólidos.	31
06	Fotografia do recipiente contendo ensilado de resíduos de pescado (EBRP).	31
07	Fotografia do EBRP fresco em bandeja de aço inox, pronto para ir à secagem.	32
08	Fotografia do EBRP seco de migongas, carcaças e vísceras em bandejas de aço inox e suspensas em estendal, no final da secagem.	32

RESUMO

O presente trabalho objetiva fornecer dados e informações sobre a elaboração e caracterização química, funcional e nutricional dos ensilados biológicos de resíduos de pescado (EBRP) da família *Lutjanidae* (pargo, guaiúba, dentão, carapitanga, etc.).

O ensilado foi preparado utilizando resíduos de pescado da indústria pesqueira e das peixarias locais, os quais foram classificados em três categorias: aparas das abas abdominais (migongas), carcaças (cabeças e esqueletos contendo restos musculares) e vísceras. O delineamento do experimento constou de três tratamentos denominados A (migongas), B (Carcaças) e C (Vísceras), que foram submetidos a ensilagem, promovida pela mistura de 81,5% de resíduos de pescado triturados, com 10% de inóculo de iogurte (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*), 7,5% de melaço de cana e 1% de sal (NaCl). O experimento foi realizado em duas oportunidades com diferenças de 30 dias, utilizando-se os mesmos resíduos de pescado e o mesmo procedimento de ensilagem. A fermentação decorreu em condições de temperatura ambiente, em torno de 28°C a 32°C, acondicionados em baldes abertos.

Foram realizadas as seguintes determinações: a) de rendimento dos ensilados secos (23,3% para migongas, 38,7% para carcaças e 31% para vísceras) em relação aos líquidos; b) do pH dos ensilados, que situou-se perto de 4,0 para os três tratamentos; c) da acidez expressa em ácido láctico, medida no final da fermentação que variou de 4,0% para 4,1% nos 3 tratamentos; d) da composição química proximal, que não mostrou diferenças significativas ($P \leq 0,05$) entre os ensilados líquidos nos três tratamentos para umidade, proteína, gordura, cinzas e carboidratos. Quanto ao teor de proteína nos ensilados secos, houve diferença significativamente ($P \leq 0,05$) maior no tratamento A do que nos tratamentos B e C; e) da atividade de água (a_w) dos ensilados secos, que foi de 0,232, 0,220 e 0,223 para os tratamentos A, B e C respectivamente; f) do estudo das propriedades funcionais, que mostrou que o EBRP pode ser usado como suplemento protéico incorporado em alimentos para animais, devido suas características de hidratação, solubilidade, sólidos em suspensão e emulsificação; g) da caracterização nutricional, que mostrou que os EBRP contém todos os aminoácidos essenciais, vários minerais necessários para nutrição animal e ácidos graxos essenciais. h) das análises microbiológicas, que mostrou que não existe presença de bactérias patogênicas no produto.

Conclui-se então, que o processo de obtenção de ensilados é tecnicamente viável e sugere-se que o EBRP seja utilizado como suplemento protéico alternativo aos usados tradicionalmente (farinha de peixe e farinha de carne e osso), em rações para animais.

ABSTRACT

The objective of this research work was to provide both data and information about the chemical, functional and nutritional characteristics of the fish waste silage (FWBS) of the *Lutjanidae* family (red snappers, yellow-tail snappers, dentex, bastard snappers, etc.)

The silage was prepared by using fish waste from local fish industries and fish markets and was classified into three categories: abdominal flange scraps (minced fish), frames (head and skeleton containing muscle scraps) and guts. The experiment outlining consisted of three treatments denominated A (minced fish), B (frames) and C (guts) which were submitted to silage by mixing of 81,5% ground fish waste, 10% yogurt inoculating (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*), 7,5% sugar-cane syrup, and 1% salt (NaCl). The experiment was accomplished in two different trials within a thirty-day lapse, by using the same fish waste and silage process. The mixture was disposed in open buckets and fermentation occurred at room temperature of about 28°C - 32°C.

The following determinations were performed: a) dry silage yield (23,3% for minced fish, 38,7% for frames and 31% for guts) in relation to the liquid silage; b) silage pH which was maintained at nearly 4.0 for the three treatments; c) acidity expressed in lactic acid, as measured at the end of the fermentation and varying from 4.0% to 4.1% for the three treatments; d) proximal chemical composition which did not show any significant difference ($P \leq 0.05$) among the liquid silages in the three treatments for moisture, protein, lipids, ashes and carbohydrates. With respect to the protein content in the dry silages, there was a significantly higher difference ($P \leq 0.05$) in treatment A than in treatments B and C; e) water activity (a_w) of the dry silages which measured 0.232, 0.220 and 0.223 respectively for treatments A, B and C; f) functional properties study which suggested that FWBS could be used as a proteic supplement incorporated to animal food, due to its wetability, solubility, suspended solids and emulsification characteristics; g) nutritional characterization, through the amino acid determination, which indicated that FWBS contained all the essential amino-acids, nutritional value with respect to mineral and essential fatty acids; h) microbiological analysis which indicated the absence of pathogenic bacteria in the product.

It was concluded that the process for obtaining silages is technically practicable and it is suggested that FWBS be used as an alternative proteic supplement to those traditionally used (fish meal and meat and bone meal) by being incorporated to animal food.

1 - INTRODUÇÃO

A bioconversão de resíduos tem sido a maneira mais natural de se retornar ao meio ambiente, os recursos extraídos, anteriormente dele. Espera-se que o desenvolvimento da biotecnologia, facilite o avanço dos processos de reciclagem natural, os quais se farão necessários para acompanhar os níveis de densidade populacional, no presente e no futuro, assim como o aumento na demanda. (MARTIN & PATEL, 1991)

A biomassa marinha se constitui numa fonte abundante e relativamente barata de alimentos e suprimentos, e de matéria prima para a indústria. Biopolímeros funcionais, enzimas e produtos farmacêuticos de uso na medicina, estão entre os valiosos compostos que podem ser extraídos dos organismos marinhos (NESTAAS, 1986). A atividade principal relacionada com a exploração dos recursos marinhos é a pesca. Tradicionalmente, os resíduos de pescado, têm sido lançados de volta ao mar. Esta prática, tem contribuído para retardar o processamento de resíduos de pescado pela indústria pesqueira embarcada, comparado com as indústrias baseadas em terra, que utilizam maneiras apropriadas de processar resíduos provenientes do beneficiamento do pescado, de acordo com seus interesses (GREEN & MATTICK, 1977).

Do total da captura mundial de pescado que está ao redor de 91 milhões de toneladas/ano (FAO, 1989), cerca de 60% são utilizados nos mercados de pescado fresco, congelado, enlatado e salgado; os 40% restantes seguem para o preparo de ração animal. Os processos de comercialização e industrialização para consumo humano rendem de 25 a 70% da matéria prima como produto comestível. Assim, as partes não aproveitáveis, somam 20 milhões de toneladas/ano. Esta sobra é igual ao peso do pescado inteiro utilizado para a produção de farinha, o que mostra que mais de 2/3 da captura atual não está sendo utilizada como alimento humano, embora nutricionalmente, seja comparável à porção ora comercializada. Isto representa uma fonte potencial que poderá permitir o aumento do suprimento de proteína de alta qualidade (LAUBIER, 1979; HOOD & ZALL, 1979; REBECA *et al.*, 1991; OETTERER DE ANDRADE, 1992).

Desde as operações de captura, incluindo o manuseio a bordo e o desembarque, até o beneficiamento, ocorrem perdas de pescado que ascendem à cerca de 20 a 40% deste recurso. Tais perdas constituem um subproduto da pesca formada pelo somatório de pescado impróprio para o consumo humano "in natura" e para a industrialização (pescado industrial), mais os resíduos das manipulações efetuadas sobre o pescado útil para a indústria. Este subproduto, facilmente deteriorável, deve ser descartado rapidamente, tornando-se um agente poluidor, ou recuperado imediatamente, para obtenção de produtos utilizáveis em rações animais e, talvez para alimentação humana (VILLELA DE ANDRADE & FRANQUEIRA DA SILVA, 1989; BELLO *et al.*, 1989; BERTULLO, 1984)

O nível de recuperação dos resíduos de pescado varia muito de país para país, embora em nenhum deles se atinja 100%. A Noruega, por exemplo, que tem tradição na utilização de resíduos, usou cerca de 150 mil de toneladas/ano de resíduos de um total de 400 mil de toneladas/ano existentes em 1978 (RAA & GILBERG, 1982; STANTON, 1984).

Segundo o IBGE (1989), no Brasil, para uma captura, em 1986, de 942 mil de toneladas, tem-se cerca de 280 mil de toneladas de resíduos.

O Estado do Ceará, um dos nove estados do Nordeste do Brasil, produz cerca de 40.000 toneladas de pescado/ano, que representa aproximadamente 5% da produção nacional. Cerca de 20.000 toneladas dessa captura de pescado é feita com técnicas artesanais em lagoas, lagos e açudes de água doce, sendo 17.000 toneladas de peixes e 3.000 toneladas de camarões.

Quanto às capturas de pescado marinho no Estado do Ceará, são da ordem de 21.400 toneladas/ano, sendo 15.000 toneladas de peixes e 6.400 toneladas de crustáceo. Na área de pesca industrial marinha foram registrados cerca de 9.900 toneladas/ano e as capturas da pesca artesanal foram na ordem de 11.500 toneladas/ano (FIBGE, 1990; apud NOGUEIRA, 1992).

As indústrias de processamento de pescado do Estado, beneficiam cerca de 9.000 toneladas/ano produzindo aproximadamente 4.000 toneladas/ano de resíduos de pescado (2.000 toneladas de cabeças de lagostas e camarões e 2.000 toneladas de resíduos de peixe na forma de cabeças, carcaças e vísceras).

A pesca artesanal, por sua vez, produz em torno de 3.000 toneladas de resíduos de crustáceos e 200 toneladas de resíduos de peixe por ano. Ao todo, a quantidade não utilizada de resíduos de pescado produzida por ano no Estado do Ceará podem estar próximo das 8.000 toneladas/ano.

É compreensível portanto, que uma maneira apropriada para o uso destes recursos deverá beneficiar o meio ambiente e, também, a grande demanda por farinhas e concentrados protéicos de pescado usados na indústria de ração para animais.

Entende-se por ensilagem, ou silagem de pescado, o processo de conservação de pescado ou de seus subprodutos, provenientes do beneficiamento das indústrias pesqueiras, através da elevação da acidez e conseqüentemente do abaixamento do pH. É muito antiga a preservação de pescado por meio deste processo, sobretudo em comunidades de recursos escassos, carentes de tecnologia, e com relativa abundância de produtos pesqueiros e subprodutos provenientes do beneficiamento industrial (BERTULLO., 1989a e 1989b; ARECHE *et al*, 1989; LUISA ARTHUR, 1991).

A silagem de pescado se constitui em um produto líquido preservado pela ação de ácidos (silagem química) ou por fermentação microbiana induzida por carboidratos (silagem biológica) e pode ser feita a partir de pescado. A liquefação é conduzida pela atividade de enzimas proteolíticas naturalmente presentes nos peixes e/ou adicionadas (silagem enzimática) (KOMPIANG, 1981; ARECHE & BERENZ, 1987).

A silagem para alimentação animal não deve ser vista como um produto competidor da farinha de pescado tradicional, mas pode se constituir numa fonte (resíduos de pescado) de proteínas disponíveis. Todo o esforço deve ser feito para aumentar o consumo humano, mas sempre haverá tipos de peixes que são inadequados para tal propósito, ou que excedem à capacidade de processamento. O pescado refugo está disperso por todas as regiões de pesca e a disponibilidade em alguns lugares é pequena para suportar uma planta de produção de silagem. Há porém, nos países produtores, mais plantas artesanais de que plantas modernas que operam em apenas certos períodos do ano (KOMPIANG *et al.*, 1979; OETTERER DE ANDRADE, 1992).

O valor nutricional da silagem está na digestibilidade protéica que deve ser preservada evitando-se estocagem prolongada do produto. O grau de hidrólise deve ser utilizado como um critério químico de qualidade, pois ao haver a autólise e ramificação o produto fica prejudicado (RAA & NJAA, 1989; ESPE *et al.*, 1989).

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 odor são reduzidos; a produção é independente do clima; a silagem pode ser produzida, a bordo e os peixes não ocupam armazenamento resfriado; o processo de ensilagem é rápido em climas tropicais e o produto pode ser utilizado no local (OETTERER DE ANDRADE, 1992).

A maior importância de ensilado está na sua utilização para formulação de rações destinadas aos animais domésticos. Em vários países, principalmente na região temperada do hemisfério norte, vem sendo elaborado hidrolizado de pescado com vistas ao preparo de rações de baixo custo e alto valor nutricional para aves, suínos, bovinos, ovinos, peixes e outros animais domésticos (CARNEIRO, 1991).

Ainda que a literatura registre a elaboração industrial e artesanal de ensilados de resíduos de pescado, e também sejam descritos alguns processos de silagem, a questão não está de toda elucidada, é preciso que lhe seja dispensado um maior aprofundamento tecnológico e também de aplicação, para que a indústria pesqueira, desperte a atenção para o aproveitamento racional dos resíduos que são desperdiçados antes, durante e após o beneficiamento de pescado.

Assim, levando-se em consideração os dados enumerados, nos propomos a elaboração de um ensilado biológico de resíduos de pescado, e a sua caracterização química, funcional e nutricional, visando atender, os seguintes objetivos:

- 1) O aproveitamento dos resíduos de pescado provenientes da pesca industrial e artesanal;
- 2) Utilização de inóculo para iogurte e melaço de cana na obtenção de ensilados à partir de resíduos de pescados considerados como refugo;

- 3) Contribuir para o desenvolvimento de tecnologia adequada e de baixo custo, utilizando resíduos de pescados como fonte de proteína para ser aproveitada em rações para animais;
- 4) Contribuir para a redução do problema da poluição do meio ambiente, com o uso racional dos resíduos de pescado em forma de ensilados biológicos.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - O pescado como substrato para obtenção de ensilados

O termo resíduo, refere-se a todos os subprodutos e sobras do processamento dos alimentos e são de relativamente baixo valor. A necessidade de se montar sistemas de aproveitamento dos resíduos de indústrias é de ordem econômica e de conservação de energia. Pode-se pensar desde um maior uso da matéria prima até o produto final ou ainda, o desenvolvimento de novos produtos que utilizem resíduos líquidos e sólidos no preparo. Para o aproveitamento destes resíduos as ferramentas mais úteis são as enzimas e os microrganismos (SHOEMAKER, 1986).

Os resíduos da industrialização do pescado se constituem em sérios problemas de sanidade das instalações, envolvendo custos de eficiência de produção e custos energéticos. A conversão de material residual não utilizado em produtos comerciais permite resolver grande parte dos problemas citados, como leva ao aparecimento de novos produtos comerciais obtidos pela recuperação da proteína e outros nutrientes ou ainda alimentos que poderão ser utilizados como ingredientes alimentares mantendo o "flavour" dos frutos do mar (HOOD & ZALL, 1979).

Peixes, moluscos (ostras, mariscos, lulas, polvos, abalones), equinodermas (ouriço) e crustáceos (caranguejos, siris, camarões e lagostas) são matérias primas empregadas em todo o mundo para a fermentação.

O pescado inteiro, bem como o material residual são utilizados na silagem.

O pescado é um substrato rico pela presença dos nutrientes necessários ao crescimento microbiano. Além disso traz no músculo e no trato digestivo, enzimas que agem durante a fermentação.

A microbiota é variada e importante no processo.

O pescado tem como principal constituinte a água (66% a 84%). Os teores de proteína oscilam de 15% a 24%; os lipídios, de 0,1% a 22%; e as substâncias minerais, de 0,8% a 2%. O teor de glicogênio em alguns teleósteos chega ao máximo de 0,3%. Muitos minerais ocorrem em traços bem como vitaminas lipo e hidrossolúveis.

Há grande variação na composição dos animais aquáticos devido a fatores de natureza intrínseca, como os genéticos, os morfológicos e os fisiológicos, ou aos de natureza ambiental relativos às condições de vida, particularmente alimentação.

As diferenças de composição devidas à espécies são basicamente lipídicas. Há distinções entre espécies gordurosas, semi gordurosas e magras. Mas o salmão, por exemplo, pode ter 0,35% ou 14% de lipídios dependendo da época de captura. O

hipoglosso (*Hippoglossus sp*) tem de 0,5% a 9,6% de lipídios enquanto o teor protéico permanece constantemente próximo de 18%. Existem variações individuais de composição, assim, há relação inversa entre o grau de hidratação e o teor lipídico. Ao longo do corpo do pescado, em algumas espécies, os tecidos de coloração avermelhada contém menos nitrogênio que a carne branca. Há 26% de lipídios nos tecidos ventrais da albacora (*Thunnus sp*), 5% na carne acima do ventre e 4% na parte inferior.

O sexo pode determinar variação na composição protéica devido ao estágio fisiológico; as cavalas (*Scomber sp*) são mais ricas em proteínas no início do ciclo sexual que os machos enquanto o inverso pode ser observado após a desova. A importância da variação sazonal é complexa: as sardinhas (*Sardinella sp*), por exemplo, têm 2% de lipídios na primavera e 8,6% no outono. Podem-se atribuir as variações sazonais à predominância de espécies de plânctons em certas épocas. Há a influência da idade do pescado: as sardinhas in naturas contém 3% de lipídios e, aos 3 anos, enquanto se reproduzem, passam a ter de 5% a 15%, conforme a estação do ano (OETTERER DE ANDRADE, 1991).

2.1.1 - Fração protéica

As proteínas do pescado são extracelulares, (colágeno e elastina), e intracelulares, (actomiosina, miogeno e mioalbumina). No eglefino (*Gadus aeglefinus*), há de 95% a 97% de proteína intracelular, compreendendo de 65% a 75% de miosina e 10% de miogeno, de 3% a 5% de proteína extracelular, que é constituída de colágeno e elastina, e 0,5% de núcleo-proteínas e hemoglobinas.

O teor de aminoácidos é variável com a espécie; as sardinhas apresentam, por exemplo, teores de triptofano, valina, lisina, isoleucina, leucina e treonina adequados do ponto de vista nutricional, considerando a proteína referência da Food and Agriculture Organization (FAO). Há variações nos teores de arginina, histidina e triptofano entre as espécies.

O pescado possui nitrogênio não protéico, sendo que esta fração inclui os aminoácidos livres, as bases nitrogenadas voláteis, particularmente amônia, certas bases como o óxido de trimetilamina, a creatina, a taurina, as betainas, o ácido úrico, a anserina e a carnosina.

Na fração muscular são encontrados a creatinafosfato, o difosfato de adenosina (ADP), o trifosfato de adenosina (ATP) e o ácido mioadenílico.

A carne de pescado magro contém baixos teores de purinas e pirimidinas.

As enzimas presentes nas vísceras e no trato digestivo do pescado são a tripsina, a quimotripsina e a pepsina; a enzima do tecido muscular é a catepsina (OETTERER DE ANDRADE, 1991).

2.1.2 - Fração Lipídica

Os depósitos de lipídios se encontram no fígado e nas vísceras. A natureza dos lipídios predominantes nos animais aquáticos é dependente da espécie, da dieta, da temperatura, da salinidade, da mobilização e da distribuição seletiva das moléculas. Os ácidos graxos insaturados de baixo peso molecular estão em proporções menores nos peixes marinhos que nos de água doce, porém ocorre o inverso com os ácidos graxos de (10% e 18%) alto peso molecular. Entre os saturados predomina sempre em termos quantitativos o ácido palmítico. Quanto aos insaturados, os maiores teores são os correspondentes a 18, 20 e 22 átomos de carbono em peixes de mar e a 16 e 18 átomos de carbono nos peixes fluviais.

Nos elasmobrânquios, a fração insaponificável dos lipídios do fígado, quando baixa consiste principalmente em colesterol, álcoois de cadeia longa saturados ou insaturados e, quando alta, é representada principalmente pelo esqualeno. Nos teleósteos, predomina o colesterol, na fração insaponificável dos lipídios do músculo.

A maioria dos produtos fermentados de pescado é preparada com espécies de alto teor lipídico e quando são empregados peixes magro o produto passa a ter menor aceitação quanto à textura e ao "flavour" (OETTERER DE ANDRADE, 1991).

2.1.3 - Minerais e Vitaminas

O pescado é rico em minerais, possui o fósforo complexado com lipídios, e o enxôfre, o ferro e o cobre complexados com proteínas. Os peixes do mar são ricos em iodo.

Na maioria das espécies está presente a vitamina A₁ - axeroftol: em bacalhau (*Gadus morhua*) e em hipolosso, a neovitamina A₁; nos peixes de água doce, a vitamina A₂. Os maiores teores de vitamina A encontram-se no fígado e nas vísceras, sendo dependentes do tamanho, do peso, do sexo e do estado sexual do pescado, além de variarem sazonalmente.

O bacalhau possui 50UI/100g de vitamina A na carne e a enguia (*Anguilla anguilla*), 4500 UI/100g.

A distribuição da vitamina D segue a da A, com maior quantidade no óleo de fígado, no qual os teores variam de 500 a 300 UI/100g.

As vitaminas hidrossolúveis B₁, B₂, niacina, ácido pantotênico, B₆, ácido fólico, biotina, B₁₂ e C estão presentes no pescado. Em quantidades consideráveis em relação a outras carnes, encontram-se no pescado a niacina, a B₆ e a C (OETTERER DE ANDRADE, 1991).

2.1.4 - Alterações *Post Mortem*

Imediatamente após a morte, o ATP passa a ADP por desfosforilação, com liberação de energia. Parte do ADP resultante se ressintetiza e passa a ATP graças à glicólise do glicogênio presente no músculo. O ADP restante sofre nova desfosforilação, converte-se em AMP (monofato de adenosina) e por desaminação, em IMP (monofosfato de inosina). Por isso diminuem cada vez mais o teores de ATP e do glicogênio, que se transforma em ácido láctico. O ATP, que em vida ou imediatamente após a morte do pescado se combinava com a miosina, propiciando a propriedade elástica da carne, vai desaparecendo, ficando a miosina livre, que se combina com a actina, resultando a actomiosina, que dá ao músculo consistência rígida. Mais tarde, a actomiosina se degrada por autólise e o músculo recupera sua elasticidade.

O pescado armazenado em gelo está sujeito às alterações enzimáticas associadas ao "rigor mortis".

O pescado ativo e migratório pode ter quantidade menor de glicogênio do que os peixes sedentários, teoricamente os últimos fermentam com mais facilidade pois o glicogênio é um carboidrato que enriquece o substrato pescado.

A partir do método de captura, se de arrasto ou com linha, por exemplo, o pescado se debate e gasta a reserva energética, entrando mais rápido em rigor mortis, ao passo que o peixe criado é coletado mantendo a faixa de glicogênio (OETTERER DE ANDRADE, 1991).

2.1.5 - Microbiota

Os microrganismos existem dentro e fora do corpo do pescado, em equilíbrio biológico. A permanência, tanto em termos de qualidade como de quantidade do pescado, pode ser passageira ou contínua. Há variações com espécie, com o habitat (principalmente a zona de captura), com a estação do ano, com o alimento disponível e com a fase do ciclo reprodutivo.

Os microrganismos encontrados no pescado recém-capturado provém originalmente da pele, das brânquias e do trato intestinal. São principalmente *Pseudomonas*, *Achromobacter*, fobobactérias, esporos de *Erysipela* e leveduras de deferentes tipos.

Uma contaminação secundária seria a decorrente do pescado em contato com a embarcação, durante o transporte por terra, e no manuseio para a venda. Aparecem então, entre outros, enterobactérias, bacilos, *Micrococcus*, leveduras e fungos.

Nas águas setentrionais do Atlântico, nas quais os peixes são capturados a uma temperatura máxima de 12° C, a flora microbiana se compõem principalmente de psicrotolerantes, havendo menos de 5% de mesófilos. Em águas mais temperadas, como no Mar Adriático e no Oceano Índico, predominam os mesófilos quais os peixes são capturados a. Esses microrganismos encontram na carne do pescado condições

apropriadas para sua sobrevivência e multiplicação. Assim., por efeito de sua atividade proteolítica, ocorrem alterações que são detectáveis por análise organoléptica.

Os psicotolerantes estão na pele do pescado fresco em número de 10^2 a 10^7 / cm; no líquido intestinal, de 10^3 a 10^8 /ml: e, nos tecidos das brânquias, de 10^3 a 10^6 /g de tecido.

Nas águas das áreas de captura há mais microrganismos que nas zonas pobres em pescado.

Os rins, as brânquias e os vasos sangüíneos são os principais focos de microrganismo: no músculo, na pele e nas paredes do estômago e do intestino eles se reproduzem mais lentamente. Os primeiros contaminados são os correspondentes á cavidade branquial, aos rins rins e á parede abdominal. Esses microrganismos têm como características comuns uma velocidade elevada de multiplicação a temperaturas entre 5 a 20°C, com intensa atividade proteolítica que persiste até a 0,5°C, uma ativa mobilidade que os faz penetrar eficazmente nos músculos, e produzem grande quantidade de substâncias corantes, odoríficas e rápidas.

Entre os microrganismos psicotolerantes mais representativos estão as *Pseudomonas fluorescens liquefaciens*, as *Flavobacterium aquatile*, as *Achromobacter* e as bactérias fosforescentes.

Pescados capturados no Mar do Norte apresentam a predominância de *Moraxella*, seguida de *Pseudomonas* dos grupos II e III, além de *Flavobacterium cytophaga* e de *Acinetobacter*.

Na costa brasileira, os pescados contém *Achromobacter*, *Pseudomonas* e bactérias corineformes entre outras.

Entre os microrganismos com atividade patogênica, estão as salmonelas, que originalmente não existem no pescado, porém, podem estar em águas costeiras contaminadas. Nunca se observaram sintomas de salmonelose em peixes que vivem em mar aberto.

O *Clostridium botulinum* pode-se instalar nas vísceras do pescado. O tipo E é o causador da maior parte de botulismo devido ao consumo de pescado, mas os produtos pesqueiros têm que reunir condições de anaerobiose para que sua toxina chegue a se formar após o crescimento e a multiplicação na carne.

O consumo de pescado cru pode levar à gastroenterite aguda devido à presença de *Vibrio parahaemolyticus*. Há elevada incidência de víbrio nas águas, nos moluscos e nos crustáceos da região litorânea paulista.

O *Staphylococcus aureus* não aparece em ambientes marinhos mas estão nas pessoas que manipulam o pescado, alojado nas mucosas nasais e nos olhos, podendo ser acrescentado à microflora do pescado.

Algumas espécies de *Proteus* podem formar histamina no pescado a partir da descarboxilação de histidina. As bactérias erisipelóides são patógenas e estão na superfície de algumas espécie (OETTERER DE ANDRADE, 1991).

2.2 - Utilização dos resíduos do pescado

A maioria das tecnologias recomendadas para a utilização dos resíduos das indústrias de pescado incluem investimentos iniciais importante e não são economicamente viáveis. Os aterros sanitários e lagoas de tratamento de efluentes também não são alternativas viáveis pela contaminação odorífica que provocam nas áreas costeiras ou de águas doce geralmente associadas com pólos de lazer. O ensilado de pescado e a compostagem com outros materiais ou resíduos industriais e a produção de subprodutos de alto valor comercial podem ser uma alternativa para este problema.

Os resíduos sólidos gerados por indústrias processadoras de pescado, exceto as produtoras de farinha de pescado, vão de 30 a 80% do pescado desembarcado, dependendo de cada operação. A indústria de camarão produz 40 a 80% de resíduos, se a retina da cabeça for feita a bordo ou na indústria. As indústrias filetadoras de pescado produzem 30 a 60% de resíduos e a de caranguejos 75 a 85%. As indústrias de farinha de pescado geram poucos resíduos, porém, o investimento em tecnologia e combustíveis é alto.

Dentre as diferentes formas de recuperação e utilização de resíduos do pescado podem ser citadas as seguintes (GREEN & MATTICK, 1977).

Isca. O uso mais antigo. Isca de peixes para crustáceos ou outros peixes.

Alimentos para animais de estimação. Resíduos de atum e salmão são usados para elaboração de alimentos enlatados para gatos. Neste uso também são incluídos a "fauna acompanhante" e as espécies de baixo valor comercial.

Farinha de pescado. As indústrias de farinha de pescado são empreendimentos de grande porte, consolidados e com uma fatia importante no comércio internacional com uma baixa margem de rentabilidade. Desta maneira, é praticamente impossível para uma indústria de pescado produzir farinha, a partir dos seus próprios resíduos, com alguma rentabilidade.

Outras farinhas Farinhas de crustáceos. Contém de 25 a 35% de proteína, quitina e carbonato de cálcio. A Quitina pode ter alguma importância industrial como agente floculante.

Quitina e quitosanos. Quitina é um polissacarídeo composto de poli-N-acetil-D-glucosamina e o quitosano é o derivado deacetilado da quitina. O principal uso é na floculação de resíduos sólidos da indústria de alimentos. Requer investimento inicial alto.

Ensilados de pescado. Também chamado de pescado liqüefeito. produto resultante da *autólise* de pescado inteiro triturado ou resíduos mantidos sob condições de acidez. O processo é simples, requer apenas a trituração do material, adição de ácidos (fôrmico, propiônico, sulfúrico) ou enzimas e uma forma de misturar. O investimento de capital é mínimo; pode ser realizado em pequena ou grande escala; o produto é peixe digerido com 60 a 80% de solubilidade; o óleo pode ser extraído por aquecimento a 60 -

70° C seguido de decantação ou centrifugação. É utilizado como alimento líquido para porcos e gado ruminante. Também pode ser seco e estocado por tempo prolongado ou usado para formular rações para monogástricos.

Acidificação. Consiste na adição de ácidos ao pescado triturado cru ou cozido para formar uma suspensão de pH abaixo de 4. Produto de baixo custo que pode ser usado como alimento animal tal qual ou com neutralização prévia. A corrosão e o custo do transporte de um material aquoso podem ser alguns dos inconvenientes.

Compostagem aeróbica. Processo barato e apropriado para grandes e pequenos volumes de material residual. Leva 1 a duas semanas; pouco ou nada de odor de pescado;; o produto final é estável, inodoro, e a presença de carboidratos favorece a degradação. As pilhas devem ser viradas freqüentemente para permitir a oxigenação do material e reduzir odores. Há uma redução de 20 a 40% do conteúdo de sólidos na medida em que o carbono é convertido a CO₂. O conteúdo de nitrogênio e cinzas aumenta, em base a matéria seca. Adubos de pescado têm alto teor de nitrogênio e se adequam para fertilizantes. A compostagem aeróbica também pode ser usada na alimentação animal.

Compostagem para cogumelos. Os resíduos de pescado podem ser utilizados para compostagem destinada à produção de cogumelos. Quando se adiciona nitrogênio orgânico e óleos vegetais polinsaturados a esta mistura o rendimento de cogumelos aumenta. Este efeito foi especialmente evidente com óleos de pescado e solúveis de pescado.

Compostagem anaeróbica. Digestão sem oxigênio. Destinado à produção de metano (CH₄) combustível e alimento de uso animal.

Proteína de unicelulares. Produção de proteína de organismos unicelulares alimentados com óleos de pescado ou resíduos do pescado tem sido testada experimentalmente. O maior problema é a baixa qualidade da proteína da biomassa produzida.

Hidrolisados de pescado. Usados como peptonas em microbiologia. O processo é tecnologicamente complexo e caro.

Recuperação de fragmentos comestíveis. Utiliza desossadores mecânicos para recuperar tecidos musculares aproveitáveis do pescado. Estas máquinas recuperam 55 a 65% do tecido muscular, em comparação com 40 a 42% da filetagem. Uso em produtos formulados, embutidos, surimi, etc. As águas de lavagens de ostras e outros bivalvos podem ser recuperadas para produção de sabores e extratos.

Fertilizantes. O Pescado liqüefeito pode ser usado como fertilizantes de baixo custo para jardins.

Óleos de pescado. Uso em fabricação de margarinas e óleos de cozinha. Fontes vitamínicas e de ácidos graxos polinsaturados da série ômega 3, com propriedades terapêuticas e profiláticas (GREEN & MATTICK, 1977).

2.3 - Ensilados de pescados.

Uma alternativa do aproveitamento de resíduos da indústria pesqueira, para elaboração de ração animal, é o ensilado de pescado, produto este que possui alto valor nutricional e praticamente a mesma composição da matéria-prima que o origina (WINDSOR & BARLOW, 1984).

O processo de ensilado de pescado não é novo. Este foi desenvolvido na Finlândia em 1920, Dinamarca e Polônia em 1950 e na Austrália em 1974 (DISNEY & JAMES, 1979). Existem ainda muitos países da Europa, Ásia, África e América Latina que já estão desenvolvendo pesquisas para o avanço tecnológico no aproveitamento de pescado de baixo valor comercial para obtenção de ensilado de pescado. O processo da ensilagem de pescado é simples e requer baixo investimento, quando comparado com a produção de farinha de peixe, podendo ser produzido em pequena ou larga escala.

O ensilado de pescado é um produto líquido obtido do pescado inteiro ou de partes residuais ao qual não é agregado outro material que não seja um ácido e onde a liquefação é realizada pelas próprias enzimas do pescado. Os ácidos aceleram o processo de ensilagem criando melhores condições de hidrólise para as enzimas e ajudando na dissolução dos ossos do pescado. Eles também evitam a deterioração bacteriana. Após a liquefação do material ensilado é necessário remover os óleos do pescado para dar uma maior estabilidade a este produto de uso na alimentação animal (TATTERSON & WINDSOR, 1974; MARTIN & PATEL, 1991).

Existem duas metodologias básicas para obtenção de ensilado de pescado: uma é através da adição de ácidos minerais ou orgânicos, tais como fórmico, sulfúrico, clorídrico, propiônico, etc (WIGNALL & TATTERSON, 1977; DISNEY & JAMES, 1979; LUPÍN, 1983; WINDSOR & BARLOW, 1984; RODRIGUEZ *et al.*, 1989). A outra é a utilização de microorganismos produtores de ácido láctico utilizando-se uma fonte de carboidratos. Este produto é conhecido como ensilado biológico de pescado, que pode ser obtido com resíduos de diferentes espécies de pescados, fontes de carboidratos e microorganismos produtores de ácidos láctico (LINDGREN & PLEJE, 1983; VAN WYK & HEYDENRYCH, 1985; OTTATI & BELLO, 1989; LESSI *et al.*, 1989).

Segundo BACKHOFF (1976), o termo mais apropriado para ensilado de pescado seria “pescado liqüefeito” ou então proteína de pescado liqüefeita ou, ainda, “concentrado protéico de pescado”. Já BERTULLO (1989b) apresentou uma nomenclatura para os ensilados de pescado, que está mostrada no QUADRO 01.

QUADRO 01: NOMENCLATURA DOS ENSILADOS DE PESCADO (BERTULLO, 1989b).

DENOMINAÇÃO	CARACTERÍSTICAS DA TÉCNICA	AUTOR
ENSILADOS	Ação enzimática natural ou por agregação de um fermento microbiano, sobre substrato de melão.	EDIN.H., 1940; BERTTULO, V.H. 1953
ENSILADOS	Ação enzimática natural controlada por redução de pH ao se agregar ácidos orgânicos ou inorgânicos	PETERSEN. H., 1943; TATTERSON & WINDSOR, 1974; WINDSOR & BARLOW, 1981
ENSILADOS ÁCIDOS	Ação enzimática natural controlada pela redução de pH ao se agregar ácidos orgânicos ou inorgânicos.	PETERSEN. H., 1943; TATTERSON & WINDSOR, 1974; WINDSOR & BARLOW, 1981
ENSILADOS BIOLÓGICOS	Ação de enzimas exógenas de origem animal, vegetal ou microbiana.	QUEE. L. , 1973
HIDROLISADOS QUÍMICOS	Ação estrita de ácidos ou substâncias alcalinas	SAINGLIVIER,M., 1985
HIDROLISADOS BIOLÓGICOS	Ação de microrganismos proteolíticos ou enzimas	BERTULLO,V.M., 1970
HIDROLISADOS MISTOS	Ação enzimática natural controlada por redução de pH ao se agregar ácidos orgânicos ou inorgânicos.	SAINGLIVIER.M., 1985
AUTOLISADOS	Ação de enzimas tecidulares ou digestivas do pescado	SAINGLIVIER.M., 1985
HETEROLISADOS	Ação de microrganismos proteolíticos ou enzimas	SAINGLIVIER,M., 1985

2.3.1 - Ensilado químico de pescado

TATTERSON & WINDSOR (1974), definiram ensilado de pescado como um produto líquido fabricado a partir de pescado inteiro ou de suas partes, nos quais se adiciona ácido e a liquefação da massa de pescado se efetua pela ação das enzimas presente na mesma. Para WIGNALL & TATTERSON (1977), ensilado de pescado pode ser descrito como um produto preparado por adição de ácido sobre peixes inteiros ou partes destes. A liquefação é causada por enzimas proteolíticas do peixe e é grandemente acelerada pelo ácido, que também ajuda a digerir os ossos e impedir o desenvolvimento de bactérias putrefativas, resultando em um alimento de origem animal de alta qualidade com durabilidade de estocagem.

Os ácidos inorgânicos mais utilizados para a produção de ensilados são o clorídrico e o sulfúrico. A quantidade de ácido inorgânico necessária para atingir pH 2,0 em pescado homogeneizado, depende das proteínas e minerais dessa matéria-prima (RAA & GILBERG, 1982).

Os ácidos orgânicos, normalmente utilizados, são o fórmico e propiônico. Ainda que mais caros, o emprego de ácidos orgânicos, é indicado, pela sua ação bacteriostática e bactericida, e porque não é necessário neutralizar o produto final. Para minimizar os custos, pode usar-se ácido inorgânico para reduzir facilmente o pH, e o orgânico, pela sua ação antimicrobiana (DISNEY, 1978; RAA & GILBERG, 1982; OWENS & MENDOZA, 1985; FATIMA & QADRI, 1987).

Na preparação de silagem química, a escolha do agente de preservação, cai entre o ácido mineral, a mistura de ácidos, ácidos orgânicos ou a mistura de minerais e orgânicos; estes, como o fórmico, são geralmente mais caros do que os ácidos minerais comuns, mas produzem silagens que não são muito ácidas (pH de 4,0 a 4,5) e que não necessitam neutralização antes do uso. A ação bactericida do ácido deve ser considerada. Uma mistura de ácidos fórmico e propiônico tem sido recomendada. No caso de se utilizar proporção 1:1; fórmico: propiônico e adição de 3% (volume/peso) à biomassa, a silagem que se obtém é estável com aroma acidificado. Os ácidos minerais como o ácido clorídrico e o ácido sulfúrico podem ser utilizados, pois são de baixo custo, porém tem a desvantagem de necessitar de uma neutralização antes do alimento ser consumido.

A mistura de ácidos é a mais recomendada do que a escolha de um único, devido ao fato de que alguns ácidos, como o ácido fórmico, permitem o crescimento de fungos, principalmente em silagens onde se utiliza fontes de carboidratos, além do pescado. O ácido propiônico inibe o crescimento de fungos à concentrações de 0,2% e a pH até 5,5; estes valores demonstram a clara atividade fungicida do ácido propiônico e as vantagens do uso deste ácido orgânico no preparo de silagem. Em caso de silagem onde se adiciona fontes de carboidratos pela adição de glicose, o crescimento de *Aspergillus flavus* pode produzir aflatoxinas representando uma redução da aplicação da silagem de peixes especialmente em áreas tropicais (KOMPIANG, 1981).

O ácido fórmico de 85% de pureza, usado em concentrações de 3,5%, é o preferido porque confere ao produto pH em torno de 4,0 a 4,5, inibindo as bactérias putrefativas. Já os ácidos minerais levam o pH valores perto de 2,0, são corrosivos e é necessário neutralizar o produto antes de utilizá-lo. A composição do produto obtido

numa semana de ensilagem, com retirada do óleo apresenta, aproximadamente, 80% de água, 15% de proteína e 4,5% de cinzas, com estabilidade de 2 anos à temperatura ambiente (MARTIN & PATEL, 1991).

A ensilagem de pescado é apropriada para regiões onde os resíduos de pescado ou excessos de desembarques marítimos estão disponíveis; onde os custos de transportes deste material até uma fábrica de farinha de pescado são altos; onde as granjas avícolas ou de suínos estão perto; onde ácido fórmico ou outros ácidos estão disponíveis a preços acessíveis. O trabalho apresenta um pequeno esquema de produção de ensilados. O preço do ácido fórmico pode ser uma limitação. Os ensilados de pescado são especialmente apropriados para alimentação de porcos nas cercanias do lugar de produção. O nível de óleo no produto deve ser controlado por motivos de estabilidade, odor e sabor impartido à carne de aves e suínos. por secagem pode ser produzido um concentrado protéico de pescado de uso humano (WINDSOR, 1978).

O ensilado preparado por métodos convencionais (pH 4.0) contém uma variedade de enzimas ativas que não são só hidrolizam as proteínas para pequenos peptídios e aminoácidos livres, mas também, degradam aminoácidos para amônia e outros produtos metabólicos. Os ensilados estabilizados quimicamente (pH 2.0) contém apenas os peptídios liberados pelas pepsinas endógenas, com pouco acúmulo de aminoácidos livres e produtos de degradação. Por outro lado, o pescado autolizado por 1 hora a 60°C ao pH fisiológico (6.2 a 6.6) e em seguida pasteurizado e acidulado para pH 4.0 contém peptídios estáveis e de tamanho intermediário. Este procedimento permite ajustar o teor de peptídios e aminoácidos livres desejado para satisfazer as necessidades nutricionais dos animais (STONE & HARDY, 1986).

Ensilados preparados com ácido fosfórico (adição até pH 4,0) e com 0,1% de sorbato de potássio podem sofrer hidrólise enzimática até liquefação após várias semanas a 20°C, sem crescimento de microrganismos. A omissão do sorbato, em ensilados de carcaças de pescado, pode levar ao crescimento de leveduras aeróbicas superficiais e, em ensilados de carcaças e vísceras, ao crescimento intenso de mofos e leveduras.

As vantagens de se usar ácido fosfórico é a sua capacidade tamponante a pH 4,0. Isto é um fator favorável quando comparado com os ácidos sulfúrico e clorídrico que devem ser neutralizados antes do uso do ensilado, com o conseqüente desenvolvimento de sabores salinos no produto e a falta da capacidade tamponante que permite um aumento do pH na medida em que os ossos são dissolvidos (LEVIN *et al.*, 1989).

Ensilados ácidos preparados com salmões da mortalidade em criações intensivas, contendo ácidos cítrico, fórmico e propiônico ou combinações destes podem ser obtidos em curto tempo. Quando se usa ácidos orgânicos os ensilados deveriam se estabilizar a pH 3,5 a 4,0 com ácido fórmico e a pH 4,5 com ácido propiônico. Estes ácidos são preferidos porque eles mantêm as suas propriedades bacteriostáticas a pH mais altos, os ensilados não requerem de neutralização antes de serem usados na alimentação animal e, apresentam menos problemas de corrosão dos equipamentos. O uso de ácido cítrico não apresentou resultados satisfatórios (LO *et al.* 1993).

O ensilado (hidrolizado químico) se liqüefaz, gradualmente, devido à atividade das enzimas proteolíticas dos tecidos, que estão naturalmente presentes no pescado, principalmente nos órgãos digestivos, e continuam ativas após a morte. Como a proteína é o maior componente estrutural nos tecidos, é geralmente, a enzima protease a responsável pela autólise. Para as miofibrilas isoladas, o pH ótimo, com maior atividade foi de cerca 5,5; e para a hemoglobina foi abaixo de 4,0. O ensilado apresenta, portanto, 3 fases: a líquida, a aquosa solúvel e o sedimento insolúvel (MACKIE, 1973; RAA & GILDBERG, 1976; HALL *et al.*, 1985a).

A taxa de liquefação dos ensilados depende do tipo de matéria prima, se fresca, e da temperatura do processo. Os peixes frescos e os peixes gordurosos liqüefazem mais rapidamente. É importante que nas instalações haja condições para adição do ácido imediatamente após o material chegar à indústria; assim evita-se a liquefação lenta. Aquecer a mistura acelera o processo; a silagem se mantida a 20°C leva em média 2 dias para liqüefazer, se a 10°C, 10 dias. Assim no inverno recomenda-se aquecer a mistura inicialmente (TATTERSON & WINDSOR, 1974; STROM & EGGUM, 1981).

O ensilado ácido de bacalhau e de vísceras de arenque é preparado de acordo às recomendações da Estação Tecnológica de Halifax, Nova Scotia, Canadá. O procedimento usa ácido sulfúrico grau comercial, com densidade 1,84 (95 a 96% de pureza) para acidificar e calcário para neutralizar. Podem ser usados barris de madeira de 400 l e uma colher de madeira para agitar. Usa 5 Kg de ácido para cada 100 kg de resíduos; deixa repousar o material homogeneizado por 2 a 3 dias até o início da desintegração das vísceras. Adiciona mais 100 a 200 kg de vísceras e 5 kg de ácido para cada 100kg de vísceras frescas, repetindo esta operação até encher o barril. Agita com a colher de madeira diariamente. O produto está pronto em 2 semanas, aproximadamente, à temperatura ambiente, ou em 3 a 4 semanas a 10°C, com estabilidade de um ano, pelo menos. A composição apresenta 20 a 26% de matéria seca, 13 a 15% de proteína e pH em torno de 1,9 a 2,5. A neutralização pode ser feita pela adição de 2,5 kg de calcário para cada 100 kg de ensilado. Nestas condições o produto é altamente perecível e poderá se deteriorar de algumas horas (FREEMAN & HOOGLAND, s/d).

Cerca de 80% da proteína no ensilado ácido de pescado, geralmente, está solubilizada, depois de uma semana a temperaturas de 23 a 30°C. O rendimento da proteína solubilizada pode variar significativamente, dependendo dos lipídios presentes no pescado e da matéria-prima, sendo que, o músculo de pescado fresco dá menor rendimento do que as vísceras (RAA & GILBERG, 1982).

HALL *et al.* (1985b) determinou o nitrogênio não protéico (NNP) do ensilado ácido (3% de ácido fórmico a 98%) de peixe inteiro "silverbelly" (família *Leignathidae*), a 28-30°C, obtendo 14% NNP/% proteína total, que atingiu 39% após 7 dias.

No ensilado ácido de "sprat" (*Sorettus sprattus*), peixe gordo, obtido a 30°C, após 5 dias a solubilidade da proteína foi cerca de 24%, e após 12 dias de 37% (TATTERSON, 1976).

Ensilado produzido com 2,5% de ácido fórmico por um período de 180 dias mostrou um alto grau de hidrólise e se proteção de amônia durante os primeiros 90 dias de estocagem. No estudo com ratos a digestibilidade e a utilização da proteína foram mais altas que a do material fresco e a dos ensilados mais velhos. Estocagem acima de 90 dias diminui drasticamente a qualidade do ensilado, devido, provavelmente a uma combinação de autólise e rancidez oxidativa dos óleos. O grau de hidrólise pode ser usado como um indicador da qualidade química do ensilado.

O uso de formaldeído (0,25 a 0,39%), para deter a autólise das proteínas em ensilados de vísceras de bacalhau, após completa liquefação do material, também inibiu a rancidez oxidativa do óleo, o aparecimento de odores desagradáveis e a formação de bases voláteis totais. O alimento foi usado com carneiros (HAARD *et al.*, 1985).

A maior transformação química que ocorre no ensilado ácido é no óleo. Os ácidos graxos livres aumentam, indicando a decomposição de glicérides por oxidação, resultando num óleo escurecido. O óleo é um subproduto valioso e tem sido extraído do ensilado de "arenque" (cerca de 3% após 1,5 a 5,5 dias de produção), com boa qualidade, sempre que o processo ocorra rapidamente (TATTERSON, 1976). Limitar a formação de produtos de oxidação de lipídios pode ser vantajoso, para evitar que os aminoácidos reajam com esses produtos, diminuindo o valor nutricional do ensilado (HALL & LEDWARD, 1986).

O nível de ácidos graxos livres nos óleos de pescado é uma medida do grau de hidrólise que tem ocorrido nos glicéridos e é usado para determinar o grau de comestibilidade destes alimentos. Os óleos de alta qualidade não apresentam níveis de AGL superiores a 3% (expressados como percentual de ácido oléio). Os óleos devem ser retirados do ensilado tão pronto quanto o material apresente fluidez suficiente para ser bombeado ou centrifugado, durante a primeira semana de estocagem e a temperaturas acima de 20°C. Ao mesmo tempo, ocorre oxidação mais fácil destes AGL ocasionando o escurecimento do óleo (REECE, 1980).

O aumento dos ácidos graxos livres em ensilados de sprat se deve, em parte, à liberação dos ácidos graxos das suas sais hidrossolúveis durante a acidificação decorrente de certos ácidos orgânicos. A hidrólise ácida tem se mostrado um fator importante para a degradação deste óleos a pH baixos. Isto é devido, provavelmente, à presença de um catalizador termolábil, com atividade a pH abaixo de 7.0. Esta atividade pode ser inibida no uso de misturas de ácidos fórmico e sulfúrico para ensilar pescado (REECE, 1980).

Nos ensilados de pescado os lipídios podem ser hidrolisados a ácidos graxos livres pelas lipases. Por algum motivo, as vezes, os hidrolizados não tem boa digestibilidade das proteínas. Isto pode ser devido ao fato de que quando as proteínas estão hidrolizadas em peptídios e aminoácidos a velocidade de absorção destes seja superior à capacidade anabólica do animal, e mais aminoácidos são catabolizados. Isto pode levar a uma menor utilização da proteína alimentar para síntese de proteínas. Os ensilados mais velhos tendem a apresentar um maior nível de aminoácidos e peptídios que o mais recentes. Experimentos com ensilados de 2 a 5 meses de hidrolise mostraram um crescimento maior de salmões alimentados com os ensilados mais novos. Por outro lado os peixes alimentados com o ensilado mais velho depositaram menos lipídios na carcaça e no filé, resultando num produto mais protéico (ESPE *et al.*, 1992).

STROM & EGGUM (1981) removeram o óleo do ensilado, preparado com vísceras de bacalhau e ácidos fórmico e propiônico a 1:1, para uma concentração final de 1,5% (p/v), aumentando muito o seu valor nutricional. O NPU (peso da proteína utilizável) em farinha de vísceras de peixe é de 52% (com histidina como aminoácido limitante), enquanto que, no ensilado, passou de 60 a 70%, quando o óleo foi removido, sendo este incremento atribuído ao aumento de lisina.

As mudanças nos valores de composição de ácidos graxos, número de TBA e valor de Peróxido mostram que durante a obtenção de ensilados de pescado ocorre oxidação dos óleos. Em alguns casos o número de TBA não aumenta consideravelmente, devido, provavelmente, à reação dos compostos carbonílicos provenientes da quebra dos hidroperóxidos com os aminoácidos das proteínas hidrolizadas, o que diminuiria o valor nutricional do ensilado.

A extração dos lipídios (cloroformio-metanol) da matéria prima antes de ensilar ou o uso de antioxidante, pode minimizar o problema da autooxidação lipídica dos ensilados. Também pode ocorrer uma supressão da autólise das proteínas, quando medida pelo nitrogênio solúvel. Isto pode ser um fator favorável quando não se deseja uma grande proporção de aminoácidos livres que possam reagir com os produtos da oxidação lipídica ou formar amônia volátil. A solubilidade do colágeno permaneceu inalterada, indicando a natureza não enzimática desta desagregação (HALL & LEDWARD, 1986).

Geralmente os lipídios não são separados na prática. Na Noruega, o teor de lipídios das vísceras varia, dependendo da remoção manual do fígado, no caso do bacalhau. Ao se objetivar obter um produto de diferentes fontes de matérias primas, uniforme, convém pensar-se em um método rápido para remoção dos lipídios. Um teor aceitável de lipídios na silagem processada é de 0,5% para produtos comerciais (TATTERSON & WINDSOR, 1974).

O ensilado convencional é acidificado a um pH entre 3,9 - 4,2, o qual em três dias, a uma temperatura ambiente de 27 a 30°C, se liqüefaz suficientemente restabelecendo a camada de lipídios e conservando a atividade enzimática por muitos meses (BACKHOFF, 1976).

Os porcos abatidos após alimentação com ensilados de pescado tendem a apresentar odores desagradáveis devido ao óleo contido nos ensilados. (REECE, 1980).

HARDY *et al.*, 1983, estudaram o ensilado ácido de pescado Pacific Whiting, com 2% de ácido sulfúrico e 0,75% de ácido propiônico, neutralizado com hidróxido de sódio e desidratado em secador de tambor. O ensilado foi usado na alimentação de trutas. O tempo de ensilagem afetou adversamente o valor nutricional do ensilado. A detenção do tempo de ensilagem melhorou o valor nutricional do ensilado. A neutralização com hidróxido de cálcio pode ser feita sem reduzir o nível do zinco corporal das trutas.

Normalmente o processamento de obtenção de silagem é simples e de baixo custo. Os equipamentos necessários são: moinhos, sistemas para armazenamento e manipulação do ácido, tanques de estocagem resistentes a ácidos, ou com revestimento de borracha, ou ainda revestida de polietileno, sistema de agitação da silagem e sistema

para distribuição do produto (BAKHOFF, 1976, apud OETTERER DE ANDRADE, 1992).

Segundo RATTAGOOOL *et al.*, apud CARNEIRO (1991), a produção de ensilado utilizando a combinação de ácido sulfúrico e ácido fórmico, fornece uma alternativa viável para a substituição de farinha de peixe. Os resultados obtidos por eles, sugerem que a introdução do ensilado ácido diminui os custos de produção quando é usado na alimentação de galinhas.

A silagem de pescado mantida sob correta acidez, permanecerá à temperatura ambiente por pelo menos dois anos sem putrefação. A silagem comercial deve ficar estocada pelo menos até 6 meses pois poderá desenvolver melhor consistência e apresentar aroma agradável (TATTERSON & WINDSOR, 1973).

No entanto, além de 90 dias de estocagem de silagem, esta perde parte do seu valor nutricional devido à hidrólise de proteínas a pequenos peptídeos e aminoácidos livres, também a saponificação pode contribuir para a diminuição da qualidade. A adição de formaldeído após a liquefação se completar serve para prevenir a hidrólise contínua e a rancificação. Este também diminui o desenvolvimento de odores estranhos e a formação de bases voláteis. Este procedimento é recomendado para uso da silagem de pescado em mistura com forragem, na alimentação de ruminantes. Outros aditivos são recomendados no preparo da silagem como o sorbato de potássio para evitar o desenvolvimento de fungos e evitar a oxidação da gordura. Quando a silagem é preparada sem a adição do sorbato de potássio, pode aparecer na superfície um visível crescimento de fungos e leveduras (HAARD *et al.*, 1985; RAA & NJAA, 1989; ESPE *et al.*, 1989; LEVIN & WITKOWSKI, 1991).

2.3.2 - Ensilado biológico do pescado

A fermentação microbiana ocorre no pescado, que é substrato rico em proteínas e lipídios, desde que haja uma fonte de carboidratos adicionada à biomassa. Assim, as bactérias produtoras de ácidos láctico propiciarão a preservação à silagem.

Assim, o pescado ensilado na moderna prática utilizada tanto na Europa como na América, consta de um mistura de pescado com carboidratos, como as farinhas de cereais, de arroz e de milho, a mandioca ou o melaço colocados em contato com uma cultura inóculo de *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus*, *Streptococcus lactis*, *Sacharomyces platensis* e outros microrganismos.

A silagem de pescado, na prática, não poderá ser feita assepticamente, por isso a fermentação será dependente do balanço da população microbiana. Como no pescado ocorre um pequeno número de bactérias produtoras de ácidos láctico, deve-se adicionar estes microrganismos, que serão os iniciadores (starter) da fermentação.

O número inicial de bactérias produtoras do ácido láctico deverá estar próximo de 2×10^8 UFC por grama, conforme a temperatura.

As bactérias produtoras de ácido láctico homofermentativas crescem nos substratos que são os carboidratos e reduzem o pH para 4,5 - 4,0 em 48 a 50 horas.

Essas formas homofermentativas produzem 2 moles de ácido láctico por mol de glicose adicionada. As bactérias heterofermentativas, produzem além do ácido láctico, o álcool etílico e o dióxido de carbono, e também outras substâncias, como as que comunicam sabor amargo ao produto, a partir da frutose adicionada.

A redução do pH pode ocorrer mais rapidamente e com a utilização de menos carboidratos à temperatura de 25 a 30°C; portanto em regiões mais frias a silagem precisará de calor adicional. Com adição de melaço no início do processo, há elevação do pH da mistura de peixes, que conforme a temperatura do processo atrasa o desenvolvimento inicial bacteriano. A adição de ácido clorídrico, com a finalidade de baixar o pH, pode inibir o crescimento bacteriano (KOMPIANG, 1981; OETTERER DE ANDRADE, 1983; SHOEMAKER, 1986; OTTATI, *et al.*, 1990; LUNA *et al.*, 1990).

Os fatores que influenciam o crescimento da bactéria ácido-láctica, a velocidade pela qual o valor de pH do fermentado se reduz e a repressão do desenvolvimento dos microrganismos competidores são: (a) a espécie de pescado ou tipo de resíduo; (b) a disponibilidade do carboidrato fermentável; (c) o tipo de microrganismo utilizado; (d) as condições de anaerobiose; (e) a temperatura; (f) a concentração de cloreto de sódio; (g) a concentração de ácidos orgânicos e valor de pH; (h) a produção de outros compostos inibidores; (i) a capacidade tampão do substrato; (j) o número inicial de bactérias ácido-lácticas; e (l) o número inicial de competidores microbianos. O processo resulta num produto de aspecto líquido-pastoso, castanho, de aroma ácido suave e sabor ligeiramente amargo (OWENS & MENDOZA, 1985; MACKIE *et al.*, 1971; BERTULLO, 1989b).

A metodologia de ensilagem consiste, basicamente, em misturar fontes de carboidratos de baixo custo (melaços, vegetais ou frutas) ao pescado triturado e em aproveitar enzimas próprias do pescado ou adicionar culturas de microrganismos proteolíticos, puras ou mistas, ou preparados enzimáticos (SANCLIVIER, 1985). Segundo OWENS & MENDOZA (1985) e BERTULLO (1989b) durante o processo de preparação do ensilado biológico, a descida do pH até 4,5, em menos de 50 horas, reduz ao mínimo os fenômenos da putrefação e outras mudanças indesejáveis que sofre o pescado ao se decompor. A preservação completa-se com a formação de substâncias bacteriostáticas e bactericidas produzidas por fermentos lácticos.

O fermento láctico é composto de uma ou mais linhagens de bactérias lácticas, pertencentes ou não, ao mesmo gênero ou espécie, sendo utilizado para inocular um produto cru ou pasteurizado, a fim de iniciar uma fermentação (SANTOS *et al.*, 1986).

A acidificação do meio é conseguida pela transformação dos açúcares solúveis do material em ácidos orgânicos como: o ácido láctico, acético, butírico, etc. Bactérias ácido-lácticas são tolerantes a valores de baixo pH e isto pode ser um fator chave na competição com as bactérias putrefativas (ADAMS *et al.*, 1987).

Em ensilados produzidos com iogurte ARECHE *et al.* (1989) observaram que, o pH reduziu-se até 4,0 e a acidez, expressada em ácido láctico (%) aumentou para 3,26%. O ensilado manteve-se estável por 6 meses, com 7,5% de melaço e inóculo de 10%. As bactérias aumentaram de 10^6 a 10^9 col g⁻¹.

Ensilado fermentado preparado com tilápias inteiras, melações e *Lactobacillum plantarum* como cultura de iniciação. As mudanças observadas foram aumento do grau de autólise e produção de amônia. Adição de sal (5%) ou precocimento do material evitou a continuação do processo de hidrólise de proteínas e a atividade enzimática endógena e diminuiu a formação de bases voláteis totais. A digestibilidade aparente da matéria seca (MS), nitrogênio e energia das dietas de ensilados foi maior nos ensilados cozidos e salgados que nos ensilados crus. O pH final do produto situou-se na faixa de 4,0 a 4,5.

Os ensilados fermentados são preferidos em regiões em desenvolvimento porque evitam despesas e riscos de manipulação de ácidos que podem ser corrosivos para os equipamentos. Nestas condições os ensilados de pescado podem ser uma alternativa viável para a farinha de pescado em aquacultura (FAGBENRO & JAUNCEY, 1993).

Segundo BELLO *et al.* (1989) os ensilados elaborados com as proporções de 100 kg (pescado): 20% (substrato melação ou farinha de aveia); 15% de inóculo com *Lactobacillus plantarum* proporcionaram o melhor ensilado, com pH ao redor de 4,0. Este pH inibe o crescimento de bactérias tais como *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Achromobacter* e *Pseudomonas* (VAN WYK & HEYDENRYCH, 1985).

A fermentação microbiana altera a composição em proteínas e cinzas e provoca decréscimo no teor de lipídios, no índice de ácido tiobarbitúrico, aumentando as bases nitrogenadas voláteis e os ácidos graxos com configuração ômega três (YONE *et al.*, 1986; HOSSAIN *et al.*, 1987).

A volatilização dos componentes nitrogenados, aumenta o pH e força o microrganismo a produzir mais ácido. A produção das substâncias básicas é dependente da temperatura e não pode ser atribuída apenas à atividade microbiana. A atividade proteolítica ocorre principalmente por ação das proteases de tecidos, catepsina e, em menor grau, por proteases do tecido intestinal (LINGREN & PLEEJE, 1983).

Segundo BERTULLO (1989a), a hidrólise biológica do pescado ou de seus derivados pela ação proteolítica de uma levedura de origem marinha (*Hansemula montevideo*), permite a otimização de processo novo que modifica o substrato empregado junto com uma fonte energética de baixo custo, tendo como resultado, um produto final na forma líquida cujo conteúdo em proteína digerível; peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos, fazem sumamente conveniente para propósitos nutricionais.

O QUADRO 02. mostra diferentes grupos de microrganismos proteolíticos utilizados em ensilagem biológica (BERTULLO, 1989).

QUADRO 02 - MICRORGANISMOS PROTELÍTICOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE
ENSILADOS BIOLÓGICOS DE PESCADO (BERTULLO, 1989b).

TIPO DE ORGANISMO	AUTOR
BACTÉRIAS	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Kreuzer, 1952; Proiux, 1961;
<i>Streptobacillus plantarum</i>	Carl, 1952
<i>Streptococcus láctis</i>	Krishnaduamy, 1965
<i>Lactobacillus bulgaricus e Streptococcus</i>	Areche & Berenz, 1988
<i>Bacillus subtilis</i>	Higash <i>et al.</i> , 1965
BOLORES	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Takei, 1955 ; Tanikaua, 1958.
<i>Aspergillus oryzae flavus</i>	Jeffries, 1965
<i>Streptomyces griseus</i>	citado por Mackei, 1971
LEVEDURAS	
<i>Saccharomyces plantensis</i>	Bertullo & Perez, 1959
<i>Candida lipolitica</i>	Roels, 1969
<i>Hansenula montevideo</i>	BERTULLO, V.H., 1970

Segundo HERCULES & HEYDENRYCH.(1985), a qualidade do produto final de um ensilado fermentado naturalmente, está relacionada com a habilidade das bactérias do gênero *Latobacillus* na estabilidade, bem como a quantidade e o tempo de estocagem do material do pescado.

O óleo do pescado é eficientemente “bloqueado” no Ensilado Biológico, por causa da alta capacidade de ligação dos polissacarídeos adicionados e a lenta autólise das proteínas do pescado. A remoção do óleo é, muitas vezes, impossível na prática, não se constituindo aparentemente, um grande problema, desde que o processo de fermentação ácido láctico tenha estabilizado o óleo (RAA & GILDBERG, 1982).

GONÇALVES *et al.*(1989), realizaram estudo de alimentação de exemplares juvenis de enguia com dietas contendo 10, 15 e 20% de proteína proveniente de ensilados de pescado e com dieta controle contendo farinha de peixe e de carne. Os resultados mostraram uma maior taxa de crescimento, melhor eficiência de conversão e melhor PER para os juvenis alimentados com ensilados. O efeito benéfico pode estar relacionado ao óleo de pescado (maior teor de Poli Unsaturated Fatty Acids ômega 3) e sódio contido nos ensilados.

Os carboidratos em concentrações elevadas têm uma ação de conservação, em relação ao seu efeito osmótico, e agem como um substrato para as bactérias produzirem o ácido láctico. Segundo Chernortsec (1960), apud MACKIE *et al.* (1971), a sacarose inibe a proliferação bacteriana de microrganismos competidores, durante as fases proteolíticas iniciais, mas favorece a formação de bactérias produtoras de ácido láctico.

Visto o pescado ter poucos carboidratos livres, é necessário complementar com algumas matérias-primas, de forma a dar boa produção de ácido na fermentação (YANEZ *et al.*, 1976; OWENS & MENDOZA, 1985; ARECHE, 1989).

Vitaminas e minerais são abundantes nas partes não comestíveis. O pescado possui fósforo complexado com lípideos e enxofre, ferro e cobre complexados com proteínas. As vitaminas, aminoácidos e outros fatores orgânicos de crescimento, necessários para o desenvolvimento da bactéria láctica, derivam dos tecidos do pescado (HEEN & KREUZER, 1962).

Durante a preparação do ensilado, 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; BERTULLO, 1989a).

A autólise produz uma fase lipídica, uma fase aquosa solúvel que contém mais proteína, mas poucos lipídios e um sedimento insolúvel de proteína e de lipídios. A composição de aminoácidos da fase solúvel difere da do sedimento; a última não contém hidroxiprolina e tem relativamente altos níveis de aminoácidos aromáticos e de

cisteína/cistina. O sedimento que permanece após a autólise é muito resistente à atividade da protease presente nas vísceras.

As fases produzidas na autólise podem ser separadas por centrifugação. A fase aquosa solúvel é a mais valiosa, pois contém a maioria das proteínas e poucos lipídios. O colágeno está presente nesta fase solúvel (RAA & GILDBERG, 1976).

HASSAN & HEATH (1986) indicam que a formação de peróxido pelas bactérias lácticas, inibe o crescimento de *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Proteus*, gêneros que estão presentes nos alimentos marinhos.

A readaptação de salmões aos tanques de piscicultura após a captura está influenciada pela qualidade da dieta, a qual pode conter ensilados de pescado como fonte de proteína (DUMAS *et al.*, 1991).

A dificuldade de introdução da silagem biológica a nível rural se deve à falta de cultura "starter". Entretanto, os resíduos de pescado podem ser ensilados com sucesso utilizando, por exemplo, o melaço, sem o inóculo, mas mantendo a relação peixe/melaço de pelo menos 10:1. Uma vez que uma boa silagem biológica seja preparada, poderá ser utilizada com um inóculo para produção subsequente. Recomenda-se a seguinte combinação: 100 partes de peixe picado, 20 partes de melaço e 10 partes de silagem "madura" (KOMPIANG, 1981).

Armazenagens prolongadas não são recomendáveis, pois há evidências que os aminoácidos essenciais, tais como triptofano, são gradualmente destruídos e os lipídios são oxidados. Estes últimos provocam um "flavor" desagradável e, possivelmente, permitem o desenvolvimento de substâncias tóxicas (BERTULLO, 1989).

Estudos atuais pretendem aproveitar mais efetivamente a habilidade de certas culturas microbianas para secretar proteases que solubilizem biomassas aquáticas. Assim espécies como *Bacillus megaterium*, *Aeromonas hydrophila* e *Pseudomonas mariniglutinosa* podem produzir um significativo teor de proteases se fixadas em uma suspensão de biomassa de pescado. Os nutrientes solúveis da carne permitem que os microrganismos cresçam e liberem continuamente as enzimas no sistema. O processo de imobilização de células microbianas dentro do sistema pode ser feito com o uso de reatores onde as células são fixadas em alginato de cálcio; o rendimento de produção de silagem aumenta em 30% pois aproveita-se continuamente a produção da enzima microbiana (VENUGOPAL, 1989).

2.3.3 - Propriedades e utilização dos ensilados de pescado

A produção de ensilados de pescados se adequa às regiões em que a produção de resíduos não justifica a instalação de uma fábrica de farinha de pescado (BATTERHAM & GORMAN, 1981).

A formação de aminas biogênicas pode ser um problema em ensilados preparados com matéria prima em incipiente estado de decomposição (ESPE *et al.*, 1989).

O comportamento dos ensilados de pescados de águas frias e tropicais pode ser diferente. Ainda que as enzimas possam ser similares o grau de autólise pode estar influenciado pelas diferenças ambientais da matéria prima, especialmente as temperaturas das águas. A presença de frações de alto e de baixo peso molecular indicam que tanto endo como exopeptidases podem estar presentes. A pepsina é a única endopeptidase digestiva ativa nos ensilados ácidos, já que as exopeptidases digestivas apresentam pH alcalino de máxima atividade. Já as catepsinas musculares também podem estar ativas. Estas enzimas podem produzir, inicialmente, peptídios solúveis os quais podem ser quebrados, subsequentemente, pelas exopeptidases (HALL *et al.*, 1985a).

O sedimento obtido nos ensilados de peixes tropicais é relativamente abundante comparado com aquele de peixes de águas frias. Isto reflete a existência de um material resistente às enzimas ou a uma maior proporção de vísceras nos peixes de águas frias. O sedimento de ensilado de peixes tropicais, porém, se apresenta mais digerível que o de peixes de águas frias e está constituído por proteínas musculares entrecruzadas com pontes de sulfeto e estabilizadas por pontes de hidrogênio. Os sedimentos de ambos os tipos de pescado são similares quanto ao alto nível de lipídios e do aminoácido cistina. A fração mais resistente do sedimento dos ensilados é rica em colágeno e ossos. A ensilagem controlada pode produzir uma fonte de proteína altamente digerível sem produzir muitos aminoácidos livres que são reativos e inestáveis (HALL, *et al.*, 1985b).

Dois dos problemas com ensilados de pescado são o excesso de óleo no produto e os níveis altos de mercúrio decorrentes de peixes de grande tamanho. A composição média de alguns destes ensilados é: matéria seca 24,3%, proteína crua 16,2%, gordura 2,9%, cinzas 3,9% e 0,24 ppm de mercúrio.

O excesso de óleo pode produzir sabor desagradável na carne suína. Os peixes tendem a acumular mercúrio nos seus tecidos e este resíduo permanece nos ensilados. O máximo nível de Hg em ingredientes e alimentos animais no Mercado Comum Europeu é de 0,5 ppm. Na Austrália o máximo permitido no pescado para consumo humano é de 0,5 ppm e 0,03 ppm para os outros alimentos (BATTERHAM & GORMAN, 1981).

As proteínas solúveis dos ensilados durante a digestão contribuem com as enzimas, favorecendo a recuperação orgânica. A disponibilidade de aminoácidos livres na forma L, confere qualidade nutricional positiva aos ensilados biológicos (HIETALA *et al.*, 1979).

As análises dos aminoácidos nos produtos fermentados a base de pescado indicam que os aminoácidos essenciais estão preservados, mas, pela natureza do próprio processo, a amônia e outras bases voláteis podem se formar numa certa medida. Muitas vezes, se observa que este tipo de degradação pode ser indispensável para conferir a certos produtos sabores característicos (SAISITHI *et al.*, 1966; MACKIE *et al.*, 1971).

A silagem se liqüefaz e uma separação mecânica pode isolar uma camada de lipídios, uma camada protéica aquosa e um sedimento insolúvel. Estas fases podem ser separadas por centrifugação. Às vezes é conveniente utilizar-se uma peneiragem para aliviar o trabalho da centrífuga. Após cerca de 2 semanas, 85% da proteína da silagem está em solução. A fenilalanina e particularmente a tirosina, são levemente solúveis em

solução aquosa. Em estocagem longa estes aminoácidos precipitam devido terem sido liberados na hidrólise proteica. Os teores da metionina e de lisina são altos após uma semana. Um aumento do NPU (Net Protein Utilization) se deve ao aumento do nível da lisina (TATTERSON & WINDSOR, 1974).

O nitrogênio volátil total, constituído basicamente de trimetilamina (TMA) e amônia (NH_3), é usado como critério de qualidade para farinhas ou para materiais e a serem transformados em farinhas. O mesmo poderia ser aplicado para ensilados. O aumento do NVT e N-NH_3 durante a estocagem, nos ensilados ácidos preparados adequadamente, é discreto e, o nitrogênio-amida (proveniente da glutamina e asparagina) diminui com a mesma velocidade. N-amida pode ser calculado pela diferença entre N-NH_3 antes e após a hidrólise fraca. Adição insuficiente de ácido pode levar a um aumento do pH durante a estocagem. O N-amida proveniente dos aminoácidos glutamina e/ou asparagina são a principal fonte de NH_3 formado durante a estocagem de ensilados ácidos dispensáveis ou de menor valor biológico estas perdas não representam uma diminuição significativa do valor nutricional do ensilado. A medição do NVT, portanto, se apresenta com valor limitado para determinar a qualidade dos ensilados (HAALAND & NJAA, 1989).

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 24h. O teor de solúveis aumenta de 10 a 20% nos primeiros dias de estocagem a, por exemplo, 23°C. Após 10 dias, o aumento é de 75% e após 1 mes, de 85%. Após 3 dias de silagem 50% do total de nitrogênio está sob a forma não proteica e o teor de aminoácidos livres aumenta rapidamente durante os cinco primeiros dias (BACKHOFF, 1976; WINDSOR, 1979; STONE & HARDY, 1986).

Os aminoácidos são relativamente estáveis no ensilado de pescado. Por exemplo, somente 8% de nitrogênio amino se transforma em amônia, em ensilado de vísceras de bacalhau armazenadas por 220 dias a 27°C, o que é muito importante. Entretanto, se a amônia se forma a partir dos aminoácidos essenciais há maior reprodução do valor nutricional. O triptofano tende a se decompor nos ensilados ácidos mas a metionina e histidina são mais estáveis (BACKHOFF, 1976, RAA & GILBERG, 1982, JACKSON *et al.*, 1984; HALL *et al.* b, 1985).

As dietas para peixes podem ser classificadas como: úmidas, quando contém aproximadamente 30% de matéria seca (MS) e semi-secas, quando contém perto de 60% de matéria seca (MS). Uma dieta semi-seca baseada em ensilado de pescado é tão eficiente quanto as dietas peletizadas para promover o crescimento de salmões (LIE, 1988).

Ao comparar farinha de pescado com ensilados de pescado na alimentação de salmões foi observado que embora houvesse uma digestibilidade aparente maior para o ensilado que para a farinha, o ensilado não era tão bem utilizado para o crescimento dos peixes como a farinha. Peixe inteiro e resíduos da filetagem foram considerados materiais equivalentes em nitrogênio, desde que o grau de hidrólise tenha sido o mesmo e as dietas tenham sido igualmente balanceadas. A autólise foi menor e o crescimento maior quando os ingredientes tinham sido estocados a -5°C antes de serem ensilados.

A maioria das proteínas ingeridas pelo homem são absorvidas como di ou tri-peptídios pela mucosa intestinal e uma proporção menor como aminoácidos livres. Da mesma forma, o nível de aminoácidos essenciais no plasma de carpas e trutas permanece elevado por tempos mais prolongados quando a dieta contém proteína intacta (caseína) que quando os aminoácidos são fornecidos no estado livre da dieta. As proteínas do pescado foram prontamente digeridas e absorvidas do ensilado, porém foram utilizadas de forma menos eficiente que as da farinha de pescado. Neste sentido o ensilado pode ser inferior porque contém altos níveis de aminoácidos essenciais livres, disponíveis para absorção imediata e, o restante dos aminoácidos são absorvidos gradativamente a medida que transcorre a digestão. Isto pode provocar o metabolismo irreversível destes aminoácidos essenciais prematuramente absorvidos, sem que possam ser utilizados para síntese de proteínas (STONE *et al.*, 1989).

Há evidências que a qualidade nutricional dos ensilados pode ser melhorada limitando a hidrólise das proteínas a peptídios e aminoácidos. Detendo o processo de ensilagem após 3 a 7 dias melhorou o ganho de peso, o PER, BV e NPU em cordeiros, trutas, mink e ratos, em relação aos ensilados mais velho (STONE & HARDY, 1989).

Os ensilados de pescado podem ser usados na alimentação animal tal qual ou como ingrediente da ração após a secagem. As principais vantagens são: recuperação de vísceras e outros resíduos industriais do pescado, baixo custo, não requer operários especializados, não produz odores rejeitáveis e apresentam valor nutricional adequado para alimentação animal (MARTIN & PATEL, 1991).

As desvantagens com ensilados de pescado são a sua distribuição e comercialização. Quando o teor de óleo da matéria prima é inferior a 3% os equipamentos de extração de óleo, que são os mais dispendiosos, não são necessários. Considerando-se a distância entre produtor e consumidor verifica-se que com transporte acima de 130 Km o custo das toneladas de proteína de ensilado se torna mais oneroso que o da farinha de pescado. Os ensilados podem competir com a farinha de pescado em termos de custo de produção, devido ao baixo investimento inicial. A comercialização, porém, se torna difícil pelo alto volume, em função do alto teor de água do produto (NICHOLSON, 1976).

O transporte dos ensilados de pescado pode ser mais caro que o das farinhas de pescado mas o processo representa uma forma adequada de evitar a contaminação do ambiente utilizando resíduos do pescado (MARTIN & PATEL, 1991).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental deste trabalho foi desenvolvida no Laboratório de Carnes e Pescado do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará e nos laboratórios do Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, em St. John's, NF, Canadá.

3.1 - Material

Os materiais utilizados neste trabalho, consistiram em resíduos da filetagem do pargo, peixe da família *Lutjanidae*, classificados em três categorias: aparas das abas abdominais ("migongas"), carcaças (cabeça e esqueletos contendo restos musculares) e vísceras. As "migongas" foram provenientes da indústria local de congelamento de filé de pargo e as carcaças e vísceras de um estabelecimento retalhista de venda de pescado e filé de peixe da cidade de Fortaleza. Todos os resíduos de pescado foram transportados para o laboratório de carnes e pescado do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará e mantidos em congelamento (- 20°C) até sua utilização.

Antes do preparo dos ensilados os três tipos de resíduos foram descongelados, triturados em moinho picador de carne Siemsem, Modelo PSL 291 equipado com placa de furos de 0,8 cm de diâmetro e homogeneizados mediante agitação mecânica. Em seguida, foram retiradas amostras dos três materiais para a determinação da composição química proximal (umidade, proteína, gordura e cinzas).

3.2 - Delineamento do experimento

As matérias primas descritas acima foram denominadas tratamento A ("migongas"), tratamento B (carcaças) e tratamento C (vísceras) e submetidas à ensilagem pelo procedimento descrito no fluxograma contido na FIGURA 01 e nas FIGURAS 03 a 08. O experimento foi realizado em duas oportunidades com diferenças de 30 dias, utilizando-se os mesmos resíduos de pescado e o mesmo procedimento de ensilagem.

Foram feitas comparações entre os tratamentos quanto à composição da matéria prima e dos ensilados obtidos. As propriedades funcionais dos produtos foram também analisadas e comparadas.

Foram realizados estudos estatísticos de análise de variância e teste de TUKEY, ao nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$) para os dados da composição química proximal, de atividade de água (a_w) e das propriedades funcionais.

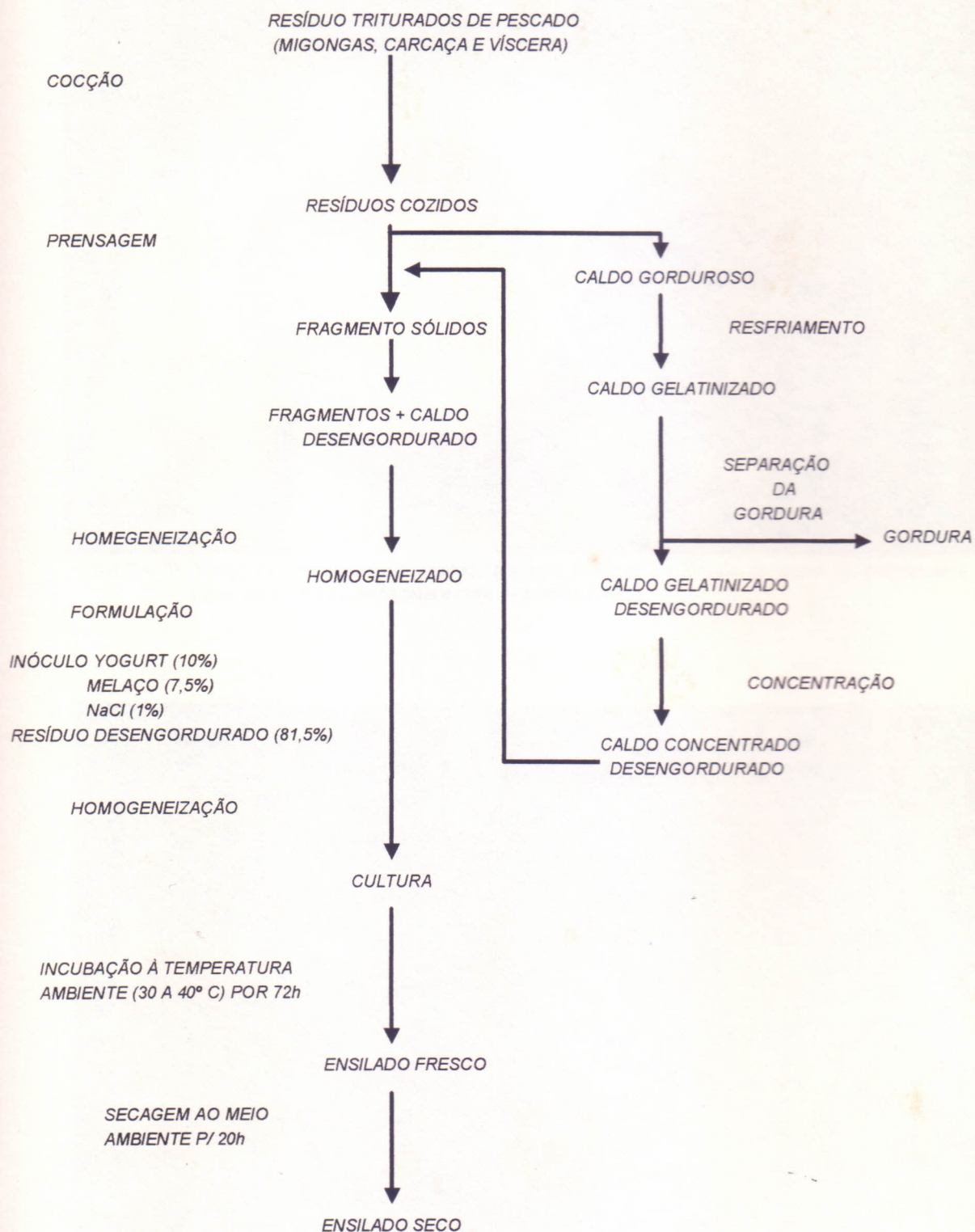


FIGURA 01 - FLUXOGRAMA DE ELABORAÇÃO DE ENSILADO BIOLÓGICO DE RESÍDUO DE PESCADO (EBRP), UTILIZANDO BACTÉRIAS DO IOGURTE (*L. bulgaricus* e *S. thermophilus*), MELAÇO E CLORETO DE SÓDIO.



FIGURA 03: Fotografia dos recipientes contendo fermento biológico de inóculo de yogurt (*L. bulgaricus* e *S. thermophilus*), melão de cana e cloreto de sódio (NaCl).

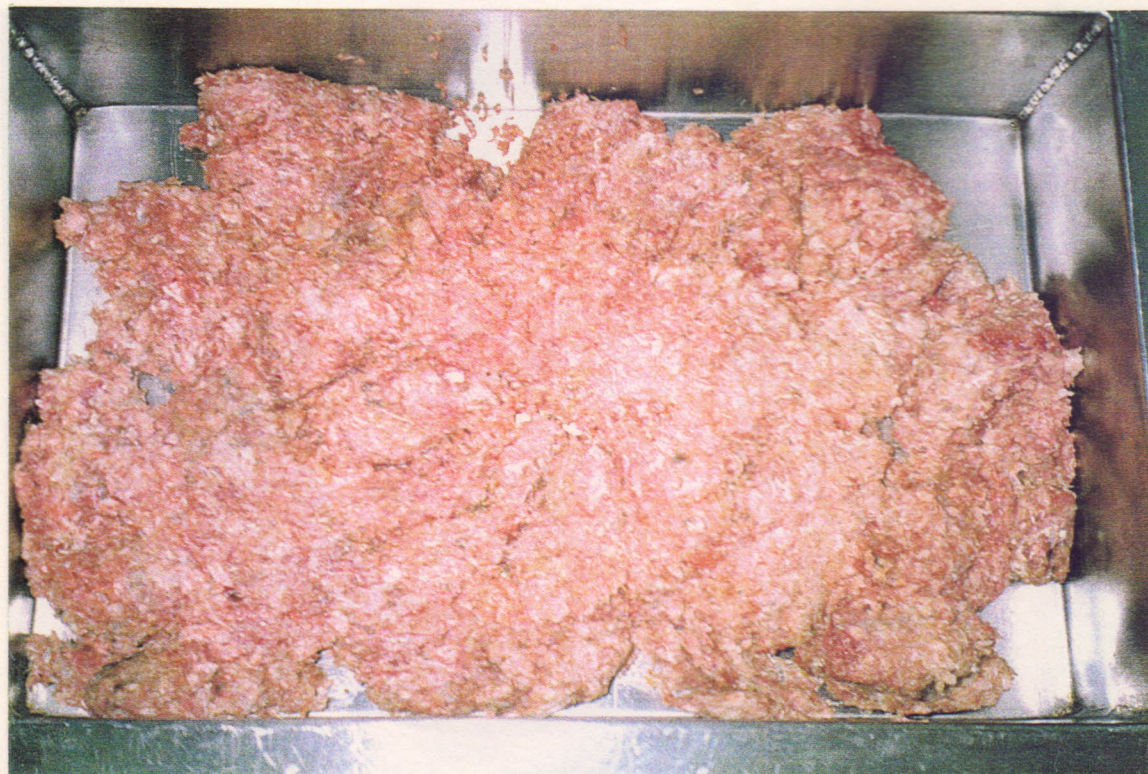


Figura 04: Fotografia do recipiente contendo a matéria prima (resíduos de pescados triturados da família Lutjanidae).



FIGURA 05: Fotografia da separação em prensa hidráulica do caldo gorduroso e resíduos sólidos.

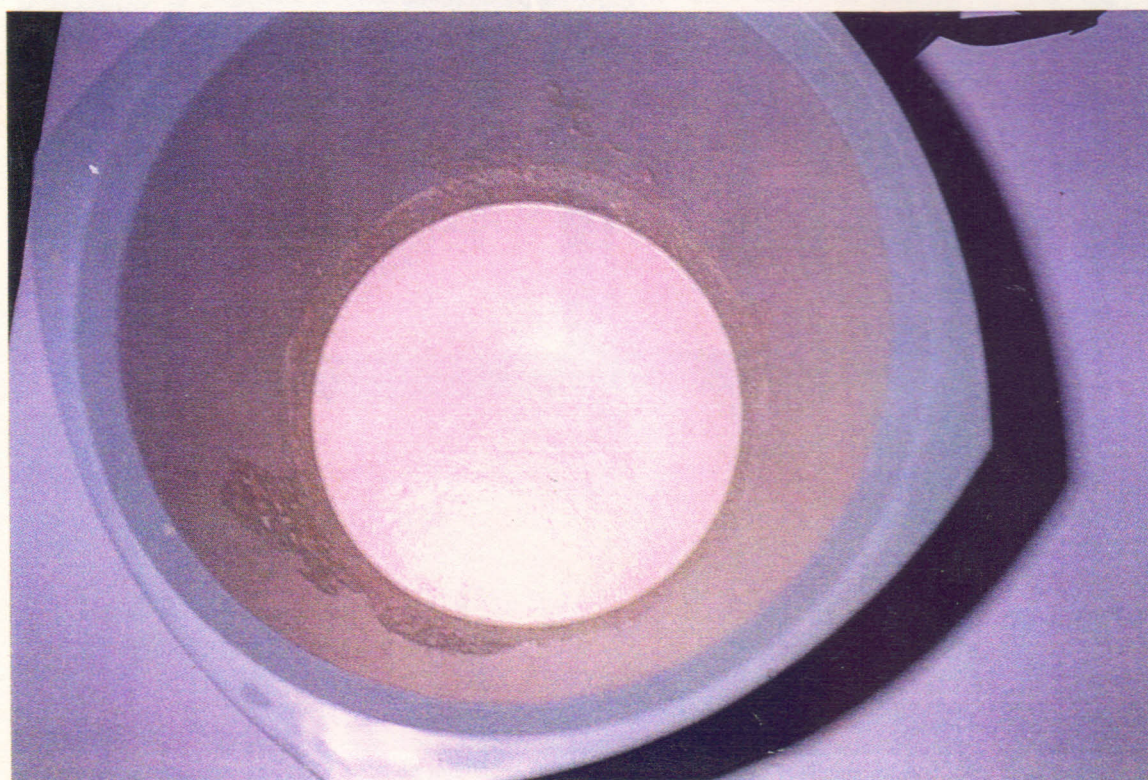


Figura 06: Fotografia do recipiente contendo ensilado de resíduos de pescado (EBRP).

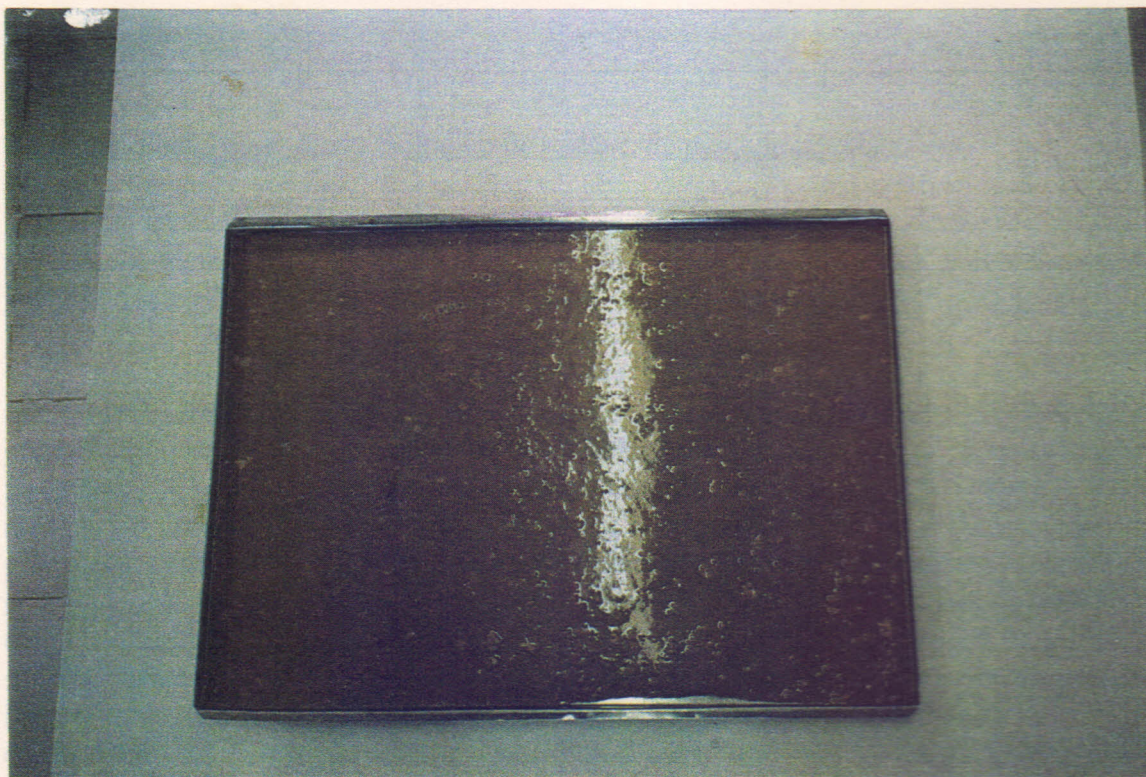


FIGURA 07: Fotografia do EBRP fresco em bandeja de aço inox, pronto para ir à secagem.

As bactérias utilizadas na fabricação do iogurte, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (bactérias do iogurte) foram obtidas na planta comercial de nome RICH, da IMA-LA do Brasil - CHR. H&L - Casei Ltda.

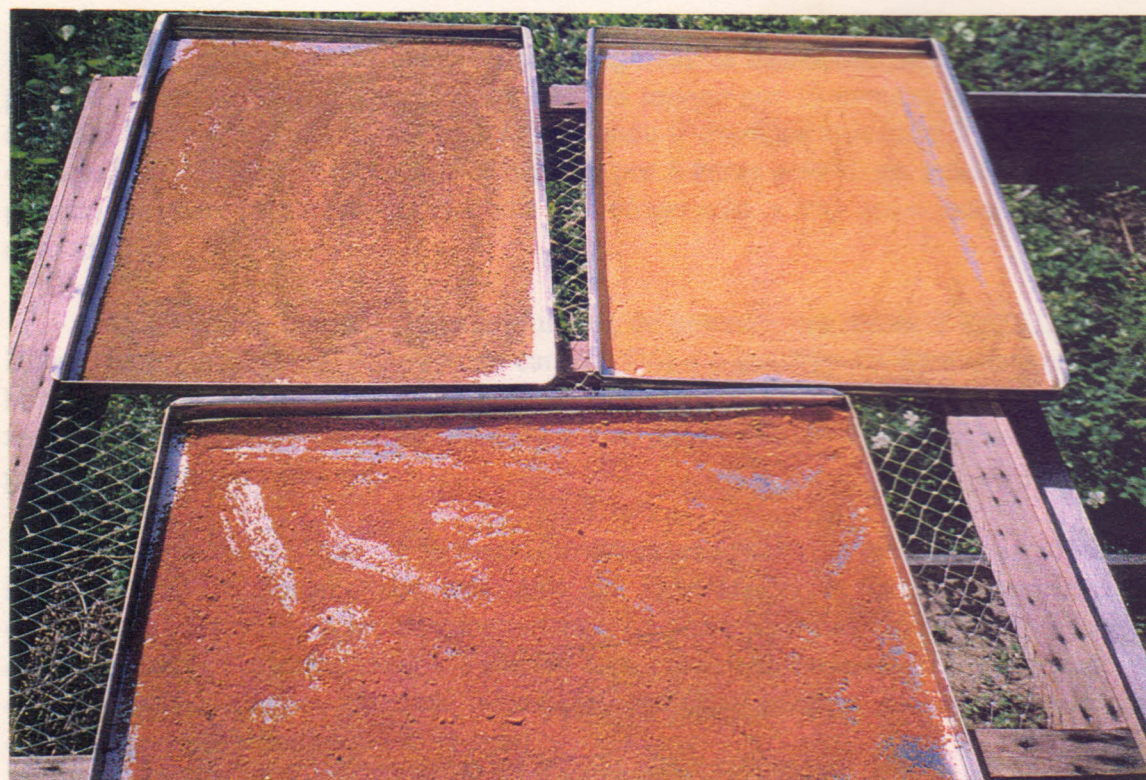


Figura 08: Fotografia do EBRP seco de migongas, carcaças e vísceras em bandejas de aço inox e suspensas em estendal, no final da secagem.

ambas expostas ao sol e ao vento em bandejas de aço inox de 1 cm de profundidade, suspensas num estendal móvel feito de madeira, com temperatura ambiente em torno de

3.3 - Elaboração do ensilado biológico de resíduo de pescado (EBRP).

Os ensilados biológicos dos três tipos de resíduos de pescado, foram formulados segundo a técnica de ARECHE & BERENZ, 1989; com algumas modificações e processados conforme o fluxograma da FIGURA 01.

Os resíduos triturados de pescado foram aquecidos até ferver e cozidos por um tempo de 30 minutos em água 100°C. Então os resíduos cozidos foram prensados em prensa hidráulica manual com medidor de pressão modelo "HAFICO". A separação dos fragmentos sólidos da parte líquida, foi realizada com os resíduos ainda quentes para facilitar a retirada do caldo gorduroso. A seguir o caldo gorduroso foi deixado resfriar à temperatura ambiente e em refrigerador a 2°C durante à noite. Posteriormente procedeu-se a separação da gordura, manualmente com espátula, do caldo gelatinizado. Após esta etapa o caldo gelatinizado desengordurado, foi concentrado e agregado aos fragmentos sólidos, para então se misturar com melaço de cana (7,5%), sal (1%), e o inóculo de iogurte (10%) o qual foi preparado previamente com leite pasteurizado tipo "C" comercial.

As bactérias utilizadas na fabricação do iogurte, foram o *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (bactérias do iogurte liofilizadas) contidas no produto comercial de nome RICH, da HA-LA do Brasil / C.H.R. Ind. e Com. Ltda.

Para a elaboração do inóculo foram seguidas as instruções para preparação do produto comercial. O leite comercial tipo "C" foi fervido por 15 minutos a 95°C e então, a seguir, foi resfriado até 45°C, logo se adicionou o envelope contendo 2 g do inóculo em dois litros de leite. A incubação se efetuou por 8 horas a 40°C em estufa. Após este período o iogurte preparado, foi mantido sob refrigeração, a 2°C, até o momento de ser utilizado.

A mistura de resíduos desengordurados de pescado, em média 2 kg (81,5%), o inóculo de iogurte (10%), o melaço de cana (7,5%) e o sal(1%), foi homogeneizada em homogeneizador universal e armazenada em baldes de polietileno com entrada de ar, a temperatura ambiente (cerca de 28 a 32°C), e agitado duas vezes diariamente, para garantir uma mistura uniforme.

Durante os seis dias de fermentação foram realizadas as medições de pH com intervalos de 24 horas. Após seis dias de fermentação, o ensilado apresentava consistência pastosa, com aroma característico suave de ácido e coloração variando do castanho claro ao castanho escuro. Também foram retiradas amostras para determinação da composição química proximal (umidade, proteína, gordura e cinzas, sendo os carboidratos determinados por diferença).

A secagem do produto final foi feita após o sexto dia de fermentação, com o ensilado exposto ao sol e ao vento em bandejas de aço inox de 1 cm de profundidade, suspensas num estendal móvel feito de madeira, com temperatura ambiente em torno de

28°C, durante \cong 20 horas descontínuas. Foram determinados os rendimentos dos ensilados secos, pela seguinte fórmula: $R\% = Pf/Pi \times 100$ onde;

R%: rendimento expresso em porcentagem

Pf: peso final

Pi: peso inicial

Foram também retiradas amostras para determinações de composição química proximal, pH, acidez em ácido láctico, atividade de água (a_w), propriedades funcionais das proteínas dos ensilados (capacidade de emulsificação, poder de hidratação, sólidos em suspensão e solubilidade da proteína), caracterização nutricional (perfil dos aminoácidos, minerais e ácidos graxos) e análises microbiológicas.

3.4 - Métodos

3.4.1 - Análises da matéria prima e dos produtos obtidos

3.4.1.1 - Determinação da composição química proximal

As análises foram efetuadas nos seguintes produtos:

- na matéria prima (resíduos triturados de pescado);
- nos ensilados líquidos;
- nos ensilados secos.

Os métodos aplicados na matéria prima, ensilados líquidos e ensilados secos foram os seguintes:

- a) UMIDADE: por aquecimento direto em estufa a 105°C até peso constante de acordo com o método A.O.A.C. 7.003 (A.O.A.C., 1980);
- b) CINZAS: por incineração em forno mufla a 550°C de acordo com o método A.O.A.C. 14.006 (A.O.A.C., 1980);
- c) PROTEÍNA: o teor de nitrogênio, foi determinado de acordo com o método miicro-Kjeldahl modificado A.O.A.C. 47.021; usando como catalisadores, tabletes de Kjeldahl, cada um contendo 5 g de uma mistura de sulfato de potássio, sulfato de cobre e selenio na proporção 100:6:1 (A.O.A.C., 1980);
- d) GORDURA: pelo método de extração com solvente (Soxhlet), usando hexano (A.O.A.C., 1980);
- e) CARBOIDRATO: Determinado por diferença em relação às cinzas, proteína, gordura e umidade, somente nos ensilados líquidos e secos.

3.4.1.2 - Determinação de pH

As análises foram realizadas nos produtos a seguir:

- nos resíduos triturados de pescado antes de ensilar;
- nos ensilados (EBRP) em diferentes etapas do processamento, a cada 24 hs.

A determinação foi efetuada em um medidor de pH DIGI-SENSE Modelo 5038-10 portátil, utilizando o eletrodo direto na amostra.

3.4.1.3 - Determinação de acidez expressa em ácido láctico

As análises foram efetuadas nos produtos a seguir:

- nos ensilados (EBRP) líquidos já com 6 dias de fermentação (produto final).

A acidez em ácido láctico foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N, utilizando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína 1,5%. A quantidade de NaOH foi multiplicado pelo fator 0,009, que foi assumido como sendo do ácido láctico na amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

3.3.1.4 - Determinação da atividade de água (a_w) nos produtos

Para esta determinação foi usado um medidor direto (Water Activity System CX-1, DECAGON DEVICES, Inc., USA) de atividade de água. As amostras de EBRP seco, devidamente homogeneizadas, foram colocadas em cápsulas de plástico e inseridas no CX-1. As leituras no medidor eram feitas após um certo período de equilíbrio da umidade. Todos os registros foram feitos à temperatura do laboratório (23° a 24°C).

3.4.1.5 - Determinação das propriedades funcionais das proteínas dos ensilados (EBRP)

As análises foram realizadas nos seguintes produtos:

- nos ensilados (EBRP) no estado seco.
 - a) Solubilidade: foi realizada, dispersando 2 gramas do (ensilado) EBRP seco em 40 ml de água destilada a 50°C e então centrifugando a 10.000 r.p.m. por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado em uma cápsula. A proteína contida no sobrenadante resultante das três separações, foi considerado como a parte solúvel da proteína. A análise da proteína foi efetuada pelo método de Lowry's (MARTIN, 1992).
 - b) Capacidade de emulsificação: determinou-se usando o método adotado por RAKESH E METZ (1973). Foi adicionado 0,5 gramas do (ensilado) EBRP sobre 30 ml de óleo e 60 ml de solução de NaCl a 3%. A mistura foi agitada em homogeneizador com alta velocidade por 30 minutos. Uma outra quantidade de 30 ml de óleo foi adicionada em seguida, numa velocidade de 20 ml por minuto e a amostra foi então agitada por 30 segundos a mais. A amostra foi centrifugada a 3.000 r.p.m. por 30 minutos. A quantidade de óleo separada da proteína foi coletada em uma proveta e o grau de capacidade de emulsificação foi expresso como quantidade de ml de óleo mantida por 0,5 gramas de amostra do (ensilado) EBRP (MARTIN, 1992).

- c) Teor de sólidos em suspensão: foi determinado, observando-se, a dispersão do ensilado em água. O método seguido foi de DUBROW *et al.* (1973), no qual 2 gramas da amostra foram colocadas em 50 ml de água destilada e agitados mecanicamente por 3 horas em agitador magnético. A suspensão foi então entornada dentro de uma proveta graduada de 100 ml deixando decantar por 90 minutos ou mais. Uma alíquota de 5 ml do sobrenadante, foi colocado para secar durante a noite a 103°C. O percentual em suspensão foi determinado a partir do peso seco (MARTIN, 1992).
- d) Poder de Hidratação: foi determinado pela pesagem de 1 grama da amostra de ensilado (EBRP) numa proveta de 25 ml. Uma tampa foi colocada sobre a abertura da proveta e a mesma foi invertida e suspensa a 10 cm sob um becker de 600 ml contendo 400 ml de água. A tampa foi então liberada totalmente, medindo-se o tempo necessário para a amostra se umedecer completamente. Para um tempo de 2 minutos ou mais, foi classificado como excelente: de 2 a 5 minutos foi considerado satisfatório. Com qualquer tempo acima de 15 minutos, foi considerada a amostra como de hidratação pobre (REKESH and METZ, 1973).

3.4.1.6 - Caracterização nutricional

As análises foram efetuadas sobre as amostras de ensilados (EBRP) seco.

a) Determinação de aminoácidos

As amostras foram hidrolisadas com HCL 6 N contendo 0,05% de fenol sob o vácuo por 24 horas a 110°C (BLACBRN, 1968). Elas foram então reconstituídas com tampão de citrato de lítio a 0,6 M e analisadas usando-se analisador de aminoácidos BECKMAN 121 MB, equipado com coluna simples. As análises para triptofano foram conduzidas através do método de PENKE *et al.* (1974) para aminoácidos selecionados. O triptofano na amostra foi calculado a partir da relação de alanina obtida pela hidrólise em mercaptoetano / ácido sulfúrico.

Finalmente os aminoácidos (cisteína) e metionina, foram determinadas pela hidrólise com ácido oxidado e calculados a partir da relação alanina (por hidrólise ácida) para alanina (por hidrólise com ácido oxidado).

b) Determinação de minerais

As análises de minerais foram realizadas de acordo com o método de FRIEL *et al.* (1990).

- Preparação da amostra

Foi pesado entre 0,1 e 0,2 g das amostras em recipiente especial (PFA Laburne, Savillex Corp., Minnesota) com 30 ml de capacidade e boca roscada, previamente lavado com ácido nítrico.

Foram adicionados às amostras 2 ml de HNO_3 concentrado e os recipientes foram selados. Os recipientes foram colocados numa chapa aquecida, e a temperatura foi elevada a 150°C por 24 horas, então eles foram resfriados, pesados (para checar perdas das amostras) e evaporados a 200°C até alcançarem peso constante. Foi então adicionado 253 μl de HNO_3 concentrado às amostras que foram resfriadas com objetivo de dissolver os resíduos. As amostras foram completadas com água para 20 gramas. O peso da água e do HNO_3 adicionado foram registrados e as soluções foram analisadas num "espectrofotômetro de absorção atômica com queimador de plasma, acoplado a um detector de espectroscopia de massa (ICP-MS)" para análises.

• Instrumentação e obtenção de dados

As análises das amostras foram conduzidas utilizando um equipamento SCIEX (Thornhill) ELAN 250 ICP-MS. As condições de operação e obtenção de dados utilizados, foram as mesmas relatadas anteriormente (FRIEL *et al.* 1990), exceto para os padrões de natureza interna os quais foram usados para corrigir efeitos de matrizes e os desvios de sensibilidade temporal dos elementos Sc, Y, Tb e Th. Para os elementos mais pesados que o Sc, os fatores de correção da matriz / tendência para cada elemento, foram calculados através da interpolação linear, com os fatores de correção entre massas medidos por dois intervalos de padrões de natureza interna; isto é, do Sc e Y para o Cu. Para os elementos mais leves que o Sc, os fatores de correção foram calculados através da extrapolação linear com massas, relacionando o fator de correção da massa para os elementos Sc e Y. Um número de isótopos foram utilizados na quantificação dos elementos incluindo ^{27}Al , ^{75}As , ^{42}Ca , ^{43}Ca , ^{111}Cd , ^{30}Co , ^{52}Cr , ^{53}Cr , ^{25}Mg , ^{98}Mo , ^{60}Ni , ^{208}Pb , ^{85}Rb , ^{118}Sn e ^{66}Zn . Os padrões de águas com marcas USGS, T-101, T-103, T-105, T-107 e T-109, foram analisadas com as amostras como precisão de monitoramento. Como o detector não tem sensibilidade para o Fe, os níveis de Fe podem ser considerados como semiquantitativos.

c) Determinação do conteúdo dos ácidos graxos

Foi analisado sobre os ésteres metílico das gorduras extraídas dos EBRP através do método de BLIGH & DYER (1959) apud HALL & LEDWARD (1986).

Um peso conhecido da amostra de gordura extraída foi dissolvido em clorofórmio (cerca de 5 mg/ml), então por evaporação foi seco cerca de 1 ml, daí se adicionou 5 ml de metanol e ácido sulfúrico concentrado (95:5 v/v). Esta mistura foi aquecida a 70°C por 2 hs, adicionou-se 5 ml de água destilada e a solução aquosa foi extraída com 3x2 ml de álcool de petróleo de ponto de ebulição de $40 - 60^\circ\text{C}$. O extrato coletado foi lavado com 5 ml de bicarbonato de sódio saturado, então foi seco por evaporação e o resíduo foi coletado em 5 ml de isoctano. Uma alíquota (5 ml) foi submetida ao cromatógrafo a gás (GENE's OT) com os seguintes parâmetros de operação: gás transportador argônio (20 ml/min); coluna de 2,1x2 mm acondicionada

com 3% SP 2310/2% SP 2300 sobre uma malha cromosófica W-AW; temperatura inicial de 190°C por 2 minutos, aumentando 2°C/min para 220°C; foi usado um detector de ionização de chama. A identificação dos ésteres foi através de comparação pelo tempo de retenção, em relação aos padrões dos ésteres de ácidos graxos.

3.4.1.7 - Análises microbiológicas

As análises foram efetuadas sobre as amostras do ensilado (EBRP) seco.

De cada amostra foram retiradas 11 gramas e diluídos em 99 ml de água peptonada, como está recomendado nos procedimentos, padrões, os testes foram realizados da seguinte maneira:

- a) Contagem de aeróbicos em placa (CAP). Também conhecida com contagem padrão em placas (CPP).
- b) Testes para coliformes.
- c) Contagem de *Staphylococci*.
- d) Pesquisa de *Salmonella*

Os testes foram realizados, de acordo com os padrões de procedimentos aprovados pelo Health Protection Branch, e Health Canada of Bacteriological Analytical Manual of FDA (A.O.A.C, 1992).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Composição química dos resíduos utilizadas e dos produtos

Os resultados da composição proximal das matérias primas utilizadas para preparação dos ensilados biológicos de resíduos de pescado nas formas líquida e seca, encontram-se na TABELA 01.

A composição química do pescado é extremamente variável de uma espécie para outra, e numa mesma espécie, dependendo da época do ano, do tipo de alimentação mais comum, do grau de maturação gonadal, sexo, e em um mesmo exemplar dependendo da parte analisada (MACHADO, 1984). Isto se reflete na composição dos resíduos de pescado da família *Lutjanidae* aqui estudada. Naturalmente, existirá uma variação na composição, uma vez que este resíduo foi classificado em migongas (aparas da filetagem), carcaças e vísceras.

Os resíduos frescos triturados de pescado (FIGURA 04) apresentaram resultados (TABELA 01), semelhantes ao do pescado inteiro, que segundo SIMNHUBER & LAW (1974), mostram em média 74,80% de umidade, 19,00% de proteína, 5,00% gordura, e 1,20 de cinzas. A diferença maior está no elevado conteúdo de cinzas das carcaças (8,83%), em comparação com o pescado inteiro, devido a grande percentagem de carbonatos e fosfatos de cálcio encontrados na cabeça e no esqueleto do pescado. O conteúdo de cinzas, relativamente alto das vísceras (4,05%), pode ser decorrente da quantidade e variedade de alimentos presentes no conteúdo estomacal dos pescados.

O estudo estatístico destes resultados está apresentado nas TABELA A-3 a A-12 do Apêndice e não mostra diferenças significativas ($P \leq 0,05$) entre os ensilados obtidos a partir de migongas, carcaças e vísceras, para umidade, gordura, cinzas e carboidratos. O nível de proteína, dos ensilados secos de migongas, porém, foi significativamente ($P \leq 0,05$) maior que os de carcaças e vísceras. É oportuno salientar que houve diferenças apreciáveis na composição dos ensilados obtidos na 1ª e 2ª oportunidades em que o experimento foi repetido (TABELAS A-1 e A-2 do Apêndice). Isto pode ter sido devido, em parte a eficiência com que o óleo dos resíduos foi separado após a fase de prensagem (FIGURAS 01 e 05).

A composição dos ensilados líquidos apresentou-se semelhante àquela dos resíduos frescos triturados (TABELA 01), sendo afetada apenas pela adição dos ingredientes de fermentação (yogurte, melão e sal, FIGURA 03). A secagem dos ensilados como era de esperar, determinou uma concentração proporcional dos componentes em decorrência da saída de água dos produtos. O conteúdo de gordura dos ensilados líquidos de vísceras 4,36% e migongas 3,91%, diminuiu em relação ao material

inicial.(resíduos frescos triturado), devido certamente a extração de gordura na fase de prensagem (FIGURA 01) e a adição de um pouco de água durante a fase de cozimento do material.

ARECHE *et. al.*, (1989), elaborando um ensilado biológico de forma semelhante à deste experimento, com resíduos de sardinha contendo 71,06% de umidade, 16,16% de proteína, 6,23% de gordura e 6,56% de cinzas, conseguiu um ensilado líquido com 65,80% de umidade, 18,74% de proteínas, 11,4 de gordura e 5,17% de cinzas e 2,36% de carboidratos.

A composição dos resíduos de sardinha apresentou diferenças muito pequenas em relação à obtida neste trabalho (TABELA 01). A diferença mais marcante foi no conteúdo de gordura dos ensilados líquidos (FIGURA 06) deste trabalho (3,91% para migongas, 8,62% para carcaça e 4,36% para vísceras) que foi menor, que aquele reportado por esses autores, devido certamente à extração de gordura.

Os ensilados secos de resíduo de pescado da família *Lutjanidae*, (FIGURAS 07 e 08) apresentaram níveis de proteínas variando de 50,00%, no de vísceras, para 64,30% no de migongas, semelhante aos de farinha de pescado, que segundo WINDSOR & BARLOW (1981), apresenta composição proximal de 8,4% para umidade, 71,5% de proteína, 7,5% de gordura e 1,3% de cinzas. No ensilado seco elaborado por ARECHE *et al.*,(1989), a composição proximal com 10,26% de umidade, 39,94% de proteínas, 16,20% de gordura, 19,26% de cinzas e 14,33% de carboidratos, ficou semelhantes ao deste trabalho, em relação aos parâmetros umidade, gordura e cinzas. Quanto ao teor de proteína foi observado que neste trabalho este índice foi menor que no do autor citado anteriormente, possivelmente em função das espécies utilizadas. O alto teor de gordura encontrado nestes produtos, variando de 11,52%, no de carcaças, para 16,16% no de vísceras, pode representar um fator de instabilidade dada a fácil oxidação dos ácidos graxos polinsaturados do pescado.

No que tange a estabilidade do ensilado uma vez produzida a fermentação láctica do mesmo, pode-se armazená-lo à temperatura ambiente em recipientes fechados durante um ano ou mais, sem que apresentem mudanças que impliquem em alteração ou modificação de suas características físico organolépticas. (ARECHE, 1989).

TABELA 01 - Composição química percentual de resíduos de filetagem do pescado da família *Lutjanidae* e de ensilados líquidos e secos obtidos a partir desses resíduos.

COMPONENTES (%)	RESÍDUOS FRESCOS TRITURADOS			ENSILADOS LÍQUIDOS (1)			ENSILADOS (SECOS) (2)		
	MIGONGAS	CARCAÇAS	VÍSCERAS	MIGONGAS	CARCAÇAS	VÍSCERAS	MIGONGAS	CARCAÇAS	VÍSCERAS
Umidade	71,66	65,29	69,74	71,24	65,24	66,81	7,07	8,39	6,82
Proteína bruta	17,32	17,49	13,29	19,40	16,83	18,39	64,30 ^a	52,33 ^b	50,00 ^b
Gordura	6,65	8,57	11,59	3,91	8,62	4,36	12,28	11,52	16,16
Cinza	1,97	8,83	4,05	2,62	6,53	6,98	13,98	22,13	22,40
Carboidratos (3)	-	-	-	2,83	2,80	3,46	2,37	5,63	4,62

(1) Não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

(2) Médias na mesma fileira com letras não iguais, diferem, significativamente ($P \leq 0,05$) entre si.

(3) Cálculo pela diferença entre 100 e a soma do resto dos componentes.

4.2 - Rendimento do processo de secagem dos ensilados (EBRP)

A secagem dos ensilados (EBRP) obtidos neste estudo reduziu o peso dos produtos para 23,3%, no de migongas, para 38,7% no de carcaças e para 31% no de vísceras, em relação ao ensilado fresco líquido (TABELA 02).

O material de menor rendimento foi aquele constituído pelas migongas, que são fragmentos de tecido muscular, com baixo teor de gorduras e alto teor de umidade (TABELA 01), desde onde a água pode ser evaporada mais facilmente. As vísceras tiveram um rendimento mais alto que as migongas provavelmente devido o maior teor de gordura dos mesmos. Finalmente o ensilado seco de carcaça apresentou o maior rendimento pelo alto teor de ossos e tecido conectivo de baixo teor de umidade (TABELA 01).

TABELA 02 - Rendimento dos ensilados biológicos de resíduos de pescado (EBRP) em relação aos ensilados úmidos após secagem feita ao sol por 20 horas descontinuas.

TRATAMENTOS DE PROCESSAMENTO	PESO DO ENSILADO LÍQUIDO (g)	PESO DO ENSILADO SECO (g)	RENDIMENTO DO ENSILADO (%)
MIGONGAS (A)	1.000	233	23,3
CARCAÇAS (B)	1.000	387	38,7
VÍSCERAS (C)	1.000	310	31,0

4.3 - Determinação de pH e acidez expressa em ácido láctico.

A utilização de fermento biológico (inóculo de iogurte) permitiu efetuar variações do pH e acidez da mistura de triturado de peixe, melão e sal. As bactérias produtoras de ácido láctico, utilizam o melão como fonte de carboidrato produzindo também pequenas quantidades de CO₂ além de outros ácidos orgânicos (ARECHE *et al.*, 1989).

O pH medido logo após a mistura dos resíduos cozidos de pescado, com os ingredientes de ensilagem (iogurte, melão e sal), variou de 5,9 no ensilado de migongas para 6,2 no de vísceras. A partir deste momento o pH decresceu nos três tipos de ensilados até o valor final de aproximadamente 4,00 (FIGURA 02 e APÊNDICE A-13). A maior diferença de pH nos tratamentos foi registrada com 24 horas de ensilagem, quando o ensilado de vísceras se manteve perto de 5,6, devido provavelmente, a

resistência momentânea da flora microbiana do trato gastrointestinal do pescado, à proliferação das bactérias lácticas.

A acidez em ácido láctico dos ensilados foi medida somente no final dos 6 dias de fermentação e apresentou resultados médios de 4,0% para as migongas, 4,05% para as carcaças e 4,1% para as vísceras.

Como os resíduos de pescado tem uma considerável capacidade tampão (WHITTENBURY, 1968 apud ARECHE, 1989), para resistir às mudanças de pH, uma fermentação lenta poderia permitir que as bactérias putrefativas atuassem originando alterações indesejáveis. Isto entretanto, não ocorre nos ensilados que utilizam as bactérias do iogurte (ARECHE *et al.*, 1989), já que em 24 horas esses autores observaram que o pH decrescia para 4,7 e em 48 horas para 4,0. Nos ensilados biológicos preparados com inóculo de iogurte neste estudo, obteve-se no final dos 6 dias de processo, valores perto de 4,0.

Quando se trabalha com cultura de microrganismos selecionados para fermentação, como *Lactobacillus plantarum* DTCC 8014, *Candida lipolitica* e *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Stroptococcus thermophilus*, é necessário controlar a temperatura, o tempo de cultivo e os meios de cultura adequados (ADMS *et al.*, 1987; BELLO *et al.* 1989; ARECHE *et al.*, (1989).

BATISTA *et al.*, (1990), num ensilado de pescado preparado com uma cultura de *Lactobacillus plantarum*, obteve pH 4,0, após 2 semanas.

As característica de pH e acidez final observados neste trabalho, após 48 horas de incubação, garantem a estabilidade dos produtos visto que, nestas condições é muito difícil que as bactérias putrefativas e patogênicas possam se desenvolver.

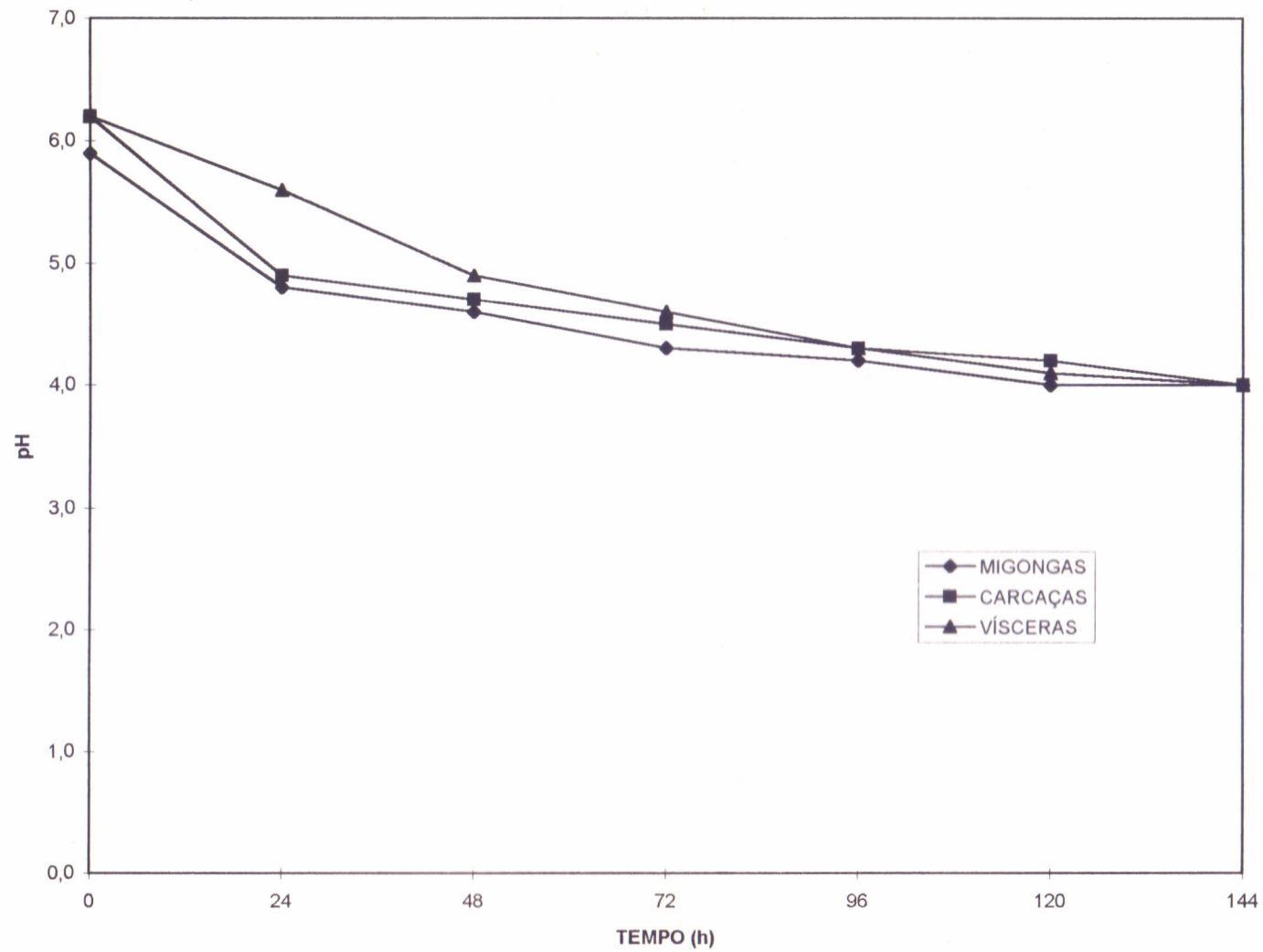


FIGURA 02 - VARIAÇÃO DO pH EM RESÍDUO DE PESCADO (MIGONGAS, CARCAÇAS E VÍSCERAS), SUBMETIDOS À ENSILAGEM BIOLÓGICA POR UM PERÍODO DE 6 DIAS (144 hs).

4.4 - Atividade de água

A atividade de água (a_w) medida no ensilado seco, apresentou valores de 0,232 para as migongas, 0,220 para as carcaças e 0,223 para as vísceras (TABELA 03), o que garante o não crescimento de bolores e leveduras (EIROA, 1981).

O estudo estatístico destes resultados estão apresentados na TABELA A-15 do Apêndice e mostra que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade ao teste F, sendo que o ensilado seco de migongas apresentou valor significativamente ($P \leq 0,05$) maior que os de carcaça e vísceras.

É importante lembrar, que os ensilados devem ser armazenados em condições que garantam a ausência de umidade, pois qualquer absorção de umidade no produto, provocaria um aumento da atividade de água (a_w), criando condições favoráveis para o desenvolvimento de microrganismos.

Os valores de a_w obtidos para os três tipos de ensilados estudados situam-se numa faixa que não permite o desenvolvimento de microorganismos. Por outro lado, valores tão baixos como os encontrados neste estudo podem contribuir para a ocorrência de reações de oxidação de gorduras.

TABELA 03 - Atividade de água de ensilados secos de resíduos de pescado da família *Lutjanidae*.

RESÍDUOS ENSILADOS	ATIVIDADE DE ÁGUA, a_w , MEDIDA À TEMPERATURA COMPREENSIVA ENTRE 23,8°C E 24,1°C.
MIGONGAS (A)	0,232 ^a
CARCAÇAS (B)	0,220 ^b
VÍSCERAS (C)	0,223 ^b

4.5 - Propriedades funcionais dos ensilados secos

As propriedades funcionais dos ensilados estão apresentados na TABELA 04. Segundo JOHNSON, (1970) as propriedades funcionais de um ingrediente alimentar, são aquelas que são capazes de dar ao alimento processado de pescado, características específicas desejáveis. Para os ensilados biológicos de pescado, as propriedades consideradas significantes foram: capacidade de emulsificação, poder de hidratação, solubilidade e sólidos em suspensão, o qual é a medida de dispersibilidade dos ensilados na água (JOHNSON, 1970, apud MARTIN *et al.*, 1992).

Os resultados obtidos neste trabalho, foram comparados com os de MARTIN *et al.*, (1992), que preparou um concentrado protéico de pescado (CPP) a partir de métodos biológicos, utilizando Capelin, *Mallotus villosus*, cujos resultados foram: capacidade de emulsificação de 57,3 ml de óleo/0,42g de CPP; poder de hidratação classificado como excelente; solubilidade de 80,5%; e sólidos em suspensão de 32,3%. Os EBRP deste trabalho apresentaram variações em relação ao CPP, quanto ao poder de hidratação e sólidos em suspensão, porém a solubilidade foi semelhante e a capacidade de emulsificação diferiu mais nos tratamentos A e C, ficando próxima nos resultados do tratamento B.

Segundo MARTIN *et al.* (1992), a capacidade de emulsificação apresentada pelos ensilados secos de carcaças faz supor que produtos preparados com estes ensilados sejam mais facilmente incorporados em alimentos que contenham óleo.

Os ensilados secos de migongas e carcaças foram classificados como "BOM" quanto ao poder de hidratação, levando próximo de 4 minutos para ficarem completamente umedecidos. Este conceito é semelhante àquele obtido para o concentrado protéico de pescado classificado como "EXCELENTE" por RAKESH & METZ, (1973) por ter umedecido em menos de dois minutos.

A solubilidade dos ensilados secos ficaram semelhantes ao do concentrado protéico de pescado. Isto indica, que o grau de hidrólise foi parcial através dos microrganismos proteolíticos; em contrapartida melhora o rendimento das propriedades funcionais nos produtos (MARTIN *et al.*, 1992).

As análises estatísticas destes resultados estão apresentados nas TABELAS A-15 a A-17 do Apêndice, e não mostraram diferença significativa para a propriedade funcional sólidos em suspensão nos três tratamentos (migongas, carcaças e vísceras). Já, com relação aos itens capacidade de emulsificação e solubilidade das proteínas, porém foi significativamente ($P \leq 0,05$) maior nos ensilados de carcaças e migongas respectivamente. Isto indica ainda, que pode ter sido em função da eficiência com que os óleos foram extraídos dos resíduos e também a eficiência da hidrólise nas migongas pelas bactérias proteolíticas ter sido melhor do que nas carcaças e vísceras.

TABELA 04 - Propriedades funcionais dos ensilados secos de resíduos de pescado da família *Lutjanidae* (1)

<u>RESÍDUOS</u> <u>ENSILADOS</u>	<u>CAPACIDADE DE</u> <u>EMULSIFICAÇÃO</u> (ml óleo/0,42g de ensilado)	<u>PODER DE</u> <u>HIDRATAÇÃO (2)</u> (min.)	<u>SOLIDOS EM</u> <u>SUSPENSÃO</u> (%)	<u>SOLUBILIDADE</u> <u>DA PROTEÍNA</u> (%)
MIGONGAS (A)	16,75 ^b	BOM	2,57 ^a	80,90 ^a
CARÇAS (B)	44,50 ^a	BOM	3,46 ^a	71,15 ^b
VÍSCERAS (C)	19,75 ^a	POBRE	2,70 ^a	76,60 ^b

(1) Médias na mesma coluna, com superescrito diferente, são estatisticamente ($P \leq 0,05$) diferentes entre si.

(2) O poder de hidratação foi classificado de acordo com a seguinte escala de tempo, em minutos (RAKESH & METZ, 1973).

- ≤ 2 min = Excelente
- 2 e 5 min = Bom
- > de 15 min = Pobre

4.6 - Caracterização Nutricional

4.6.1 - Determinação de aminoácidos

Os valores do conteúdo de aminoácidos estão apresentados na TABELA 05, analisados nas amostras de ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco nos três tratamentos (migongas, carcaças e vísceras).

A composição dos aminoácidos dos ensilados de pescado tem uma semelhança muito grande com os de farinha de peixe quando são feitos da mesma matéria prima. O ensilado de pescado é uma boa fonte de aminoácidos essenciais.

Embora possam existir algumas perdas dos aminoácidos triptofano e possivelmente da histidina, durante a estocagem de ensilados, a maior parte dos aminoácidos permanecem estáveis. Alguns aminoácidos tem uma tendência de se tornarem menos solúveis que outros.

Em função da similaridade das farinhas de pescado com os ensilados em termos de qualidade de proteínas e conteúdos de aminoácidos, os ensilados deveriam ser utilizados especialmente em dietas balanceadas de animais não ruminantes (WINTER & FELTHAM, 1983).

Nas análises de valores encontrados para o ensilado biológico de pescado seco, em comparação com a farinha de pescado preparada com peixe inteiro "verdinho" por BATISTA *et al.*, (1990), o ensilado biológico preparado com resíduos de pescados de diferentes espécies (Bagre, Corvina, Pargo, Pescadinha, Sardinha e Tainha) por LUISA ARTHUR, (1991) e o concentrado protéico de pescado (Capelin, *Mallotus villous*) elaborado por MARTIN *et al.*, (1992), os valores são muito similares ao do EBRP, ficando só um pouco abaixo dos valores do concentrado protéico de pescado nos aminoácidos essenciais Fenilalanina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Treonina e Triptofano. Com relação aos aminoácidos Treonina e Metionina os valores encontrados nos EBRP são semelhante aos do CPP, e com relação a valina o valor no ensilado é maior. Os ensilados, após hidrólise, tem as suas proteínas solubilizadas, conseqüentemente possuem maiores teores de aminoácidos disponíveis e apresentam, sobre a farinha de peixe, a vantagem de não sofrer processamento pelo calor, que pode provocar alterações nos aminoácidos disponíveis (LUISA ARTHUR, 1991). Segundo BENDER, apud LUISA ARTHUR (1991), mostrou que, na farinha de arenque os aminoácidos metionina, lisina, e triptofano são afetados pelo aquecimento.

A TABELA 05 indica que o conteúdo de aminoácidos essenciais dos ensilados de pescado nos três tratamentos (migongas, carcaças e vísceras) preparados neste trabalho, e usando o mesmo método de silagem biológica com inóculo de iogurte (bactérias proteolíticas, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*), são em escala de valores semelhantes às farinhas de pescado citadas anteriormente.

TABELA 05 - Conteúdo de aminoácidos e/ou derivativos dos ensilados secos de resíduos de pescado da família *Lutjanidae* nos três tratamento (1).

AMINOÁCIDO OU DERIVATIVO	MIGONGAS	CARCAÇAS	VÍSCERAS
Alanina	43,1	47,1	47,5
Amônia	5,3	6,6	5,6
Arginina	42,5	38,7	43,4
Ácido aspártico	66,1	57,9	61,8
Cisteína	9,6	13,4	10,9
Ácido α - amino-n-butírico	-	2,1	-
ácido γ - amino butírico	0,5	3,9	0,8
Ácido glutâmico	93,1	70,7	83,3
Cistationina	0,4	0,4	0,4
Etanolamina	0,1	0,4	0,2
Fenilalanina (2)	24,1	23,3	22,7
Glicina	52,2	66,3	68,9
Histidina (2)	13,9	13,4	12,3
Hidroxilisina	1,4	2,8	2,3
Hidroxiprolina	11,8	18,9	20,9
Isoleucina (2)	25,7	23,1	22,6
Leucina (2)	47,8	43,1	41,3
Lisina (2)	50,5	36,1	42,3
Metionina (2)	25,1	23,6	25,5
3-Metil histidina	0,6	0,1	0,1
Ornitina	0,4	0,7	0,9
Prolina	45,8	55,8	57,8
Serina	25,9	24,6	25,3
Taurina	2,3	7,8	4,5
Treonina (2)	29,1	25,5	26,7
Triptofano (2)	0,4	1,9	1,6
Tirosina	20,0	16,7	16,9
Valina (2)	29,4	29,6	28,0

(1) Resultados em mg/g de proteína.

(2) Aminoácidos essenciais.

4.6.2 - Determinação de minerais

Os ensilados de pescado podem ser uma boa fonte de minerais. Contudo, ensilado feito de vísceras tem menor conteúdo de minerais do que os ensilados feito do pescado inteiro ou cabeças e carcaças. Através de uma considerável quantia de cálcio e fósforo, mais uma quantia de outros elementos serão fornecidos através dos ensilados de pescado.

Desde que o ensilado seja ácido e a maior parte do substrato esteja liqüefeito, uma grande porção de minerais deverá prontamente estar disponível para os animais (WINTER & FELTHAM, 1983).

As análises de minerais foram realizadas nas amostras de ensilado seco (migongas, carcaças e vísceras) e foram executadas de acordo com o método de FRIEL *et al.* (1990). Os resultados mostraram que os elementos minerais cálcio, magnésio, ferro, zinco, fósforo e estrôncio, foram os elementos presentes em grandes proporções. Os resultados destas análises estão mostradas na TABELA 06.

Os resultados mostraram que foram analisados 33 elementos minerais (cinzas) e que o perfil dos mesmos é semelhante ao dos concentrados protéicos de pescado.

Outra evidência é a presença em pequenas quantidades, de metais pesados encontrados nos ensilados de resíduos de pescado. Isto se deve provavelmente, ao fato dos resíduos serem proveniente de peixes mais velhos, os quais acumulam esses metais pesados no organismo.

O perfil dos minerais indica que os ensilados preparados contém vários dos minerais requeridos para a alimentação animal.

TABELA 06 - Composição mineral dos ensilados secos de resíduo de pescado da família *Lutjanidae* nos três tratamento (1).

ELEMENTO	MIGONGAS	CARCAÇAS	VÍSCERAS
Lítio	0,89	0,48	1,14
Boro	<LD(3)	<LD(3)	<LD(3)
Magnésio	1,21	2,50	1,73
Alumínio	29,45	21,40	21,00
Silício	18,50	22,00	15,50
Fósforo(2)	12,52	24,57	40,83
Enxofre(2)	0,90	1,77	2,18
Cloro	<LD(3)	<LD(3)	<LD(3)
Cálcio(2)	15,98	37,84	83,39
Titânio	0,96	1,02	1,61
Vanádio	0,13	0,46	0,35
Cromo	3,96	0,85	0,61
Ferro	187,5	200,0	96,50
Manganês	4,88	4,75	3,39
Cobalto	0,11	0,06	<LD(3)
Níquel	13,27	0,66	1,81
Cobre	8,66	7,70	2,88
Zinco	108,5	101,95	49,05
Arsênio	0,71	1,97	0,94
Selênio	1,01	2,28	0,72
Rubídio	2,80	2,94	2,46
Estrôncio	68,95	178,3	360,15
Molibidênio	0,09	0,29	0,06
Prata	0,01	0,05	0,02
Cádmio	0,14	5,15	0,22
Estanho	22,15	27,9	30,65
Antimônio	0,01	0,03	0,01
Césio	0,03	0,03	0,02
Bário	4,51	4,43	7,45
Lantânio	0,01	0,01	0,01
Cério	0,02	0,025	0,025
Chumbo	0,62	0,45	0,56
Urânio	0,02	0,09	0,04

(1) Resultados em mg/kg.

(2) A unidade é g/kg.

(3) < LD , Abaixo do limite de detecção.

4.6.3 - Determinação do conteúdo dos ácidos graxos

Os lipídios dos alimentos, salvo raras exceções, contêm ácidos graxos de cadeia linear e de número par de átomos de carbono. Determinados ácidos graxos figuram sempre em todas as gorduras, óleos e certos lipídios, e são três o C₁₈ (oléico, linoléico e estearico) e dos C₁₆ (palmitico e palmitoléico) (FENNEMA, 1985).

Os ácidos graxos saturados mais comuns são: mirístico, palmitico e esteárico. Nos óleos de pescado o ácido palmitico representa de 15 a 20% (FENNEMA, 1985).

HARPER (1982), considera que os ácidos graxos insaturados podem ser subdivididos em monoinsaturados (ácidos oléico, palmitoléico, etc.) e polinsaturados (ácidos linoléico, linolênico, etc.).

Os valores do perfil dos ácidos graxos encontrados nos ensilados biológicos de resíduos de pescados (família *Lutjanidae*), secos, nos três tratamentos (migongas, carcaças e vísceras), estão mostrados na TABELA 07.

HALL & LEDWARD (1986), observaram em um estudo sobre as mudanças que ocorrem na composição dos ácidos graxos saturados, que os mesmos não se oxidam e o seu percentual na composição do perfil dos mesmos ácidos aumentam. Os ácidos graxos monoinsaturados se oxidam muito lentamente e o seu percentual na composição aumenta lentamente, já os ácidos graxos polinsaturados se oxidam rapidamente assim, o seu percentual na composição decresce.

Na análise de valores encontrados para o ensilado biológico de resíduo de pescado (Família *Lutjanidae*) seco, em comparação com o perfil de ácidos graxos estudados por HALL & LDWARD (1986), as quantidades foram semelhante aproximadamente nos ácidos graxos C14:0 e C20:5; foram maiores nos ácidos graxos C16:0, C18:0 e C18:1; e foram menores nos ácidos graxos C16:1, C18:2, C18:3, C20:4, C22:5 e C22:6. Comparando os valores do EBRP seco com o ensilado ácido preparado pelos autores citados anteriormente, verificou-se que o EBRP seco apresentou valores ligeiramente inferiores para a maioria dos ácidos graxos insaturados e ficando com valores maiores ou igual para a maioria dos ácidos graxos saturados. Isto indica provavelmente, ser em decorrência da forma de processamento do ensilado e principalmente, em função da extração dos lipídios durante a fase de prensagem da matéria prima cozida.

TABELA 07 - Conteúdo de ácidos graxos dos óleos dos ensilados secos de resíduo de pescado da família *Lutjanidae* nos três tratamentos (1).

ÁCIDO GRAXO		MIGONGAS (2)	CARÇAÇAS (2)	VÍSCERAS (2)
Mirístico	C14:0	6,615	5,974	7,648
Palmítico	C16:0	31,804	29,334	29,993
Palmitoléico	C16:1	5,227	5,195	5,664
Estearico	C18:0	12,362	12,410	11,674
Oléico	C18:1	24,315	23,751	21,569
Linoléico	C18:2	0,653	0,748	0,794
Linolênico	C18:3	0,146	0,235	0,277
Araquidônico	C20:4	0,234	0,572	0,358
Eicosapentaenóico	C20:5	0,535	0,901	0,605
Docosapentaenóico	C22:5	0,260	0,395	0,199
Docosahexaenóico	C22:6	1,223	2,508	1,354

(1) Resultados em percentual (%).

(2) Representa a média dos valores .

4.7 - Análises Microbiológicas

O resultado das análises estão apresentados na TABELA 08 e foram realizados para as contagens padrão de bactérias em placas, *Coliformes*, *Staphylococcus* e presença de *Salmonella*, nos ensilados secos de resíduos de pescado (família *Lutjanidae*). Foram realizadas as análises somente após o ensilado ter sofrido o processo de secagem.

Como padrões para produtos alimentícios em geral considera-se que 10^3 UFC/g (SOARES, 1987) em um produto, já é apresentado como um perigo à saúde pública. Os valores apresentados na TABELA 08, estão bem abaixo dos padrões estabelecidos. Vale salientar que todos os ensilados se mantiveram preservados, com o aroma característico. O não crescimento de microrganismos, de deve, certamente em

função da baixa atividade de água nos ensilados, do pH baixo da acidez elevada dos produtos (TABELA 03 e FIGURA 02).

TABELA 08 - Contagem padrão de bactérias em placas, contagem de *Coliformes*, Contagem de *Staphylococcus* e pesquisa para detecção de *Salmonella*, em amostras de ensilados biológicos de resíduos de pescados secos da família *Lutjanidae* nos três tratamentos (1).

CONTAGEM DE:	EBRP		
	MIGONGAS	CARÇAÇAS	VÍSCERAS
CPP	7×10^2	11×10^2	3×10^2
Coliformes	Nil	Nil	Nil
Staphylococcus	Nil	Nil	Nil
Salmonellas	Ausência (-ve)	Ausência (-ve)	Ausência (-ve)

(1) Resultados em UFC/g

5 - CONCLUSÕES

1. A tecnologia de ensilados por fermentação láctica, utilizada neste trabalho para elaboração do EBRP, mostrou-se apropriada para obter-se um produto que pode ser utilizado como ingrediente na elaboração de rações para alimentação de animais.
2. As bactérias do yogurt (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) mostraram grande eficiência para produzir mudanças rápidas de pH e acidez sobre os resíduos cozidos, quando se utiliza como substrato o melão de cana.
3. O ensilado biológico por fermentação láctica, mostrou que é um produto, que pode utilizar os resíduos de pescado provenientes da pesca industrial e artesanal e transformá-los em um concentrado protéico de alto valor biológico, podendo ser produzido a nível artesanal.
4. A secagem dos ensilados até cerca de 8% de umidade, apresentou um elevado teor dos nutrientes, grande redução na quantidade de água e facilidade de transporte e armazenagem.
5. A persistência nos teores de lipídios dos ensilados, acima dos teores das farinhas de pescado, sugere a necessidade de uma maior eficiência na extração da gordura dos resíduos cozidos, quando na fase de prensagem.
6. Tendo em vista os resultados obtidos na caracterização química, funcional e nutricional dos ensilados biológicos de resíduos de pescado (Família *Lutjanidae*), e sua comparação com os dados encontrados na literatura, podemos concluir que, estes produtos podem se constituir numa das principais soluções, na equação do problema que consiste, o que fazer dos resíduos oriundos das pescarias e ainda contribuir para solucionar a grande demanda por concentrados protéicos de pescado, para a indústria de rações animais.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C., *Official Methods of Analysis*, 13th edition, ed. W. Horwitz. association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1980.
- ADAMS, M. R.; COOKE, R. D. TWINDDY, D.R. Fermentation parameters involved in the production of lactic acid preserved fish-glucose substrates. *Int. J. Sci. Technol.* (22): 105-114. 1987.
- ARECHE, T. N. & BERENZ, V. Z.. Ensilados de pescado utilizando bacterias lacticas (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*). Lima, Peru: Instituto Pesquero del Perú, 1987. 26p.
- ARECHE, T. N.; BERENZ, V. Z. & LEON, O. G.. Desarrollo de ensilado de residuos de pescado utilizando bacterias lacticas del yogur. In 2da. *CONSULTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS EN AMERICA LATINA* Montevideo, Uruguay, 11-15 de Diciembre de 1989. FAO, FII 819/RLAC/6.1989.
- BACKHOFF, H.P.. Some chemical changes in fish silage. *J. Food. Technol.* 11:353-363. 1976.
- BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL, 7th. Edition, *AOAC international*, 2200 Wilson , Suite 400, Arlington, va 22201 - 3301, U.S.A. 1991.
- BATISTA, I.; NUNES, M.L.; MENDES, R. & NUNES, M.C.. Preparation, Characterization and Quality Control of different Kinds of Fish Silages. NATO Scientific Affairs Division, Science for Stability Programme. *TECHNICAL REPORTS*. INIP. Portugal. 1990.
- BATTERHAM, E.S.; GORMAN, T.B.S. Fish silage holds promise for fishermen and farmers. *Australian Fisheries*, Sidney, December. p. 12-15. 1981.

- BELLO, R. A.; GUTIERREZ, M.; OTTATI, M. y MARTINEZ, A.. Estudios sobre la elaboración de ensilados de pescado por vía microbiana en Venezuela. In *2da. CONSULTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS EN AMERICA LATINA*. Montevideo, Uruguay, 11-15 de Diciembre de 1989. FAO. FII 819/RLAC/3. 1989.
- BERTULLO, E. Empleo de las producciones animales acuáticas en la elaboración de ensilados. *Rev. Lat. Tec. Alim. Pesq.* Lima, Perú, No.1. p. 27-30, jun. 1984.
- BERTULLO, E.. Desarrollo del ensilado de pescado en America Latina. In *2da. CONCLUTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS EN AMERICA LATINA*. Montevideo, Uruguay, 11-15 de Diciembre de 1989. FAO. FII 819/RLAC/2. 1989 b.
- BERTULLO, E.. Ensilado de pescado en la pesquería artesanal. In *2da CONSULTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS EN_FII 819/RLAC/4. AMERICA LATINA*. Montevideo, Uruguay, 11-15 de Diciembre de 1989. FAO. 1989 a.
- BLIGH, E.G. AND DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917. 1959.
- BOYCE, C. O. L.. *Novos handbook of practical biotechnology*. Ed. NOVO. p. 63-69. 1986.
- CARNEIRO, A. R. X.. *Elaboração e uso de ensilado biológico de pescado na alimentação de alevinos de tambaqui, Colossoma macropomum (CUVIER, 1818)*. Tese de Mestrado. INPA/FUA. Manaus. 81p 1991.
- COMPENDIUM OF ANALYTICAL METHODS, Vol 2 and 3, *Health Protection Branch Methodos of Microbiological Analysis of Food*, Canadian Government Publishing Centre, Ottawa, Ontarico, Canadá, KIA OL2. 1992.
- DISNEY, J. G. and HOFFMAN, A.. A dried fish silage product. In: *PROCEEDINGS OF THE TORRY RESEARCH STATION SYMPOSIUM ON FISH SILAGE*, Aberdeen. V: 1-13. 1976.
- DISNEY, J.G. & JAMES, D. Fish Silage Producton and its Use. *FAO. Fish. Rep.*, Roma 230:105p. 1979.

- DISNEY, J.G.. Development of a fish silage/carbohydrate animal feed for use in the tropics. *Trop Sci.* London. 20(2):129-144. 1978.
- DUBROW, D.L. KRAMER A. AND MCPHEE, A.D. Effects of temperature on lipid extraction and functional properties of fish protein concentrate. *J. Food Sci.*, 38, 1012-1015. 1973.
- DUMAS, J., BARRIÈRE, L., GODARD, J., KAUSHIL, S.J. Reconditioning of Atlantic salmon (*Salmo salar*) kelts with silage-based diets: growth and reproductive performance. *Aquaculture*, Amsterdam, v.96, p. 43-56. 1991.
- EIROA, M.N.U.. Microorganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. *BOL. SBCTA*, Campinas, 23 - (2/4):141-160. 1989.
- ESPE, M.; RAA, J & NJAA, L.R. Nutritional value of stored fish silage as protein source for young rats. *J. Sci Food Agric.*, London 49: 259-270, 1989.
- ESPE, M., HAALAND, H., NJAA, L.R. Autolysed fish silage as a feed ingredient for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Biochem. Physiol.*, vol 103A, n° 2, p. 369-372. 1992.
- FAGBENRO, O., JAUNCEY, K. Chemical and nutritional quality of raw, cooked and salted fish silages. *Food Chemistry*, London, vol. 48, p. 331-335. 1993.
- FAO. El estado mundial de la agricultura y la alimentacion. *COLLECCION FAO, Agricultura* (21). Roma. 163p. 1989.
- FATIMA, R. and QADRI, R.B.. Studies on the preparation of fish silage. *TROP.SCI.* 27 (1): 1-8. 1987.
- FENNEMA, O.R. *Introdução a la ciência de los alimentos*. Editora Reverté. S.A., Barcelona, 445p. 1985.
- FREEMAN, H.C., HOOGLAND, P.L. Acid ensilage from cod and haddock ofal. Technological Station, Halifax, Note n° 149, s/d.
- FRIEL, J., SKINNER, C., JACKSON, S.E. and LONGREICH, H.P. Analysis of Biological reference materials prepared by microwave dissolution using inductively coupled plasma mass spectroscopy. *Analyst*, 115, 269-273. 1990.
- GONÇALVES, J.F., SANTOS, S., PEREIRA, V.S., BAPTISTA, I., COIMBRA, J. The use of fish silage as an ingredient for eel fingerling nutrition. *Aquacultura*, Amsterdam, v.80, p. 135-146. 1989.

- GREEN, J.H.; MATTICK, J.F. Possible methods for the utilization or disposal of fishery solid wastes. *Journal of Food Quality*, vol. 1, p. 229-251. 1977.
- HAALAND, H.; NJAA, L.R. Total volatile nitrogen - a quality criterion for fish silage. *Aquaculture*, Amsterdam, v.79, p. 311-316. 1989.
- 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.*, London, v.36, p. 229-241. 1985.
- HALL, G.M.; KEEBLE, D.; LEDWARD, D.A., LAWRIE, R.A. Silage from tropical fish 1. Proteolysis. *Journal of Food Technology*, London, v.20, p. 561-572. 1985b.
- HALL, G.M.; LEDWARD, D.A. Silage from tropical fish 3. Lipid behaviour. *Journal of Food Technology*, London, v.21, p. 45-54. 1986.
- HALL, G.M.; LEDWARD, D.A.; LAWRIE, R.A. Silage from tropical fish 2. Undigested fraction. *Journal of Food Technology*, London, v.20, p. 573-580. 1985a.
- HARDY, R.W.; SHEARER, K.D.; STONE, F.E.; WIEG, D.H. Fish silage in aquaculture diets. *J. World Maricul. Soc.*, vol. 14, p. 695-703. 1983.
- HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. *Manual de química Fisiológica*. 5ª ed., Atheneu Editora São Paulo Ltda, São Paulo: 736p. 1982.
- HASSAN, T.E. and HEATH, J.L.. Biological fermentation of fish waste for potencial use in animal and poultry feed. *AGRI. WASTES*, 15: 1-15. 1986.
- HEEN, E. and KREUZER, R.. 1962. Fish in Nutrition FAO. FISHING NEWS (BOOKS). London. 447p. 1962.
- HERCULES, J. V. W. & HEYDENRYCH, C.M.S. The production of naturally fermented fish silage using various Lactobacilli and different carbohydrate sources. *J. Sci. Food. Agric.* 36:1093-1103. 1985.
- HIETALA, P.K.; WESTERMARCK, H.W. and JAARMA, M.. 1979. Identification of antimicrobial alpha-hydroxyacids in *Lactobacillus plantarum* - Fermented animal protein. *NUTR. METAB.* 23 (3): 227-234. 1979.
- HOOD, L. F. & ZALL, R.R. Recovery, utilization and treatment of seafood processing wastes. *Adv. Fish Sci and Technol.*, p: 355-61, 1979.

- HOSSAIN, M.A.; FURUICHI, M. & YONE, Y. POV, TBA and VBN values and proximate, amino acid, and fatty acid compositions of scrap meals fermented with fungi. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 53(9): 1629-32, 1987.
- IBGE. *Anuário Estatístico do Brasil*. 1989.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Vol I - Métodos químicos e físico químicos de análises de alimentos. São Paulo. 1985. 317 p.
- JACKSON, A.J.; KERR, A.K. and COWEY, C.B.. Fish silage as a dietary ingredient for salmon: I nutritionl and storage characteristics. *AQUACULTURE*. 38:211-220. 1984.
- JOHNSON, D.W. Oilseed proteins-Properties and applications. *Food Products Development*, 1, 78-82. 1970.
- KOMPIANG, I. P. . Fish silage - its prospect and future in Indonesia. *Ind. Agric. Res. & Dev. J.*. 3 (1): 0-12, 1981.
- KOMPIANG, I. P.; ARIFUDIN, R. & RAA, J.. Nutritional value of ensilaged by catch fish from Indonesian shrimp trawlers. *Adv. Fish Sci. Technol.*.5: 349-52, 1979.
- LAUBIER, L. Aquaculture: biological aspects and economic consideration. Lausanne, Nestle Products Technical Assistance, p. 25-39. 1979
- LESSI, E.; LUPIN, H. M. & CARNEIRO, A. R. X.. Obtencion de ensilado biológico. In *2da. CONSULTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS EN AMÉRICA LATINA*. Montevideo, Uruguay, 11-15 de Diciembre de 1989. FAO. FII 819/RLAC/2. 1989.
- LEVIN, R.E., WITKOWSKI, R. Characteristics and identity of obligately aerobic spoilage yeasts from fish silage. *Journal of Applied Bacteriology*, Trumbull, vol. 71, p. 354-359. 1991.
- LEVIN, R.E., WITKOWSKI, R., MEIRONG, Y. Research Note: Preparation of fish silage ith proshporic acid and potassium sorbate. *Journal of Food Biochemistry*, Trumbull, v.12, p. 253-259. 1989.
- LIE, φ; WAAGBφ; R., SANDNES, K. Growth and chemical composition of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed dry silage-based diets. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 69, p. 343-353. 1988.

- LINDGREN, S. & PLEJE, M. Silage fermentation of fish waste products with lactic acid bacteria. *J. Sci. Food Agric.* 34: 1057-67, 1983.
- LO, K.V.; LIAO, P.H.; BULLOCK, C. Silage production from salmon farm mortalities. *Aquacultural Engineering*, London, v,12, p. 37-45. 1993.
- LOWRY, O.H.; ROSEMBROUGH, N.J.; Farr, A. L. and Randall, R.J. *J. Biol. Chem*, 193, 265-275. 1951.
- LUISA ARTHUR, M. S. R. . Utilização de ensilado biológico de pescado na elaboração de uma ração para desenvolvimento de pós-larva de camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*, M.). Tese de Mestrado. UFRJ. Rio de Janeiro. 1991.
- LUNA, G.; REY, J.L.; CASTRO, L.M.; CORONA, N.; FERREIROS, E. & LUZARDO, M. Elaboracion y analisis de harinas codeshidratadas de vegetables y especies de pescado subutilizadas. I: Codeshidratados de cereal-pescado. *Arch. Latinoam. de Nutr.*, Guatemala, 40 (3): 395-407, 1990.
- LUPIN, H. M. . Ensilado biológico de pescado. Una propuesta para la utilización de residuos de la pesca continental en América Latina. *FAO*, COPESCAL/83/10. 1983
- MACHADO, Z. L. tecnologia de recursos pesqueiros: Parâmetros, processos, produtos. Recife, SUDENE, p.276. 1984.
- MACKIE, I. M.; HARDY, R. et HOBBS, G.. Poisson Fermenté et Produits Derivés. *RAPPORTS DE LA FAO SUR LES PECHEES*. FIIP/100 Rome. 62 p. 1971.
- MACKIE, I.M.. Potencial production of powdered and liquid fish products for human consumption and animal feed. *TECHNICAL CONFERENCE ON FISHERY PRODUCTS, TOKYO*. *FAO*. FII/FP/73/E-13, April, 1-11. 1973.
- MARTIN, A.M. & PATEL T.R. Bioconversion of wastes from marine organisms. In: MARTIN, A.M., (ed.) *Bioconversion of waste materials to industrial products*. London: Elsevier Applied Science, 1991. 510 p. p. 417-440.
- MARTIN, A.M. & PATEL, T.R. *Studies on the production of fish protein concentrates by biological methods*. St Johnis, NF.: MUN/Food Science Program/ Department of Biochemistry (Project Report), 77 p. 1992.
- NESTAAS, E. Paper presented at Nor Fishing 86, 11th International Fisheries Fair, Trondheim, Norway. 1986.

- NICHOLSON, R.J.A. Economic factors affecting fish silage production in the U.K. *Proceedings of the Torry Research Station Symposium on Fish Silage*, Aberdeen, 1976.5p
- NOGUEIRA, M. R. F.. Estudo do comportamento da produção e do consumo de pescado no Estado do Ceará. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 1992.
- OETTERER de ANDRADE, M. - Pescado fermentado. In: *Biotecnologia, - Alimentos e bebidas produzidos por fermentação*, São Paulo, Blucher, v.5, p. 176-202, 1983.
- 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. *Depto. Ciên. Tecnol. Agroind. da ESQAQ/USP*. 25Pp. 1992.
- OTTATI, M.G. & BELLO, R.A. Ensilado microbiano de pescado en America Latina. I. Valor nutritivo del producto en dietas para cerdos. In: Consulta de Expertos sobre Tecnologia de Productos Pesqueros en America Latina. 2. Montevideo. Roma, FAO. 22p. 1989.
- OTTATI, M; GUTIERREZ, M & BELLO, R . Estudio sobre la elaboration de ensilado microbiano a partir de pescado proveniente de especie subutilizadas. *Arch. Latinoam. de Nutr.*, Guatemala, 40(3): 411-25, 1990.
- OETTERER DE ANDRADE, M. *O processo de fermentação do pescado (Anchevamento)*. UFC/LABOMAR/Dpto. Eng^a de Pesca/ Curso de especialização em Tec. de Prod. Pesq. Fortaleza, 35 p. 1991.
- OETTERER DE ANDRADE, M. Pescado fermentado. In: AQUARONE, E., BORZANI, W. & LIMA, U. de A. *Alimentos produzidos por fermentação*. São Paulo, Blucher, p. 176-2202. 1983.
- OWENS, J.D. and MENDOZA, L.S.. Enzymically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. *J. Food Technol*, 20:273-293, 1985.
- PENKE, B., FERENCZE, R. AND KOVACS, K. A new acid hydrolysis method for determining tryptophan in peptides and proteins. *Analyt. Biochem.*, 60, 45-50. 1974.
- RAA, J. & GILDBERG, A. Autolysis and proteolytic activity of cod viscera. *J. Food Technol.*, 11: 619-28, 1976.

- RAA, M.E.J. & NJAA, L.R. Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. *J. Sci. Food Agric.*, 49: 259-70, 1989.
- RAA, J. and GILDBERG, A.. 1982. Fish silage: A Review. *CRC CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION*. Vol. 16:383-419. 1982.
- RAKESH, J. AND METZ, A. Acid precipitate fish protein isolate exhibits good functional properties. *Food Product Development*, 7 (8), 18-24. 1973.
- RATTAGOOL, P.P.; WONGCHINDA, N.; SWACHATHAMWONGRATANA, S. Fish silage in Thailand: feeding trials on Broiler Chickens. In. *Fish Silage Production and Its Use. FAO. Fish. Rep.*, Roma, 230: 55-58. 1980.
- REBECA, B.D.; PEÑA - VERA, M.T. & DIAS - CASTAÑERA, M. Production of fish protein hydrolysates with bacterial proteases; yield and nutritional value. *J. Food Sci, Champaign*, 56(2):309-14, 1991.
- REECE, P. Control and reduction of free fatty acid concentration in oil recovered from fish silage prepared from sprat. *J. Sci. Food Agric.*, London, V.31, p. 147-155. 1980.
- REGENSTEIN, J. M.. Fish waste: resource recovery workshop. *IFT Sea food Products Technology Groupe*. 8(2): 5-6, March, 1990.
- RODRIGUEZ, T.; MONTILLA, J. J. & BELLO, R. A.. Ensilado de pescado a partir de la fauna de acompañamiento del camarón. I elaboración y evaluación biológica. *Arch. Latinoam. de Nutr.*, Guatemala, 40(3): 426-38, 1990.
- RODRIGUEZ, V.G.; FEDOR, A.B.; CONTRERAS, P.R.; FLORES, G.R.; NAVARRO, G.G., EZQUERRA, M.A.; PÉREZ, C.L. Definición tecnológica para a elaboración de hidrolizado de proteína a partir de la fauna acompañante del camarón de la plataforma cubana. In: *Consulta de Expertos Sobre Tecnología de Productos Pesqueros en America Latina*. 2. Montevideo, Roma, FAO. 12p. 1989.
- SAISITHI, P.; KASEMSARN, B.O.; LISTON, J. and DOLLAR, A.M.. Microbiology and Chemistry of Fermented Fish. *J. Food Sci.* March/April, 31 (2):105-110.
- SANCLIVIER, M.. L'Industrie alimentaire halieutique. ENSA (RENNES). Vol II:308-366. 1985.
- SANTOS, A.L.L.; AZEVEDO, J.L.; CHOPIN, M.C. Streptococcus lácticos e seus bacteriófagos. *Bol Ital, Campinas, São Paulo*, 23(1): 17-59. 1986.

- SHOEMAKER, S. The use of enzymes for waste management in the food industry. In: HARLANDER, S.K. & LABUZA, T.P. *Biotechnology in food processing*. New Jersey, Noyes Publications, 1986. p. 259-69.
- SIMNHUBER, R.O. e LAW, D.K. Vitamina A and oil content of fish and viscera. *Ind. Eng. Chem.* 39:1309 - 3110. 1974.
- SOARES, J.B. et alli. *Microbiologia básica*, Edições UFC, Fortaleza, 1987.174p.
- STANTON, W. R.. Food fermentation in the tropics. Chapter 7, *Microbiology of Fermented Foods*. Vol. 2:193 - 211. 1984.
- STONE, F.; HARDY, R.; SHEARER, K. and SCOTT, M.. Utilization of fish silage by rainbow trout *Salmon gaideneri*. *Aquaculture* 76:109. 1989
- STONE, F.E & HARDY, R.W. Nutrition value of acid stabilised silage and liquefied fish protein. *J. Sci. Fd. Agric.*, 37:797-803. 1986.
- STONE, F.E.; HARDY, R.W.; SHEARER, K.D.; THOMAS, M. Utilization of fish silage by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.76,p. 109-118. 1989.
- STROM, T & EGGUM, B.O. Nutritional value of fish viscera silage. *J. Sci. Food Agric.*. 32: 115-20, 1981.
- TATTERSON, I. N. & WINDSOR, M.L. Fish silage. *J. Sci. food Agric.*. 25: 369-79, 1974.
- TATTERSON, I.N. & WINDSOR. Fish byproducts, fish meal and fish silage. *J. Proc. Biochemistry*, 13(1):22-24. 1978.
- TATTERSON, I.N.. The preparation and storage of fish silage. In: *PROCEEDING OF THE TORRY RESEACH STATION SYMPOSION ON FISH SILAGE*, Aberdeen. I:1-14.1976.
- TATTERSON, IN. and WINDSOR, M.L.. Fish Silage. Ministry of Agricultura and Food, Torry Research Station. *TORRY ADVISORY NOTE* N° 64. 1973.
- VAN WYK, H.J. & HEYDENRYCH, C.M.S. The production of naturally fermented fish silage using various *Lactobacilli* and different carbohydrate sources. *J.Sci. Fd. Agric.*, 36: 1093-1103. 1985.

- VENUGOPAL, V.; ALUR, M.D. & NERKAR, D.P. Solubilization of fish proteins using immobilized microbial cells. *Biotech. and Bioeng.*, New York, 33: 1098-103, 1989.
- VILLELA DE ANDRADE, M.F.; FRANQUEIRA DA SILVA, J.M.. Obtención de ensilado de residuo de sardinha, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) e su empleo en la formulación de raciones de mínimo costo para aves. In: *2da. CONSULTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRUDUCTOS PESQUEROS EN AMERICA LATINA*. 2. MONTEVIDEO. ROMA, FAO.19p. 1989.
- WIGNALL, J & TATTERSON,I. Fish silage. *Process. Biochemistry*, Jan/Fev: n.p. 1977.
- WINDSOR, M & BARLOW, S. *Introduccion a los Subproductos de Pequeria*. Españã, Acribia. 204p. 1984.
- WINDSOR, M.L. Production of liquid fish silage for animal feed. In: KREUZER, R. *Fishery products*. London, FAO/Fishing News, p. 140-44. 1979.
- WINDSOR, M.L. Production of liquid fish silage for animal feed. Newfoundland and Labrador Development corporation Ltd. In: *Present State of the Art of Liquid Fish Silage*. Nov. 1978. p. 140-144.
- WINDSOR,M. and BARLOWW,S.. Introduction to fishery by products. In: *Fish Silage*. Chapter 5. Fishing News Books. U.K.1981.
- WINTER, K.A & FELTHAM, L.A.W. Fish silage: The protein solution. *Research Branch Agriculture Camada*, St Johnis, 16 p. 1983.
- YANEZ,E.; BALLESTER,D. and MONCKEBERG,F.. 1976. Enzymatic fish protein hydrolyzate: chemical composition, nutritive value and use as a supplement to cereal protein.*Fd. Prodc. Dvelop.* 41(6): 1289-1292. 1976.
- YONE, Y.; HOSSAIN, M.A.; FURUICHI, M. & KATO, F. Effect of fermented and fermented - resteamed scrap meals on growth and feed efficiency of red sea bream. *Bul. Jap. Soc. Sci Fish.*, 52 (3): 549-52, 11986.

APÊNDICE

TABELA A-1.- Composição química percentual de resíduos de filetagem do pescado da família *lutjanidea* e de ensilados líquidos e secos obtidos a partir desses resíduos na primeira oportunidade.

<u>COMPONENTES (%)</u>	<u>RESÍDUOS FRESCOS TRITURADOS</u>			<u>ENSILADOS LÍQUIDOS</u>			<u>ENSILADOS SECOS</u>		
	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>
Umidade	71,66	65,29	69,74	68,61	62,70	68,16	5,63	7,18	8,03
Proteína bruta	17,32	17,49	13,29	19,77	15,48	16,73	60,50	51,37	50,80
Gordura	6,65	8,57	11,59	4,12	10,71	2,93	12,96	8,93	15,92
Cinza	1,97	8,83	4,05	2,82	6,24	9,15	18,36	28,15	22,00
Carboidratos (1)	-	-	-	4,68	4,97	3,00	2,65	4,37	3,25

(2) Cálculo pela diferença entre 100 e a soma do resto dos componentes.

TABELA A-2.- Composição química percentual de resíduos de filetagem do pescado da família *lutjanidea* e de ensilados líquidos e secos obtidos e partir desses resíduos na segunda oportunidade.

<u>COMPONENTES (%)</u>	<u>RESÍDUOS FRESCOS TRITURADOS</u>			<u>ENSILADOS LÍQUIDOS</u>			<u>ENSILADOS SECOS</u>		
	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>
Umidade	71,66	65,29	69,74	73,86	67,77	65,45	8,50	9,60	5,60
Proteína bruta	17,32	17,49	13,29	19,03	18,20	20,04	68,10	53,30	49,20
Gordura	6,65	8,57	11,59	3,70	6,54	5,78	11,60	14,10	16,40
Cinza	1,97	8,83	4,05	2,41	6,83	4,81	9,60	16,10	22,80
Carboidratos (1)	-	-	-	1,00	0,66	3,92	2,20	6,90	6,00

(1) Cálculo pela diferença entre 100 e a soma do resto dos componentes.

TABELA A-3. - Análise de variância dos dados de umidade do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) líquido, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIACÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	38,72	19,36	1,91 NS
RESÍDUOS	3	30,31	10,10	
TOTAL	5	69,03		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-4. - Análise de variância dos dados de proteína do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) líquido, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIACÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	6,64	3,32	1,05 NS
RESÍDUOS	3	9,45	3,15	
TOTAL	5	16,09		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-5.- Análise de variância dos dados de gorduras do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) líquido, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	27,18	13,59	3,13 NS
RESÍDUOS	3	13,00	4,33	
TOTAL	5	40,18		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-6. - Análise de variância dos dados de cinzas do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) líquido, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	23,07	11,53	3,58 NS
RESÍDUOS	3	9,68	3,22	
TOTAL	5	32,75		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F

TABELA A-7. - Análise de variância dos dados de carboidratos do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) líquido, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	0,54	0,27	0,049 NS
RESÍDUOS	3	16,48	5,49	
TOTAL	5	17,02		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-8. - Análise de variância dos dados de umidade do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	2,57	1,28	0,38 NS
RESÍDUOS	3	10,00	3,33	
TOTAL	5	12,57		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-9. - Análise de variância dos dados de proteína de ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	238,92	119,46	57,15 *
RESÍDUOS	3	6,28	2,09	
TOTAL	5	245,20		

(*) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TESTE DE TUKEY

A diferença mínima significativa (d.m.s) = 6,04

$$a - b > d. m. s$$

Pode-se concluir, que a média "a" é significativamente maior que a média "b".

TABELA A-10. - Análise de variância dos dados de gordura do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	24,81	12,40	2,58 NS
RESÍDUOS	3	14,41	4,80	
TOTAL	5	39,22		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-11. - Análise de variância dos dados de cinzas do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	91,54	45,57	1,22 NS
RESÍDUOS	3	111,29	37,09	
TOTAL	5	202,83		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-12. - Análise de variância dos dados de carboidratos do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na composição química proximal.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	11,07	5,53	2,33 NS
RESÍDUOS	3	7,13	2,37	
TOTAL	5	18,20		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-13 - Variação média do pH dos EBRP da família Lutjanidae em relação ao tempo de fermentação.

TEMPO DE FERMENTAÇÃO EM HORAS (h)	<u>pH DOS ENSILADOS (TRATAMENTOS)</u>		
	<u>MIGONGAS</u>	<u>CARCAÇAS</u>	<u>VÍSCERAS</u>
0	5,9	6,2	6,2
24	4,8	4,9	5,6
48	4,6	4,7	4,9
72	4,3	4,5	4,6
96	4,2	4,3	4,3
120	4,0	4,2	4,1
144	4,0	4,0	4,0

TABELA A-14 - Análise de variância dos dados de atividade de água (aw) do ensilado biológico de pescado (família *Lutjanidae*) seco.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	0,000170334	0,000085167	30,62 (*)
RESÍDUOS	3	0,0000085	0,000002833	
TOTAL	5	0,000178834		

(*) Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TESTE DE TUKEY

A diferença mínima significativa (d.m.s) = 0,007032645

$$a - b > d. m. s$$

Pode-se concluir, que a média "a" é significativamente maior que a média "b".

TABELA A-15 - Análise de variância dos dados de capacidade de emulsificação do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizado na determinação das propriedades funcionais.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	927,75	463,87	1.855,48 (*)
RESÍDUOS	3	0,75	0,25	
TOTAL	5	928,50		

(*) Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TESTE DE TUKEY

A diferença mínima significativa (d.m.s) = 2,08

$$a - b > d.m.s$$

Pode-se concluir, que a média "a" é significativamente maior que a média "b".

TABELA A-16 - Análise de variância dos dados de sólidos em suspensão do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na determinação das propriedades funcionais.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	0,94	0,47	7,46 (NS)
RESÍDUOS	3	0,19	0,063	
TOTAL	5	1,13		

(NS) Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA A-17 - Análise de variância dos dados de solubilidade do ensilado biológico de resíduo de pescado (família *Lutjanidae*) seco, utilizados na determinação das propriedades funcionais.

CAUSAS DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	2	95,50	47,75	26,09 (*)
RESÍDUOS	3	5,49	1,83	
TOTAL	5	100,99		

(*) Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

TESTE DE TUKEY

A diferença mínima significativa (d.m.s) = 5,65

$$a - b > \text{d.m.s}$$

Pode-se concluir, que a média "a" é significativamente maior que a média "b".