

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**PROCESSAMENTO, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SILAGEM DA DESPESCA
DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*,
LINNAEUS) EM DIETAS EXPERIMENTAIS COM RATOS**

Pêreses

Este exemplar corresponde a versão final da Tese defendida por Ronaldo de Oliveira Sales e aprovada pela Comissão Julgadora em

Ronaldo de Oliveira Sales

11.12.95.

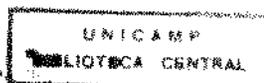
Orientador: Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Olavo Rusig



Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

Campinas, julho de 1995.



UNIDADE...
 N.º CHAMADA: T/UNICAMP
 V. 00527
 Ex. 1
 TOMBO BC/250-
 PROC. 604796
 C D
 PREÇO R\$ 14,00
 DATA 25/03/94
 N.º CPD...

CM-00085367-2

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

Sa32p

Sales, Ronaldo de Oliveira

Processamento, caracterização química e avaliação nutricional da
 despesca da Tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*,
 Linnaeus) em dietas experimentais com ratos / Ronaldo de Oliveira
 Sales. -- Campinas, SP: [s.n], 1995.

Orientador: Admar Costa de Oliveira

Co-orientador: Olavo Rusig

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas

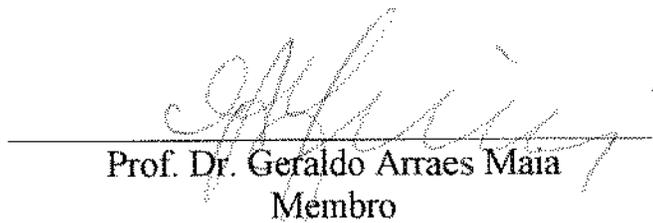
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Silagem. 2. Tilápia. 3. (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*,
 Linnaeus). 4. Análise química. 5. *Valor nutritivo. 6. Rato como
 animal de laboratório. I. Oliveira, Admar Costa de. II. Rusig, Olavo.
 III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de
 Alimentos. IV. Título.

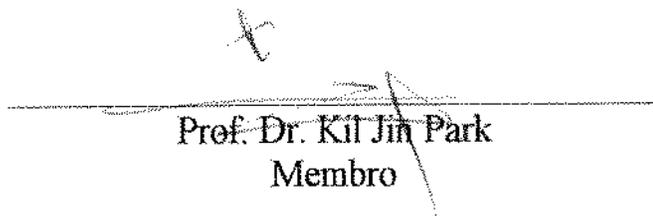
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
Orientador



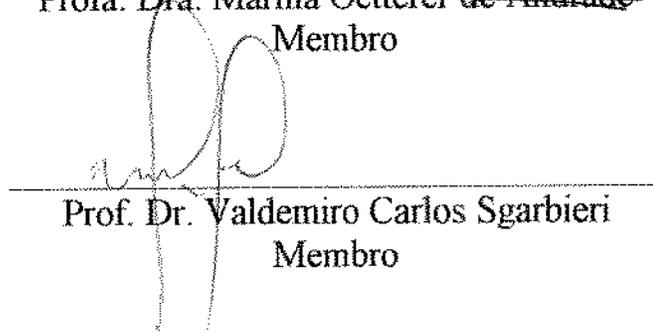
Prof. Dr. Geraldo Arraes Maia
Membro



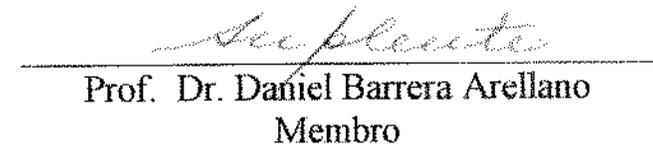
Prof. Dr. Kil Jin Park
Membro



Profa. Dra. Marília Oetterer de Andrade
Membro



Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri
Membro



Prof. Dr. Daniel Barrera Arellano
Membro



Prof. Dr. Nelson José Beraquet
Membro

11.12.95

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Admar Costa de Oliveira, pela orientação inteligente e segura, pela amizade, dedicação, confiança e apoio sempre presente, na orientação e execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Olavo Rusig, Co-Orientador, pela contribuição e sugestões apresentadas.

Ao Dr. José Gilberto Jardine, chefe adjunto do NTIA, pela colaboração na realização dos ensaios da composição em aminoácidos.

Ao Professor Dr. Nelson J. Beraquet Diretor do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pelas informações relevantes ao trabalho.

Ao Professor Dr. José de Anchieta Moura Fé, nosso reconhecimento e agradecimento pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Kil Jin Park, pela amizade, apoio e solidariedade.

À Professora Sônia Maria Pinheiro de Oliveira, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, pela colaboração na realização das análises estatísticas.

À Bióloga Judite G. L. Guimarães e ao Químico Fernando Guimarães, pelo auxílio e acompanhamento na realização das análises químicas e orientação nas técnicas de extração de lipídios e análise dos ácidos graxos.

Ao Prof. José Cals Gaspar Junior Chefe do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, pela inestimável ajuda quando do meu afastamento deste Departamento.

À Bibliotecária Creusa Kasume Nomura pela revisão das referências bibliográficas.

À Ana Lourdes Neves Gandara, pelo auxílio e acompanhamento nas análises microbiológicas.

À Prof. Dra. Hilary de Menezes Castle do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas pela revisão do resumo.

Ao Pessoal do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, pelo auxílio e sugestões recebidas nas análises da composição em aminoácidos.

À Aracilda, Valdecí, Jonas e Nadeje pelo apoio e carinho recebidos.

A meus pais "in Memoriam"

A minha esposa, Armênia
Aos Nossos Filhos,
Alexandre
Michelle
Ricardo

Dedico

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE TABELAS.....	XIII
RESUMO.....	XVII
SUMMARY.....	XXI
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Geral	5
2.2. Específicos.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
3.1. Considerações sobre a tilápia nilótica.....	7
3.1.1. Origem e distribuição geográfica.....	7
3.1.2. Disponibilidade da tilápia como matéria-prima no Brasil.....	8
3.1.3. Composição química da tilápia do Nilo.....	8
3.1.4. Composição em aminoácidos na silagem de tilápia do Nilo...	10
3.2. Silagem de peixe.....	14
3.2.1. Histórico.....	14
3.2.2. Princípios e métodos de elaboração da silagem de peixe.....	16
3.3. Composição química da silagem de peixe.....	21
3.4. Disponibilidade de minerais na silagem de peixe.....	24
3.4.1. Cálcio.....	25
3.4.2. Fósforo.....	26
3.4.3. Magnésio	28
3.4.4. Ferro	28
3.4.5. Manganês.....	29
3.4.6. Outros minerais	29
3.5. Oxidação lipídica na silagem de peixe.....	30

3.6. Utilização da silagem de peixe na formulação de rações para suínos nas fases de crescimento e terminação.....	36
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1. Material	42
4.1.1. Fontes protéicas.....	42
.....4.1.2. Caseína comercial.....	43
.....4.1.3. Ração comercial.....	43
4.2. Delineamento experimental.....	43
4.3. Armazenamento.....	44
4.4. Determinações químicas.....	47
4.4.1. Umidade	47
4.4.2. Proteínas (N x 6,25).....	47
4.4.3. Lipídios (extrato etéreo).....	47
4.4.4. Cinzas	47
4.4.5. Minerais.....	48
4.4.5.1. Cálcio	48
4.4.5.2. Magnésio.....	48
4.4.5.3. Fósforo	48
4.4.5.4. Ferro	49
4.4.6. pH.....	49
4.4.7. Nitrogênio não-protéico	49
4.4.8. Nitrogênio alfa-amínico.....	50
4.4.9. Bases voláteis totais.....	50
4.4.10. Viscosidade	50
4.4.11. Análises microbiológicas.....	51
4.4.12. Lipídios totais.....	51
4.4.13. Determinação e análise dos ácidos graxos	51
4.4.14. Extração dos lipídios totais	52
4.4.15. Preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos dos lipídios totais	52
4.4.16. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.....	53
4.4.17. Índice de peróxido.....	54
4.4.18. Determinação do N ^o de TBARS - Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico	55
4.4.19. Composição em aminoácidos.....	55
4.4.20. Determinação do triptofano.....	56
4.4.21. Ácidos graxos livres em lipídios na silagem.....	56

4.5. Ensaio Biológicos.....	57
4.5.1. Material e animais para os ensaios.....	57
4.6. Preparo das dietas.....	57
4.6.1. Dieta para ratos.....	57
4.6.2. Procedimento de ensaio.....	60
4.7. Avaliação nutricional da silagem - Determinação dos quocientes de eficiência alimentar e de eficiência protéica (Ensaio A).....	61
4.8. Utilização da silagem nas fases de crescimento e terminação baseada em experimento com ratos (Ensaio B).....	62
4.9. Avaliação nutricional da complementação protéica da caseína com as silagens integral e parcialmente desengorduradas (Ensaio C).....	65
4.10. Parâmetros avaliados nos ensaios.....	65
4.10.1. Quociente de eficiência protéica líquida (NPR).....	65
4.10.2. Determinação da digestibilidade e do valor biológico.....	66
4.11. Análises estatísticas	68
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5.1. Composição química da tilápia utilizada.....	69
5.2. Composição centesimal da silagem integral e desengordurada	71
5.3. Composição em minerais	74
5.4. Valores de pH.....	77
5.5. Alterações na fração protéica.....	79
5.5.1. Conteúdo de nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total.....	79
5.5.2. Conteúdo de nitrogênio alfa-amínico.....	82
5.5.3. Aminoácidos	84
5.5.4. Bases voláteis totais.....	89
5.6. Viscosidade.....	91
5.7. Contagem de mesófilos.....	95
5.8. Alterações no óleo.....	97
5.8.1. Composição em ácidos graxos do óleo extraído da silagem à temperatura ambiente.....	99
5.8.2. Teor de malonaldeído estimado pela técnica do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)	103
5.8.3. Valores do índice de peróxido.....	105

5.9. Ensaio biológicos.....	108
5.9.1. Avaliação nutricional da silagem - Determinação dos quocientes de eficiência alimentar e de eficiência protéica líquida (Ensaio A).....	108
5.9.2. Utilização da silagem nas fases de crescimento e terminação baseada em experimento com ratos (Ensaio B).....	114
5.9.3. Avaliação nutricional da complementação protéica da caseína com as silagens integral e parcialmente desengorduradas (Ensaio C).....	131
6. CONCLUSÕES.....	147
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	151
8. ANEXO 1.....	171
9. ANEXO 2.....	172
10. ANEXO 3.....	173
11. ANEXO 4.....	174

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Etapas de iniciação, propagação e terminação no processo de oxidação de lipídios.....30
- Figura 2.** Mecanismos de oxidação lipídica e formação de produtos.....32
- Figura 3.** Fluxograma do processamento da silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus).....46
- Figura 4.** Valores de pH na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 180 dias.....78
- Figura 5.** Formação de nitrogênio não-protéico na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22 - 25°C, e pH 3.8, durante 30 dias81
- Figura 6.** Valores do nitrogênio alfa-amínico na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 180 dias83
- Figura 7.** Valores das bases voláteis totais na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 180 dias90
- Figura 8.** Viscosidade da silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 27°C e pH 3.8, durante 30 dias.....93

- Figura 9.** Contagem total de mesófilos na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 160 dias.....96
- Figura 10.** Valores dos ácidos graxos livres na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 180 dias98
- Figura 11.** Teores de malonaldeído na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 180 dias104
- Figura 12.** Valores do índice de peróxido na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3.8, durante 180 dias107
- Figura 13.** Regressões lineares para as relações entre o peso médio de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento em dias, para diversas dietas balanceadas, quando alimentados com dietas cujo conteúdo protéico (10%) foi fornecido por caseína, silagem nova, silagem antiga e dieta aprotéica. Utilizaram-se grupos de 8 animais, com peso médio inicial de $61,42 \pm 3,09$ g.....110
- Figura 14.** Regressões lineares para as relações entre o peso médio de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em dias, para rações utilizadas na fase de crescimento para suínos, cujo conteúdo protéico (16%) foi fornecido por Ração controle (milho + farelo de soja),(RC 1), Ração controle + 5% de silagem (RC 2), Ração controle + 10% de silagem (RC 3) e Ração controle + 15% de silagem (RC 4). Utilizaram-se grupos de seis animais, com peso médio inicial de $53,35 \pm 3,10$ g.....118

Figura 15. Regressões lineares para as relações entre o peso médio de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em dias, para rações utilizadas na fase de terminação para suínos, cujo conteúdo protéico (14%) foi fornecido por Ração controle (milho + farelo de soja) (RT 1), Ração controle + 5% de silagem (RT 2), Ração controle + 10% de silagem (RT 3) e Ração controle + 15% de silagem (RT 4). Utilizaram-se grupos de seis animais, com peso médio inicial de $53,35 \pm 3,10$ g..... 119

Figura 16. Regressões lineares para as relações entre o ganho médio de peso de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em dias, para diversas dietas balanceadas de caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 15% SSO e aprotéica. Utilizaram-se grupos de seis animais, com peso médio inicial de $44,27 \pm 2,03$ g..... 133

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Composição percentual de silagens de vários peixes com o uso de diferentes ácidos 22
- Tabela 2.** Conteúdo de cálcio na silagem de peixe feita de vários recursos de resíduos de peixe..... 26
- Tabela 3.** Conteúdo de fósforo em silagens elaboradas com vários resíduos de peixe..... 27
- Tabela 4.** Formulação básica utilizadas para o preparo das dietas utilizadas nos ensaios biológicos segundo AOAC (1975)..... 58
- Tabela 5.** Formulação da mistura salina utilizada na elaboração dos ensaios biológicos segundo AOAC (1975)..... 59
- Tabela 6.** Formulação da mistura (*) vitamínica para fortificação de dietas utilizadas nos ensaios biológicos, segundo a Nutritional Biochemicals Corporation (1977/78)..... 60
- Tabela 7.** Composição percentual das rações de crescimento para suínos (25 - 60kg) utilizadas pelos ratos no ensaio biológico..... 63
- Tabela 8.** Composição percentual das rações de terminação para suínos (60 - 98kg) utilizadas pelos ratos no ensaio biológico..... 64
- Tabela 9.** Dados sobre umidade, proteína total (N x 6,25), lipídios e cinzas da tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, São Paulo, quando da fase de despesca..... 70

- Tabela 10.** Dados sobre a composição aproximada da silagem integral de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, S.P., quando da fase de despesca..... 72
- Tabela 11.** Dados sobre a composição aproximada da silagem desengordurada de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, S.P., quando da fase de despesca..... 74
- Tabela 12.** Composição em Ca, P, Mg e Fe dos diferentes lotes da silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, S.P., quando da fase de despesca..... 76
- Tabela 13.** Conteúdo de aminoácidos (g/16g N) e escore químico das fontes protéicas utilizadas para a elaboração das dietas, cuja determinação foi feita por troca iônica..... 88
- Tabela 14.** Composição em ácidos graxos do óleo extraído da silagem de tilápia do Nilo..... 101
- Tabela 15.** Ensaios de avaliação nutricional com silagem de tilápia, em ratos Wistar previamente adaptados às dietas, de caseína, silagem nova, silagem antiga ($10,2 \pm 0,07\%$ de proteína) e Nuvilab (17,4% de proteína) como fontes protéicas, e aprotéica, durante 10 dias..... 111
- Tabela 16.** Valores médios de dieta consumida, variação de peso e peso das fezes em ratos Wistar, previamente adaptados s rações, com fontes protéicas contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 dias de experimento com balanço de nitrogênio de 5 dias..... 120

- Tabela 17.** Valores médios de ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID) e quociente de eficiência alimentar (QEA) em ratos Wistar previamente adaptados às rações, com fontes protéicas contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 dias de experimento..... 124
- Tabela 18.** Valores médios de balanço de nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado (fezes e urina) e balanço nitrogenado aparente em ratos Wistar, previamente adaptados às rações, com fontes protéicas contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 dias de experimento com balanço de 5 dias... 127
- Tabela 19.** Valores médios de digestibilidade, valor biológico e utilização líquida de proteína aparentes e verdadeiros em ratos Wistar, previamente adaptados às rações contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia com fontes protéicas para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 de experimento com balanço de 5 dias..... 130
- Tabela 20.** Composição em ácidos graxos na rações de crescimento e terminação com silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus)..... 134
- Tabela 21.** Valores médios da dieta consumida no balanço, variação de peso na adaptação e balanço e peso das fezes excretadas dos ratos Wistar, previamente adaptados às dietas de caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 15% SSO, como fontes protéicas ($10,5 \pm 0,09\%$ de proteína) e aprotéica, após 10 dias de experimento com balanço de nitrogênio 5 dias..... 137

- Tabela 22.** Valores médios do ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID), quociente de eficiência alimentar (QEA), quociente de eficiência protéica líquida (NPR), quociente de eficiência protéica líquida relativa (RNPR), ingestão de proteína (IP) e ganho de peso / consumo de proteína (GP/CP) em ratos Wistar, previamente adaptados às dietas de Caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO e Cas 15% SSO, como fontes protéicas ($10,5 \pm 0,09\%$ de proteína), após 10 dias de experimento..... 140
- Tabela 23.** Valores médios de nitrogênio ingerido, nitrogênio fecal e urinário e balanço nitrogenado aparente em ratos Wistar, previamente adaptados às dietas de caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 15% SSO, como fontes protéicas ($10,5 \pm 0,09\%$ de proteína), após 10 dias de experimento com balanço de 5 dias.....142
- Tabela 24.** Valores médios de digestibilidade, valor biológico e utilização líquida da proteína aparentes e verdadeiros em ratos Wistar, previamente adaptados às dietas de Caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO e Cas +15% SSO, como fontes protéicas ($10,5 + 0,09\%$ de proteína), após 10 dias de experimento com balanço de nitrogênio de 5 dias 146

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SILAGEM DA DESPESCA DA TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS (OREOCHROMIS) NILOTICUS*, LINNAEUS) EM DIETAS EXPERIMENTAIS COM RATOS.

CANDIDATO: RONALDO DE OLIVEIRA SALES

ORIENTADOR: PROF. DR. ADMAR COSTA DE OLIVEIRA

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar propriedades nutricionais da silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), através da sua caracterização química e avaliação nutricional com ensaios biológicos em ratos. A silagem foi preparada com 100% da despesca pela trituração dos peixes inteiros, sem a retirada das escamas, barbatanas, guelras e vísceras, pela adição de 3% do peso do triturado de ácido fórmico a 90%, até a completa liquefação da mistura. A silagem foi armazenada em temperatura ambiente por 180 dias e monitorada através de análises químicas quinzenais.

Foram realizadas as seguintes determinações: a) da composição química proximal, que não mostrou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis umidade, proteína, lipídios e cinzas; b) do pH da silagem, que situou-se na faixa de 3,8 durante todo período de armazenagem; c) do aumento do grau de autólise medido pela degradação protéica com o aumento dos "solúveis totais", nitrogênio não-protéico, nitrogênio alfa-amínico e da

produção de NH_3 durante os primeiros 90 dias de armazenagem; d) do aumento significativo do teor de malonaldeído durante todo o curso da armazenagem; e) das bases voláteis totais que demonstraram progressão lenta no processo de acordo com o período de armazenagem; f) da caracterização nutricional, que mostrou que a silagem de tilápia do Nilo contém todos os aminoácidos essenciais, vários minerais e ácidos graxos essenciais; g) das análises microbiológicas, mostrando que a contagem de mesófilas apresentou decréscimo significativo entre as amostras com valores inferiores a 10^3 UFC/g; h) da intensa diminuição da viscosidade simultânea à elevação nos valores de TBARS; i) do estudo das propriedades funcionais, que mostrou que a silagem da despesca da tilápia do Nilo, pode ser usada como complemento protéico incorporado em rações para animais, devido às suas características de solubilidade e hidratação. A maior parte da solubilização do nitrogênio, 68%, indicada pela razão nitrogênio solúvel/nitrogênio total, ocorreu na primeira semana de armazenagem, tendo a silagem se apresentado totalmente liquefeita decrescendo significativamente, entre a silagem nova (30 dias) e a antiga com 90 dias de armazenagem, como ficou demonstrado através da baixa utilização da proteína pelos ratos. Esta redução de qualidade foi devida a uma combinação de autólise e rancificação do material, indicando que o grau de autólise pode ser usado como um critério de qualidade nutricional para a silagem de tilápia do Nilo.

A proteína da silagem nova com 20 a 30 dias de armazenamento apresentou escore químico de 96.3% contra 54.5% da silagem antiga com 90 dias de armazenamento, sendo que em todas as silagens nova e antiga, nenhum dos aminoácidos essenciais foram limitantes com a silagem nova apresentando

quociente de eficiência líquida da proteína (NPR) de 2.62, contra 2.85 para a caseína. Inferiu-se desta forma, que a oxidação lipídica teve um papel determinante no comprometimento desses aminoácidos e, conseqüentemente, na qualidade protéica da silagem.

Estudou-se também o efeito do emprego de diferentes níveis de silagens integral e parcialmente desengordurada em rações formuladas para suínos nas fases de crescimento e terminação, usando o rato como modelo experimental, em três etapas, A, B e C, sendo que no Ensaio A, determinaram-se os valores dos 4 tratamentos, Nuvilab, silagem nova, silagem antiga e controle, com a silagem nova apresentando um NPR bem superior as demais dietas a nível de 5%. No Ensaio B, os níveis de silagem adotados foram: 0%, 5%, 10% e 15% com os ratos recebendo rações com 16% de proteína bruta na fase de crescimento, e com 14% de proteína bruta na fase de terminação, com ração base composta de milho, farelo de soja, fosfato bicálcico, sal comum e suplemento vitamínico mineral, sendo que a ração (RC 2 + 5% de silagem) apresentou ratos significativamente mais pesados ($p < 0,05$) durante os experimentos. No Ensaio C, estudou-se o efeito da avaliação nutricional da caseína com as silagens integral e parcialmente desengorduradas nas proporções de 5%, 10% e 15% com e sem óleo, verificando-se que a combinação de caseína + 5% de silagem sem óleo melhora o valor nutricional da dieta protéica como também o quociente de eficiência protéica líquida (NPR).

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 6 a 8 repetições, sendo o ensaio conduzido durante 10 dias, com balanço de nitrogênio nos últimos 5 dias, com pesagens a cada 5 dias, com água e dieta "ad libitum",

sendo possível detectar diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos nas diversas etapas dos ensaios biológicos.

Concluiu-se então, que o processo de obtenção da silagem , tecnicamente viável e sugere-se que a "silagem ácida" seja utilizada como complemento protéico para rações tradicionalmente usadas a base de milho e farelo de soja para suínos.

CHEMICAL CHARACTERIZATION AND NUTRITIONAL EVALUATION OF NILE'S TILÁPIA SILAGE *OREOCHROMIS (OREOCHROMIS) NILOTICUS, LINNAEUS*, IN EXPERIMENTAL DIETS FOR RATS.

CANDIDATE RONALDO DE OLIVEIRA SALES

ADVISOR: PROF. DR. ADMAR COSTA DE OLIVEIRA

SUMMARY

The objective of the present work was to study the nutritional properties of Nile's tilapia silage (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) by means of its chemical characterization and nutritional evaluation based on biological assays in rats. The silage was prepared from 100% ground whole fish without the removal of scales, fins, branchia or guts and with the additional 3% of the ground fish weight in 90% formic acid and incubation for 48 hours until the mixture was completely liquefied. The silage was stored at room temperature for 180 days and monitored every other week by chemical analysis.

The following determinations were performed: a) the chemical proximate composition which did not show any significant differences ($p > 0,05$) between the treatment for the variables humidity, protein, lipid, and ash contents; b) silage pH, which remained in the 3.8 range throughout the storage period; c) increase in the degree of autolysis as measured by protein degradation, as monitored by increases in total soluble solids, non-protein nitrogen, alpha-amino

nitrogen and production of NH₃ during the first 90 days of storage, d) the significant increase in malonaldehyde content throughout storage; e) the overall volatile bases content showing a slow development of the process according to the storage period; f) the nutritional characterization which showed that Nile's tilapia silage contains all the essential amino-acids, several essential minerals and fatty acids; g) microbiological analysis which showed that the mesophyllic count was significantly reduced in those samples with initial count below 10³ UFC/g; h) the significant reduction in the viscosity with a simultaneous increase in TBARS values; i) study of the functional properties which indicated that Nile's tilapia silage might be used as a protein supplement for animal feed because of its solubility and hydration characteristics.

Most of the nitrogen solubilization, as reflected by the soluble nitrogen/total nitrogen ratio, occurred in the first week of storage at a rate of 68%, when the silage was completely liquified, presenting a significant decrease between the fresh silage and old silage, as evidenced by the low utilization of the proteins by the rats. Such a decrease in quality was due to a combination of autolysis and rancidity of the material, thus suggesting that the degree of autolysis may be used as a nutritional quality criterion for Nile's tilapia silage.

Fresh silage protein, stored for 20-30 days showed a chemical score of 96.3% as compared to 54.5% for the old silage, which had been stored for 90 days, mainly due to lipid-protein interaction, although, essential amino-acids were limiting in either the new or old silages; A net protein efficiency ratio (NPR) of 2.62 was observed, compared to one of 2.85 for casein

The study also included the effects of the use of different levels of whole and partially defatted silage prepared for the feeding of swine during both the growing and terminal stages, by using rats as experimental samples in three different phases, A, B and C. In assay A, the values for the four treatments (Nuvilab, fresh silage, old silage and control) were determined, the fresh silage presented a much higher NPR than those of the other diets at a level of 5%. In assay B, the following silage levels were adopted: 0%, 5%, 10% and 15% the rats food containing 16% of crude protein in the growing stage and 14% in the terminal stage; the basic food consisted of corn, soybean bran, dicalcium phosphate, plain salt and a mineral vitaminic supplement. The mixture (RC 2 + 5% silage) resulted in significantly heavier rats ($p < 0,05$) during the experiments. In assay C, the effect of the casein nutritional evaluation was studied using whole and partially defatted silage at the rates of 5%, 10%, and 15%, both with and without oil. It was noted that the combination of casein and 5% defatted silage improved the nutritional value of the protein diet, as well as the net protein efficiency ratio (NPR).

A totally casualized statistical design was used with 6-8 repetitions and the assay were carried out for 10 days with a nitrogen balance during the last 5 days of the experiment. Weighing was performed every 5 days with both water and diet "ad libitum" which allowed for the detection of significant differences ($p < 0,05$) between the treatments in the several phases of the biological assays.

It follows that the process for obtaining silage is technically feasible and it is suggested that the "acid silage" could be used as a protein supplement in swine feed made from corn and soybean bran.

1. INTRODUÇÃO

Sendo a tilápia do Nilo uma das espécies de maior volume em captura na aquicultura brasileira, esta espécie comporta-se como um ótimo peixe para a criação em viveiros, tanques, lagos, uma vez que pode ser desenvolvida próximo aos centros urbanos, nas comunidades ribeirinhas e em fazendas.

A reprodução dessas espécies inicia-se já com 3 a 6 meses de idade, e, além disso, reproduzem-se normalmente de 3 a 8 vezes por ano, resultando em uma superpopulação e conseqüentemente em um tamanho reduzido dos indivíduos, o que os torna de baixo valor comercial, FREITAS *et alii* (1982), principalmente nos países em desenvolvimento onde a despesca torna-se uma grande desvantagem para o produtor, tendo-se observado serem estes peixes excelentes para o cultivo, resistentes a águas de baixa qualidade e a enfermidades, podendo os alevinos ser obtidos com facilidade (LOVSHIN *et alii*, 1974).

Segundo a FAO (1989), a produção mundial de pescado em 1986 alcançou 91,5 milhões de toneladas, estimando-se que cerca de 15% deste total é oriunda da aquicultura, onde esta espécie encontrou condições adequadas para seu desenvolvimento. Segundo LOVSHIN *et alii* (1974), 20% da despesca do pescado capturado nos açudes do Nordeste brasileiro chega a ser perdido por falta de armazenamento. Não existe na literatura dados que quantifiquem a porcentagem de perdas nos dias atuais, mas estas continuam existindo.

Uma alternativa viável para a região Nordeste é o aproveitamento das perdas das despescas para elaboração da silagem, forma mais econômica de aproveitamento desta espécie, podendo ser obtida de maneira artesanal nas áreas de abrangências dos açudes, e até industrialmente nos maiores centros urbanos.

Este produto é obtido da autólise ácida da proteína do pescado numa forma pastosa quase líquida que pode ser incorporada a rações como fonte de proteína, sendo também bastante versátil, podendo também ser usada para complementar rações de várias espécies animais, quando preparada apropriadamente, constituindo-se em uma fonte de aminoácidos e ácidos graxos livres de alta qualidade, dificilmente obtida por outros processos tecnológicos, GREEN et alii (1988), ou na elaboração de novos alimentos, (OETTERER DE ANDRADE, 1983).

Na silagem, intervém uma série de fatores externos e outros intrínsecos, como o tipo de pré-processamento do peixe, a temperatura ambiente, a quantidade de ácido usada, a época da captura e outros fatores cuja inter-relação resulta em uma degradação controlada das proteínas e lipídios, que é em essência, o significado da silagem (GREEN, 1984).

O valor nutricional da silagem de pescado está na digestibilidade protéica elevada devida ao fato de a proteína já estar bastante hidrolisada e da presença de lisina e triptofano entre outros aminoácidos essenciais refletindo-se sobre o ganho de peso e conversão alimentar dos animais (HALL, 1985).

As vantagens da produção de silagem em relação às farinhas de pescado são as seguintes: o processo é virtualmente independente de escala; a tecnologia

os efluentes e problemas com odores ou poluição ambiental são reduzidos; a produção é independente do clima; o processo da silagem é rápido em climas tropicais e o produto pode ser utilizado no local (OETTERER DE ANDRADE, 1992).

Na suinocultura, um dos maiores entraves está nos gastos com alimentação que pode chegar de 70 a 75% do custo total de produção sendo o milho o componente mais oneroso empregado no preparo das rações, e responsável por 42% desse custo, PROTAS (1984), seguido do farelo de soja com baixo nível de lisina, e de outros aminoácidos essenciais (GREEN, 1984).

Assim, os procedimentos para redução dos custos das rações devem ser voltados para a redução do milho ou do farelo de soja por alimentos alternativos, energéticos ou protéicos que estejam disponíveis a preços compensadores, JOHNSEN (1981), como também para o preparo de rações de baixo custo e alto valor nutricional para aves, bovinos, ovinos, peixes e outros animais domésticos (JOHNSEN & SKREDE, 1981)..

Pretendeu-se portanto, acompanhar o processo de elaboração (autólise) e o armazenamento à temperatura ambiente (25°C) da silagem da despesca da tilápia do Nilo e determinar as características nutricionais, tais como: eficiência de conversão alimentar; relação de eficiência protéica líquida (NPR); digestibilidade, valor biológico e utilização líquida de proteína (NPU) aparentes; composição centesimal, composição em aminoácidos, composição em ácidos graxos, nitrogênio solúvel e nitrogênio alfa-amínico.

Em uma segunda etapa, procurou-se verificar o efeito da complementação protéica com a silagem em dietas para suínos nas fases de crescimento e terminação, utilizando o rato como modelo experimental.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar o aproveitamento da despesca da tilápia do Nilo cultivada como matéria-prima para elaboração de silagem de peixe, bem como determinar o valor nutricional e possível utilização como complemento protéico na alimentação de suínos.

2.2. Objetivos Específicos

Elaborar a silagem de tilápia do Nilo em meio ácido, pela acidificação com ácido fórmico, com o acompanhamento do desenvolvimento dos produtos da degradação protéica particularmente nitrogênio solúvel total, nitrogênio não-protéico, nitrogênio alfa-amínico, viscosidade, pH, alterações lipídicas, bases voláteis totais, índice de peróxido, determinação do ácido tiobarbitúrico e contagem total de microrganismos em placa.

Caracterizar quimicamente, em termos de composição centesimal e composição em aminoácidos e ácidos graxos, as silagens obtidas.

Caracterizar nutricionalmente as silagens através de ensaios de determinação de eficiência de conversão alimentar, relação de eficiência protéica líquida (NPR) e avaliação da qualidade protéica, utilizando balanço de nitrogênio com ratos, compreendendo a determinação da digestibilidade, valor biológico e relação de utilização protéica líquida (NPU).

Verificar, através do ganho de peso dos ratos, consumo de ração, conversão alimentar, NPR e índices de qualidade protéica com base no balanço nitrogenado o efeito da complementação protéica pela adição da silagem, em dieta padrão de caseína, e em rações recomendadas para suínos em fase de crescimento e terminação.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Considerações sobre a tilápia nilótica

Estes peixes estão atualmente distribuídos entre várias centenas de espécies, com uma distribuição que abrange principalmente a zona tropical do continente africano bem como das Américas do Sul e Central, Sul dos E.U.A. e Sudoeste asiático, sendo que, as tilápias pertencem à família *Cichlidae* e estão distribuídas em dois grupos: a) grupo do gênero *Tilapia*, espécie herbívora com poucos raios branquiais e que desovam em substrato, pois ambos os pais guardam seus filhos; b) grupo do gênero *Sarotherodon*, espécies micrófagas que se alimentam de fitoplâncton ou de alimentos do fundo, com maior número de raios branquiais e que praticam incubação oral. O gênero *Sarotherodon* inclui a maioria das espécies de tilápias que apresenta qualidades excepcionais, tais como boa adaptação, alta prolificidade e grande rusticidade. O método mais promissor de controle da reprodução parece ser o cruzamento de espécies selecionadas de maneira a se obter híbridos monossexo, sendo que o cruzamento de machos de *S. hornorum* X *S. niloticus* resulta em 100% de indivíduos machos (LOVSHIN et alii, 1974)..

3.1.1. Origem e distribuição geográfica

Com relação à origem e distribuição geográfica, as investigações sobre o gênero *Tilapia* iniciaram-se na África, em 1900, quando foi estabelecida a taxonomia de 100 espécies deste peixe. São originários da África e da Ásia

Menor, e ainda do Norte de Israel e da Jordânia, não tendo sido detectado qualquer fóssil deste gênero fora destas áreas (CHIMITS, 1955).

3.1.2. Disponibilidade da tilápia como matéria prima no Brasil

Sendo a tilápia do Nilo uma das espécies de maior evidência e com uma distribuição melhor definida ao longo dos anos (Anexo I), tem sido cultivada em países tropicais com um grau variável de sucesso. A produção tem variado entre 0,3 a 18 t/ha/ano, dependendo da espécie cultivada, dos métodos de criação e extensão, período de cultivo e fertilidade da água. Em algumas fazendas, já tem sido capturadas até 8t/ha/ano desses peixes, usando-se esterco e subprodutos agrícolas como alimentos (LOVSHIN *et alii*, 1974). Alcança uma produtividade média de aproximadamente, 5t/ha/ano, 44 vezes maior que o rendimento da pesca extensiva nos açudes públicos, ocupando o primeiro lugar em produção a partir de 1978. Em 1979, a produção de pescados dos açudes foi da ordem de 15.702,10 toneladas, concorrendo a tilápia do Nilo com 34% desta produção, conforme dados fornecidos pela Diretoria de Pesca e Piscicultura do DNOCS (GURGEL & FREITAS, 1972).

3.1.3. Composição química da tilápia do Nilo

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

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

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

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

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

sazonalidade. Os peixes foram adquiridos em diferentes pontos comerciais e de pescadores em Manaus, Amazonas.

Para FREITAS et alii (1982), a composição centesimal do filé de tilápia (n=43 peixes) criado em cativeiro (Pentecoste, Ceará), variou pouco durante o ano. As percentagens médias para peso, umidade, gordura e proteína foram de 1.318 g (1.310 - 1.325 g), 76,8% (71,5-79,2%), 1,4% (0,5-3,5%) e 21,0% (19,0-23,0%), respectivamente. Os mesmos autores trabalhando com o híbrido constituído de *Tilapia nilotica* com *Tilapia hornorum* verificaram que, a composição foi de 17,52% para proteína, 74,32% para umidade, 0,73% para cinzas e 5,41% de lipídios totais, valor que variou de 3,75 - 7,48% de acordo com o lote analisado. Esta variação era devida à presença de gordura cavitária em diferentes proporções nas amostras analisadas.

3.1.4. Composição em aminoácidos da tilápia do Nilo

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

O conhecimento em si dos conteúdos de aminoácidos essenciais (AAES) não é conclusivo para caracterizar a qualidade de uma determinada proteína, pois

segundo SGARBIERI (1987), alguns índices baseados em métodos químicos, microbiológicos e biológicos, melhor estabelecem certas correlações entre a composição da proteína e sua qualidade nutricional. Para o mesmo autor, entre outros, vale a pena destacar os seguintes índices: Escore Químico (EQ), Digestibilidade e valor biológico da Proteína, Quociente de Eficiência Protéica (NPR) ou Quociente de Eficiência Protéica Líquida (RNPR), estudados no presente trabalho.

Entretanto, entre as espécies de água doce, a tilápia tem sido o peixe mais pesquisado nos trabalhos já realizados sobre a composição em aminoácidos (DUPONT, 1958; MAIA *et alii*, 1983 (Anexo 3) e efeitos de dietas sobre o crescimento e conversão alimentar, utilização de proteína e o efeito do processamento e armazenagem sobre os teores de aminoácidos (LAJOLO *et alii*, 1975).

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

Duas espécies de tilápias de águas tropicais da Índia foram investigadas por LAJOLO *et alii* (1975): "*Tilapia esculenta*" e "*Tilapia lidole*". Algumas diferenças na ordem quantitativa dos aminoácidos foram encontradas, embora suas concentrações estivessem muito próximas. Em comum, essas duas espécies

apresentaram apenas o primeiro (Ac. glutâmico) e o último (Alanina) com 13,5g Glu / 16gN para "*Tilapia esculenta*", 15,0g Glu / 16gN para "*Tilapia lidole*", de 6,0g Ala /16gN para "*Tilapia esculenta*", 5,9g Ala / 16gN para "*Tilapia lidole*". A ordem de outros AAs foram: *Tilapia esculenta*, Asp, 9,2; Lys, 8,5; Leu, 6,9 e Gly, 6,3. Para a "*Tilapia lidole*" o teor de Arg foi de 5,2g/16gN, enquanto a ordem de outros AAs foram: Lys, 10,2; Leu, 9,9; Asp, 9,6 e Arg, 6,9 enquanto o teor de Gly foi de 5,1g/16gN. Os teores de sulfurados, de aromáticos e dos outros AAes nas duas espécies foram muito equivalentes. Os teores de AAes para "*Tilapia nilotica*" (*Oreochromis niloticus*) também foram muito próximos dos valores descritos acima (KHALIL *et alii*, 1980).

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

MAIA *et alii* (1983), relataram os principais aminoácidos (AA) de músculo desengordurado da tilápia proveniente do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura (CEPTA Pirassununga, São Paulo) foram respectivamente (g AA/16g N) e (entre parentese o EQ): ácido glutâmico, $19 \pm 1,7$; ácido aspártico, $11 \pm 1,0$; lisina $10,2 \pm 1,6$ (2,00); leucina, $9,8 \pm 0,2$ (1,40). arginina, $7,2 \pm 0,5$ e alanina, $7,1 \pm 0,5$. Além da lisina, leucina e arginina, os demais AAes apresentaram os seguintes conteúdos: valina, $6,3 \pm 0,4$ (1,31); isoleucina, $5,8 \pm 0,5$ (1,38), treonina,

3,9 ± 1,8 (1,11), histidina, 3,1 ± 0,4 (1,82), aromáticos totais, 9,0 (1,23) e sulfurados totais, 1,8 .

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

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

aminoácidos essenciais (AAEs), apareceram Val, 5,3; Thr, 4,8; Phe, 4,5; Met, 3,0; His, 1,8 e Trp, 1,2g/16gN.

3.2. Silagem de peixe

3.2.1. Histórico

Foram os romanos os primeiros a converterem subprodutos da pesca para algo semelhante ao que hoje é conhecido como silagem de pescado, um molho de peixe espesso, conhecido como "*garum*", mencionado por volta de 525 a.C.. Era preparado de guelras e vísceras de uma grande variedade de espécies de peixes, onde as sobras eram acondicionadas compactamente em recipientes lacrados hermeticamente e deixados para decompor completamente (MANDELLI, 1972). As vísceras do peixe forneciam uma potente fonte de enzimas proteolíticas para a autólise. A decantação do licor autolisado deixava um resíduo conhecido como "*alec*", ao qual eram adicionados mais peixe e salmoura para produzir uma substância semi-sólida chamada "*putrilage*". Ambos, "*garum*" e "*putrilage*", tornaram-se iguarias que eram exportadas do sul da Itália para todo o Império Romano.

Alguns povos do Sudeste asiático, notadamente os Indochineses, complementavam a sua ração rizícola com concentrados protéicos obtidos da autólise da carne e vísceras de certos clupeídeos de origem marinha. Os anamidas, entre outras tribos da Indochina, preparavam aqueles autolisados que

receberam o nome local de "*mans*" quando de peixes e "*nuoc man*" quando de camarões, sendo a mistura sal e pescado mantida por meses e agitada ocasionalmente no período inicial da preparação. Tais *mans* são encontrados tanto na forma líquida quanto semi líquida e pastosa, tendo os líquidos densidade em torno de 1,1 a 1,2 e pH 5 a 7 (MANDELLI, 1972). Segundo o mesmo autor, os teores de nitrogênio uréico e indólico constituem os principais índices da qualidade do produto.

A silagem de peixe surgiu nos países escandinavos, sendo a Suécia o primeiro país a produzir silagem de pescado em 1936, em experimentos com a utilização de misturas de ácido sulfúrico, clorídrico, fórmico e na adição de outros ingredientes como melaço (DISNEY & JAMES, 1980).

Desde a década de 40, a silagem tem sido produzida em muitos países, incluindo o Canadá (FREEMAN & HOOGLAND, 1956), Reino Unido (TATTERSON & WINDSOR, 1974), Austrália (BATTERMAN & GORMAN, 1980), Noruega e Alemanha (STROM & EGGUM, 1981), mas foi somente na Dinamarca, Polônia e Noruega que o processamento da silagem prosseguiu em escala comercial. Na Dinamarca, a produção de silagem de peixe pelo uso de uma mistura de ácido fórmico e ácido sulfúrico aumentou de 16.000 para 25.000 toneladas entre 1969 e 1972 (RAA & GILDBERG, 1982). No mesmo país, atingiu, em 1980, a produção anual de 46.000 toneladas (JOHNSEN, 1981). Na Polônia, onde o ácido sulfúrico e o ácido fórmico são usados em mistura ou separadamente, a produção foi por volta de 7.000 toneladas por ano (RAA & GILDBERG, 1982). Posteriormente, houve um esforço substancial no sentido de se implantar a silagem de peixe nos países do Sudeste asiático, como forma de

aproveitamento das perdas de captura e do pescado de baixo valor comercial para elaboração da silagem de pescado, com pequeno investimento, sem causar problemas de odores ou de poluição ambiental (PETERSEN, 1953; POULTER *et alii*, 1980; VAN WYK *et alii*, 1985).

3.2.2. Princípios e métodos de elaboração da silagem de pescado

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

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

Dentre os principais métodos utilizados na produção de silagem de pescado, um faz uso da adição de ácidos minerais ou orgânicos (silagem química), tais como fórmico, sulfúrico, clorídrico, propiônico e acético ao pescado inteiro

triturado (WIGNALL & TATTERSON, 1976; DISNEY & JAMES, 1980), e o outro é obtido pela utilização de microrganismos produtores de ácido láctico adicionados ao pescado. Este último produto é conhecido como silagem biológica de pescado que pode ser obtido com resíduos de diferentes espécies, fontes de carboídratos e microrganismos produtores de ácido láctico (LINDGREN & PLEJE, 1983; STROM & EGGUM, 1981; RAA & GILDBERG, 1982; LESSI *et alii*, 1989), sendo a liquefação conduzida pela atividade de enzimas proteolíticas naturalmente presentes nos peixes e/ou adicionadas (silagem enzimática) (KOMPIANG *et alii*, 1981).

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

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

minerais baixa o pH para cerca de 2,0, necessitando, porém, de uma neutralização posterior à hidrólise (WIGNALL & TATTERSON, 1976).

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

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

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

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

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

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

LINDGREN & PLEJE (1983) demonstraram existir uma relação entre o pH e o teor de nitrogênio não-protéico, sendo que, à medida que diminui o pH, a atividade proteolítica de certas enzimas é favorecida atuando sobre as proteínas do tecido muscular do pescado favorecendo a formação de nitrogênio não-protéico.

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

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

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

Em casos específicos com relação aos microrganismos, LINDGREN & PLEJE (1983) observaram que, durante o armazenamento da silagem de pescado, só se observa a presença de bactérias ácido-láticas, indicando que os

microrganismos patogênicos como, coliformes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella ssp.* encontram-se inibidos pelo baixo pH e pelas condições de anaerobiose nas quais se observa a presença de certas substâncias antibacterianas produzidas pelas bactérias lácticas, que também são responsáveis pela produção do sabor (MACKIE *et alii*, 1971).

3.3. Composição química da silagem de peixe

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

De acordo com DISNEY & HOFFMAN (1978), a silagem de pescado apresenta um teor de proteína bruta (N x 6,25) da ordem de 10,2 a 19,8%, conforme os ácidos usados no preparo, a diferentes pHs conforme a Tabela 1. Entretanto, diversos autores, trabalhando com ácido fórmico em extratos protéicos de bacalhau (*Gadus morhua*), a pH 4,0, encontraram os seguintes resultados: umidade 77,8%, proteínas 15,8%, lipídios 3,78% e cinzas 3,45% (TATTERSON & WINDSOR, 1974),

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

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

Material usado	Tratamento c/ ácido	Umidade %	Proteína (Nx6,25)	Lipídio %	Cinzas %
Arenque (Inteiro)	3% HCOOH	10,3	12,4	9,1	4,0
Arenque (Inteiro)	pH 2,0(HCl)+ 1% HCOOH	10,2	11,3	8,6	3,9
Cavala (Inteira)	pH3,0(HCl)+ 1% HCOOH	9,8	19,8	1,1	-
Peixe (Inteiro)	pH3,0(HCl)+ 1% HCOOH	9,9	18,8	2,6	6,9
Cabeça e vísceras	pH3,0(HCl)+ 1% HCOOH	10,1	15,4	3,7	8,4
Esqueleto (Inc.cabeças)	pH3,0(HCl)+ 1% HCOOH	11,3	14,1	4,0	12,1
Somente cabeças	pH3,0(HCl)+ 1% HCOOH	8,5	17,5	4,8	9,3
Vísceras	pH2,0(HCl)+ 1% HCOOH	8,3	10,2	8,3	2,4
Músculos	pH2,0(HCl)+ 1% HCOOH	8,8	17,3	0,4	2,7
Camarão	pH3,0(HCl)+ 0,5% HCOOH	8,6	15,6	11,0	7,5

Fonte: DISNEY & HOFFMAN (1978).

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

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

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

3.4. Disponibilidade de minerais na silagem de peixe

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

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

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

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

3.4.1. Cálcio

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

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

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

Os teores de cálcio na silagem de peixe feita de várias fontes de subprodutos de pesca aparecem na Tabela 2. Foi recomendado que a concentração de cálcio em dietas para suínos em crescimento (20 -55 kg peso vivo) seja de 0,91% de matéria seca na dieta (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, 1981)

Tabela 2. Conteúdo de cálcio na silagem de peixe feita de vários recursos de resíduos de peixe.

Silagem de peixe	Cálcio (%)	Referência
Savelha (<i>Brevotia tyrannus</i>)	7,0	STONE & HARDY (1986)
Linguado (<i>Hippoglossoides dubi</i>)	5,0	TIBBETTS <i>et alii</i> (1981)
Bacalhau (<i>Gadus morhua</i>)	3,8	SMITH (1977)
Arenque (<i>Clupea harengus</i>)	2,1	SMITH (1977)
Resíduos de Sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>) (Cabeça, caudas e vísceras)	8,5	KOMPIANG <i>et alii</i> (1980)
Atum (<i>Thunnus thynnus</i>) (Inteiro)	0,7	DISNEY <i>et alii</i> (1978)

3.4.2. Fósforo

O fósforo é o constituinte dos ácidos nucleicos, proteínas, lipídios, carboídratos e compostos de alta energia, sendo o seu teor extremamente variável entre as espécies. STONE & HARDY (1986), citam quantidades de fósforo no pescado fresco variando aproximadamente entre 1,1 a 2,5% na carne de cavala e 0,8 - 1,4% na carne de linguado fresco. Essas flutuações estão associadas com numerosos fatores incluindo idade e sexo do peixe, como também o teor de cálcio na água SMITH (1977). O mesmo autor, relata que as vísceras do pescado

contém entre 0,17 e 0,32% de fósforo na matéria seca, sendo que no peixe inteiro contém mais fósforo do que a carne ou as vísceras, em razão da presença de ossos, ricos nesse elemento (Tabela 3).

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

Tabela 3. Conteúdo de fósforo em silagens elaboradas com vários resíduos de peixe.

Silagem de peixe	Fósforo (P2 O5)	Referência
Savelha (<i>Brevotia tyrannus</i>)	1,1	STONE & HARDY (1986)
Linguado (<i>Hippoglossoides dubius</i>)	1,5	TIBBETTS <i>et alii</i> (1981)
Bacalhau (<i>Gadus morhua</i>)	1,9	SMITH (1977)
Arenque (<i>Clupea harengus</i>)	1,6	SMITH (1977)
Sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>) (cabeça, cauda e vísceras)	2,0	KOMPIANG <i>et alii</i> (1980)
Atum (<i>Thunnus thynnus</i>) (Inteiro)	0,5	DISNEY <i>et alii</i> (1978)

3.4.3. Magnésio

O magnésio ativa a fosfatase alcalina e outras enzimas, incluindo as que utilizam ATP ou catalisam a transferência de fosfato, sendo também um ativador do sistema que usa pirofosfato de tiamina como coenzima. Todas as funções do ATP, como transporte através de membranas, ativação de aminoácidos, síntese de proteínas, ácidos nucleicos, gorduras, coenzimas, geração e transmissão dos impulsos nervosos, contração muscular e fosforilação oxidativa, são dependentes do magnésio. A síntese do DNA necessita de magnésio (DE ANGELIS, 1979), sendo que a concentração recomendada na dieta de suínos é de 100 mg/kg para crescimento normal e de 400 mg/kg para a manutenção das concentrações sanguíneas normais (McALESSE & FORBES, 1961).

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

3.4.4. Ferro

O ferro tem grande número de funções no organismo, como componente da hemoglobina e mioglobina e é requerido para o transporte de O₂ e CO₂. Também está presente em enzimas como oxidases, hidroxilases, desidrogenases e citocromos. Além da sua participação na biossíntese da hemoglobina, tem outras

funções como, por exemplo, a estimulação no desenvolvimento do sistema nervoso (CHANEY, 1986).

4.4.5. Manganês

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

3.4.6. Outros minerais

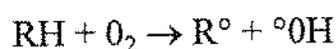
Existe pouca literatura disponível sobre o teor de outros minerais tanto na silagem, quanto no peixe inteiro ou resíduos. O teor da maioria dos minerais no peixe integral ou nas sobras de peixes (cabeça, cauda e vísceras), deverá ser maior do que da carne ou das vísceras por causa da alta concentração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

3.5. Oxidação lipídica na silagem de pescado

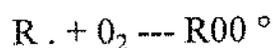
O processo de oxidação lipídica constitui-se num dos principais fatores de deterioração da qualidade das silagens armazenadas por longos períodos de tempo, resultando em alterações de sabor, cor, textura, valor nutritivo e produção de componentes tóxicos (ALLEN & FOEGEDING, 1981). Muitos estudos tem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

A autoxidação de lipídios em silagens de pescado envolve a peroxidação de ácidos graxos insaturados, em particular daqueles associados com fosfolipídios localizados nas membranas celulares. Desenvolve-se através de três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 1).

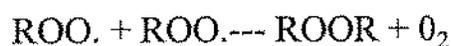
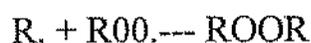
a) Iniciação:



b) Propagação:



c) Terminação:



onde,

RH = ácido graxo insaturado

H = átomo de H adjacente a uma dupla ligação

ROOH = hidroperóxidos

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

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

pescado. Dependendo da composição dos ácidos graxos nos lipídios, a proporção desses produtos de oxidação vai variar extensivamente (GRAY, 1978). (Figura 2).

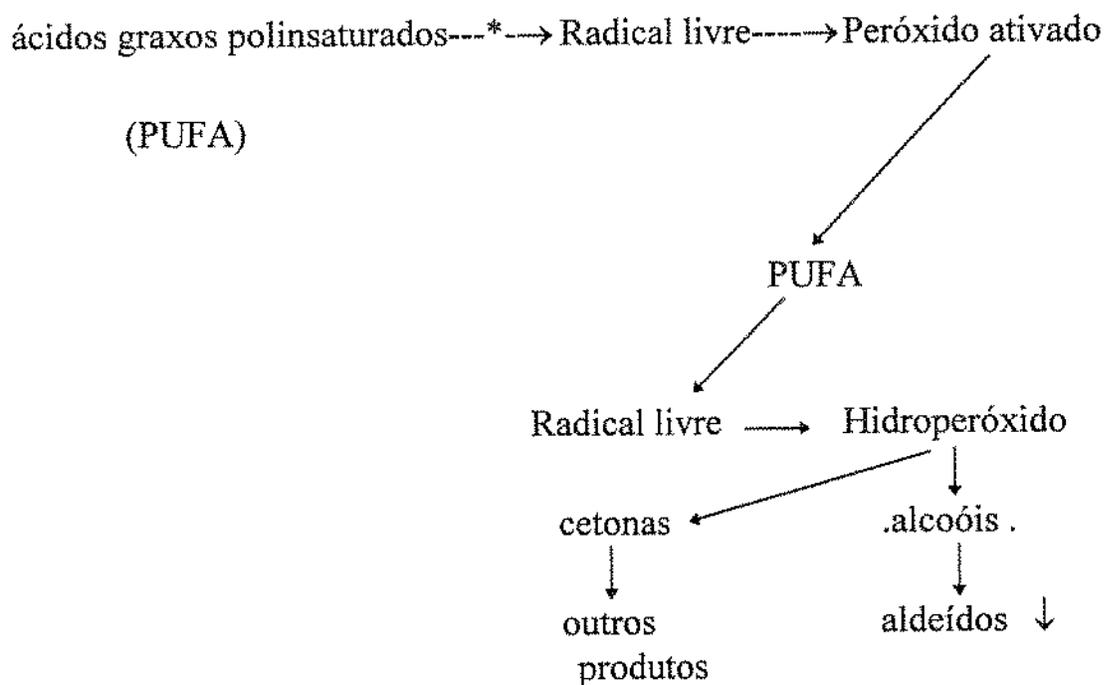


Figura 2. Mecanismos de oxidação lipídica e formação de produtos.

* Oxigênio, luz, calor, metais e pigmentos afetam o grau de peroxidação dos ácidos graxos influenciando as reações acima descritas, tendo como principal característica a rancidez oxidativa, que é uma das principais causas da deterioração da silagem de pescado quando estas são expostas ao oxigênio atmosférico, uma vez que possuem alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, como o eicosapentaenóico C_{20:5} e o docosahexaenóico C_{22:6}, específicos do pescado (GRAY, 1978).

Quando a concentração de hidroperóxidos é baixa, sua decomposição dá-se segundo a reação monomolecular seguinte: $\text{ROOH} \rightarrow \text{RO} \cdot + \text{OH} \cdot$. Entretanto, se a concentração é elevada a reação é do tipo bimolecular: $2\text{ROOH} \rightarrow \text{RO} \cdot + \text{ROO} \cdot + \text{H}_2\text{O}$. Os radicais podem também participar na fase de propagação, apesar da predominância os radicais $\text{ROO} \cdot$ de maior energia. Os hidroperóxidos têm tendência a unir-se entre si mediante pontes de hidrogênio, quando a temperatura é baixa ou sua concentração elevada.

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

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

Segundo HARPER (1977), a oxidação lipídica é uma alteração química que redunde em gosto e odor desagradáveis da gordura dos alimentos. Acredita-se que o oxigênio do ar ataca a ligação dupla dos ácidos graxos insaturados para

formar uma ligação peróxido. Certos metais como o cobre e o chumbo catalisam a oxidação. A exclusão do oxigênio ou a adição de um antioxidante retarda o processo. A peroxidação lipídica é catalisada *in vivo*, por compostos heme, como a hemoglobina e a mioglobina.

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

A silagem de pescado apresenta portanto sérios problemas, e entre eles está o armazenamento, sendo que a grande maioria das silagens de pescado são armazenadas por longos períodos de tempo e em condições normais de temperatura ambiente e expostas ao ar, além disso o próprio processo incorpora oxigênio ao produto, muitas vezes a um nível de 100% de oxigenação (GRAY & PEARSON, 1987), acelerando intensamente a peroxidação de lipídios e com o inconveniente de apresentar níveis relativamente altos de ácidos graxos insaturados e baixas concentrações de antioxidantes naturais (tocoferóis), tornando-as relativamente instáveis (EINSET *et alii*, 1957).

CHEFTEL *et alii* (1986) discutiram as possíveis reações entre malonaldeído e aminos grupos livres de proteínas as quais levaram à formação de ligações covalentes irreversíveis resultando em intensa perda do valor nutricional da silagem de pescado armazenado por longos períodos de tempo.

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

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

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

Em relação à reação de proteínas com produtos secundários de oxidação lipídica, a interação entre malonaldeído e miosina está entre as mais estudadas. Malonaldeído origina-se de endoperóxidos formados via autooxidação de ácidos

graxos polinsaturados e sua detecção é a base do método utilizado no presente trabalho para o desenvolvimento de rancidez na silagem de tilápia do Nilo através do teste do ácido 2-tiobarbitúrico (SINNHUBER & YU, 1958).

3.6. Utilização da silagem de peixe na formulação de rações para suínos em fases de crescimento e terminação

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

Outro fator a ser observado quando se estuda alimentos alternativos altamente protéicos para animais monogástricos é o conhecimento das exigências em lisina, metionina, cistina e triptofano na alimentação dos suínos (GREEN, 1984; HALL, 1985; VAN WYK *et alii*, 1977; TIBBETS *et alii*, 1981; LUCAS *et alii*, 1970; KOMPIANG *et alii*, 1980; HALE *et alii*, 1967; WAGNER *et alii*, 1963). Os efeitos negativos de altos níveis de silagem na ração sobre o desempenho de suínos em crescimento têm sido demonstrados por vários pesquisadores (TIBBETS *et alii*, 1981). Esse efeito é variável em função da fonte protéica utilizada na ração (GREEN *et alii*, 1988) e do período de fornecimento desta ração, pois, tanto os suínos quanto as aves apresentam certa dificuldade de

adaptação a rações com elevado teor de proteína e conseqüentemente com menor densidade devido à hipertrofia de seu aparelho digestivo e ao aumento da própria capacidade de digestão da proteína (ITOH *et alii*, 1973; CASTER *et alii*, 1962).

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

Durante a preparação da silagem, os aminoácidos são relativamente estáveis mas, na hidrólise ácida, se observa uma diminuição do triptofano e uma estabilidade da histidina. A tirosina se separa progressivamente da fase aquosa por cristalização e a metionina é estável em meio ácido (JACKSON *et alii*, 1984).

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

Diversos autores concordam que a lisina é um dos aminoácidos limitantes para suínos em rações a base de milho e farelo de soja (SHARDA *et alii*, 1976; EASTER & BAKER, 1980; JURGENS *et alii*, 1967). Há indicações de que o aumento dos níveis de proteína das rações resulta em maiores exigências de aminoácidos, como demonstram vários trabalhos (McWARD *et alii*, 1959; KLAY, 1964; BAKER *et alii*, 1975), sendo que as exigências de lisina (% na ração) para suínos em crescimento e terminação requerem uma redução de 0,02% para cada 1% de diminuição no nível total da proteína da ração (SHARDA *et alii*, 1976). Alguns trabalhos mostram que o aumento no teor protéico nas rações melhora o desempenho ou resulta em carcaças mais magras (HALE & SOUTHWELL, 1967; LEE *et alii*, 1962).

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

BAKER *et alii* (1975) observaram que o total de lisina disponível na silagem de bacalhau (*Gadus morhua*) era similar ao encontrado no peixe integral e que, durante o período de 8 dias de armazenagem, os teores de metionina,

cistina e lisina aumentaram para em seguida decrescerem com mais de 60 dias de armazenagem. Os mesmos autores, estudando a possibilidade de substituição do milho e farelo de soja pela silagem de peixe nas rações de suínos nas fases de crescimento e terminação, verificaram que os animais apresentavam aumento de ganho de peso significativamente maior que o obtido com rações contendo somente milho e farelo de soja, proporcionando um aumento aproximado de 18% no ganho de peso dos animais.

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

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

GREEN (1984), realizando trabalho com suínos com o propósito de determinar o nível de silagem de peixe mais adequado para rações contendo 13% de proteína bruta para a fase de terminação de suínos, verificou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, com suplementação de 5

e 10% de silagem de peixe, para o ganho de peso médio e nível de uréia no soro sangüíneo dos animais. Porém, para a conversão alimentar foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, indicando uma melhora nutricional quando os animais eram tratados com rações com adição de 5% de silagem na base protéica. O mesmo autor constatou que a suplementação de silagem de peixe com níveis acima de 10% nas rações a base de milho e farelo de soja contendo 14% de proteína bruta, utilizadas em leitões, não ofereceram melhoria nos resultados de desempenho dos animais no que concerne ao ganho de peso e conversão alimentar.

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

BATTERHAM *et alii* (1980), com o propósito de determinar as contribuições da silagem de peixe em leitões de 8 a 12 kg de peso vivo, utilizaram ração a base de milho, farelo de soja, com seis níveis de silagem, 0, 3, 6, 9, 12 e 15% em substituição ao milho e ao farelo de soja e verificaram que o ganho de peso diário e a conversão alimentar aumentaram linearmente ($p < 0,01$) com o aumento do nível de silagem na ração, tendo observado uma exigência estimada

de 6% para ganho de peso diário e conversão alimentar respectivamente, não tendo se verificado efeito ($p > 0,05$) nos níveis de silagem sobre o consumo de ração.

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

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

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

4. MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental deste trabalho foi desenvolvida no Laboratório de Pescado do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição (DEPAN) da Universidade Estadual de Campinas - S.P..

4.1. Material

4.1.1. Fontes protéicas

O material utilizado neste trabalho, consistiu de peixes da despesca da tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus, Linnaeus*), classificados como refugos que foram provenientes de colônias de piscicultores em Indaiatuba - SP durante o primeiro semestre do ano de 1991. Todos os peixes tendo um peso médio de 150 g (150 - 152 g) após a despesca, foram colocados em caixas plásticas, contendo camadas de gelo picado e transportados para o laboratório de pescado do Departamento de Ciências da Nutrição da Universidade Estadual de Campinas e mantidos em congelamento (-15 °C) até a sua utilização.

Antes do preparo da silagem o peixe foi descongelado, triturado em moinho picador de carne Siemsem, modelo PSL 291 equipado com placa de furos de 0,8 cm de diâmetro e homogeneizado mediante agitação mecânica obtendo-se uma polpa fina e homogênea. Em seguida, foram retiradas amostras do material para a determinação da composição química proximal (umidade, proteína, lipídios e cinzas).

4.1.2. Caseína comercial

Proveniente da Indústria e Comércio de Laticínios Tacrigy Ltda contendo 97,6% de proteína, em base seca.

4.1.3. Ração comercial

Não purificada, marca NUVILAB CR 1 produzida pela Nuvital Nutrientes, autoclavada com teor de proteína (%N X 6,25) igual a 22,5%, valor fornecido pelo fabricante.

4.2. Delineamento do experimento

A matéria prima descrita no item (4.1.1) foi submetida à silagem e formulada segundo a técnica descrita e recomendada por alguns autores (GILDBERG & RAA, 1977; TATTERSON & WINDSOR, 1974) com pequenas modificações na retirada do óleo e processada conforme o fluxograma contido na Figura 3. O experimento quanto a caracterização química e os ensaios biológicos foram realizados com diferenças de dias, utilizando-se os mesmos peixes e os mesmos procedimentos da silagem. À polpa assim obtida no item anterior, adicionou-se 3% de ácido fórmico (p/p) com agitações periódicas no material armazenado, sendo realizada frequentemente para uniformizar a distribuição as enzimas e, assim, acelerar a taxa de liquefação da mistura, de modo a evitar bolsas de ar no material não tratado, que poderiam se constituir em fontes de

contaminação microbiológica (STROM & EGGUM, 1981; JAYAWARDENA *et alii*, 1980; POTTER, 1973).

Após a liquefação, a silagem foi filtrada em pano com pequenas perfurações, onde foi realizada a separação das partículas maiores, tais como ossos, escamas e espinhas, obtendo-se desta forma um produto totalmente líquido, apresentando consistência pastosa, com aroma característico suave de ácido e coloração variando do castanho claro ao castanho escuro. Posteriormente procedeu-se a separação da gordura, manualmente com espátula, da polpa durante os primeiros 15 -20 dias. Também foram retiradas amostras para determinação da composição química proximal (umidade, proteína, lipídios e cinzas).

4.3. Armazenamento

Em seguida a silagem de tilápia foi armazenada por 180 dias em baldes plásticos de polietileno com entrada de ar, a temperatura ambiente em prateleira no laboratório (cerca de 22-25°C), e agitado duas vezes diariamente, para garantir uma mistura uniforme.

Foram também retiradas amostras quinzenalmente para determinação da composição química proximal, fisico-químicas, reológicas, pH, nitrogênio não-protéico, nitrogênio alfa-amínico, bases voláteis totais, caracterização nutricional (perfil dos aminoácidos, minerais e ácidos graxos) e análises microbiológicas.

A silagem foi também objeto de estudo através de ensaios biológicos com ratos, para determinação do valor nutritivo durante os primeiros 30 dias (silagem nova) como também no período de 90 dias de armazenamento (silagem antiga).

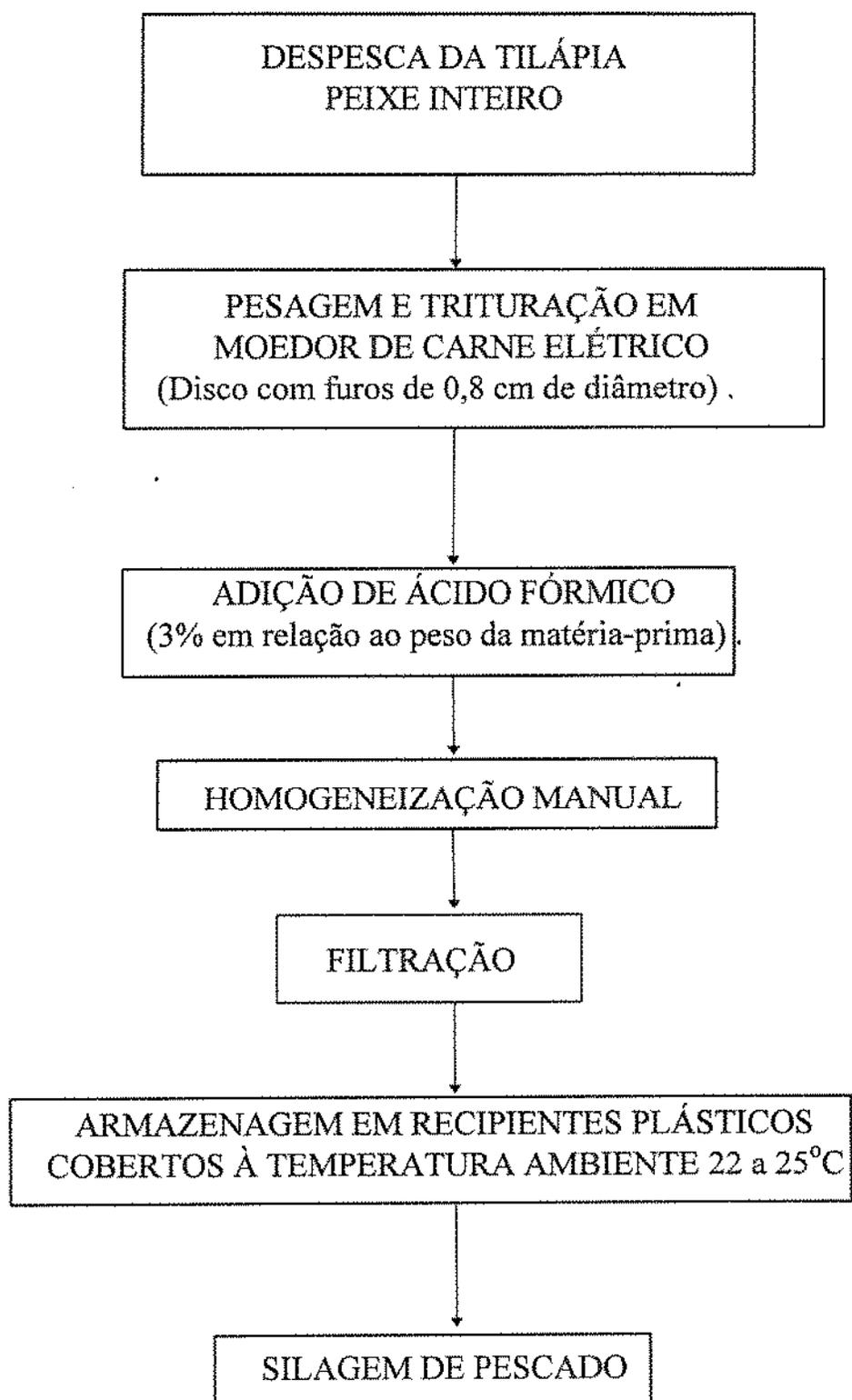


Figura 3. Fluxograma do processamento da silagem da tilápia do Nilo.

4.4. Determinações Químicas

4.4.1. Umidade

Foi determinada em estufa a 100-105°C até peso constante, de acordo com método descrito pela - AOAC (1984).

4.4.2. Proteína (N x 6,25).

O Nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl, de acordo com método padrão da - AOAC (1984) e a proteína total expressa como % N x 6,25.

4.4.3. Lipídios (extrato etéreo)

Os lipídios presentes nas amostras úmidas foram extraídas com éter de petróleo em extrator do tipo Soxhlet durante 5-6 horas e seu teor determinado gravimetricamente, como descrito na metodologia da - AOAC (1984).

4.4.4. Cinzas

A % de cinzas foi determinada em mufla a 525°C, segundo método padrão da - AOAC (1984).

4.4.5. Minerais

Para a análise dos minerais, preparou-se a solução clorídrica das cinzas de acordo com o método padrão da - AOAC (1980).

4.4.5.1. Cálcio

O teor de cálcio foi determinado de acordo com o método complexométrico com EDTA em solução fortemente alcalina, usando murexida como indicador, segundo método padrão da - AOAC (1980).

4.4.5.2. Magnésio

O teor de magnésio foi determinado pelo método complexométrico com EDTA em pH neutro, usando negro de eriocromo T como indicador, segundo método padrão da - AOAC (1980).

4.4.5.3. Fósforo

O teor de fósforo foi determinado de acordo com o método colorimétrico com molibdovanadato para formar o fosfomolibdovanadato cuja coloração amarelo-alaranjada é medida a 420 nm, segundo método padrão da - AOAC (1980).

4.4.5.4. Ferro

O teor de ferro foi determinado baseando-se no método por espectrofotometria de absorção atômica usando forno de grafite, segundo método padrão do THE PERKIN-ELMER Co.(1981) e SLAVIN (1968).

4.4.6. pH

O pH foi determinado de acordo com FOEGEDING (1987). Amostras (10 mL) foram homogeneizadas com 50 mL de água destilada durante 1 minuto em liquidificador, com posterior leitura em pHmetro Micronal previamente calibrado.

4.4.7. Nitrogênio não protéico

Determinado pelo método de BECKER *et alii* (1940), no qual o nitrogênio protéico é precipitado com ácido tricloroacético a 10% e o nitrogênio não-protéico determinado no sobrenadante após repouso e filtração, pelo procedimento micro-kjeldahl. As determinações do nitrogênio não protéico foram efetuadas logo após o processamento e a cada 5 dias, por um período de 30 dias.

4.4.8. Nitrogênio alfa-amínico

Determinado pela titulação com formol de Sorensen em alíquotas de 10 mL dos extratos obtidos na determinação do nitrogênio não protéico, conforme o método 24.043, da (AOAC, 1975).

4.4.9. Bases voláteis totais

Determinadas através do método de LUECKE & GEIDEL, descrito, por MORGA (1975), que consiste no deslocamento do nitrogênio volátil com óxido de magnésio. O destilado foi recolhido em ácido bórico 2%, usando-se indicador misto de vermelho de metila e verde de bromocresol e titulado com ácido clorídrico 0,02 N. Os resultados foram expressos como mg N volátil/100g de amostra e pelo método do Instituto de Fomento Pesqueiro do Chile (IFOP) descrito por (MORGA, 1975).

4.4.10. Viscosidade

As medidas de viscosidade foram efetuadas logo após o processamento e a cada 3 dias por um período de 30 dias de autólise da silagem em viscosímetro Brookfield, à temperatura de 27°C, segundo (HAARD *et alii*, 1985).

4.4.11. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas por um período não superior a 160 dias segundo POULTER *et alii* (1980), visando o crescimento de microrganismos. As contagens de bactérias foram efetuadas pelo método de diluições sucessivas ou "pour plate" usando agar batata acidificado (HARRIGAN & McCANCE, 1976). A incubação foi realizada a 21°C durante 3-5 dias e o resultado expresso em unidades formadoras de colônias (U.F.C.) por grama do produto analisado (THATCHER & CLARK, 1965).

4.4.12. Lipídios totais

Foi utilizado o método de BLIGH & DYER (1959) para extração e purificação dos lipídios totais. Os lipídios foram extraídos em um sistema ternário de metanol, clorofórmio e água. O extrato final dissolvido em clorofórmio foi empregado para a determinação dos ácidos graxos, índice de peróxido, e índice do ácido 2-tiobarbiturico (valor TBA).

4.4.13. Determinação e análise dos ácidos graxos

Em seguida, o extrato de lipídios foi submetido à saponificação e esterificação para obtenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos HARTMAN & LAGO (1973), os quais foram posteriormente analisados através de cromatografia gasosa-líquida.

4.4.14. Extração dos lipídios totais

A silagem foi previamente descongelada e homogeneizada. A cada 1,0 mL de amostra foi adicionado 20,0 mL da mistura clorofórmio: metanol (2:1), sendo este material agitado em agitador automático FANEN mod 258 por 3 minutos e centrifugado em centrífuga FANEN mod 215 por 5 min a 3000 rpm. O precipitado formado foi descartado e à fração lipídica foi adicionado 0,2 volumes de NaCl a 0,1 M (para agilizar a separação das fases). O material foi novamente agitado por 30 segundos no agitador automático e centrifugado por mais 5 minutos, após o que foi transferido para um funil de decantação.

Após ter ocorrido total separação das fases, a fração líquida superior (contendo proteína, carboidratos, água e metanol) foi desprezada e a fração líquida inferior (contendo lipídios e clorofórmio) foi recolhida em frasco de vidro âmbar e armazenada a -20°C até o momento da preparação dos ésteres metílicos.

4.4.15. Preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos dos lipídios totais

O extrato de lipídios foi concentrado em fluxo contínuo de nitrogênio até aproximadamente 1,0 mL e em seguida transferido para um balão de fundo chato. A este material foram adicionados 5,0 mL de solução de saponificação (KOH 0,5 N em metanol), sendo submetido a aquecimento por refluxo, por 3 a 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 15,0 mL de solução de esterificação (60,0 mL de metanol + 3,0 mL de H_2SO_4 concentrado: 2,0 g de NH_4Cl) mantendo-se sob refluxo por mais 5 minutos, para obtenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.

A solução dos ésteres metílicos foi transferida para um funil de decantação contendo 5,0 mL de água e 5,0 mL de hexano, o qual foi vigorosamente agitado e deixado em repouso até ocorrer total separação entre a fase aquosa e a de solvente (hexano e ésteres metílicos dos ácidos graxos).

A fase inferior (água e impurezas) foi desprezada e em seguida por três vezes consecutivas foram adicionadas 50,0 mL de água destilada a fase solvente, agitando-se vigorosamente o funil com posterior descarte da fase aquosa. Após a última lavagem, a solução de ésteres metílicos foi filtrada em Na_2SO_4 puro, para total desidratação, sendo em seguida recolhidos em frascos de vidro âmbar e armazenados a -18°C até o momento da análise cromatográfica.

4.4.16. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos dos ácidos graxos

O cromatógrafo utilizado foi da marca CG modelo 37, equipado com detector de ionização de chama de hidrogênio. Foi usada coluna de aço inoxidável com 3,0 m de comprimento e 1/8 polegada de diâmetro interno tendo com a fase estacionária o succinato de glicol (DEGS - PE) a 17% e Cromosorb W como suporte sólido, obedecendo-se às seguintes condições de trabalho.

* Tempo para cada cromatograma: 90 minutos

Temperatura da coluna: 190°C ; injetor 300°C e ionizador 270°C .

* Velocidade do gás de arraste:

Nitrogênio = 30 mL/min.

Hidrogênio = 30 mL/min.

Ar sintético = 300 mL/min.

Os ésteres-metílicos dos ácidos graxos suspensos em hexano foram concentrados em fluxo contínuo de nitrogênio até volume próximo de 0,5 - 1,0 mL e aproximadamente 0,5 - 1,5 μ L de amostra foi injetada na coluna.

A porcentagem relativa dos ácidos graxos e os respectivos tempos de retenção (em minutos) foram obtidos por cálculo de áreas de picos, realizado automaticamente através do integrador processador de marca CG mod 300. A identificação posterior dos diferentes ácidos graxos foi obtida comparando-se os tempos de retenção dos ésteres-metílicos dos ácidos graxos padrões (Sigma) cromatografados previamente com os tempos de retenção dos ésteres-metílicos dos ácidos graxos de cada amostra.

4.4.17. Índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado de acordo com o método AOAC (1975) e os resultados expressos em termos de milieqüivalentes de peróxido por 1000g de amostra. O método determina todas as substâncias de uma amostra lipídica, em termos de milieqüivalentes de peróxido por 1000g de amostra, capazes de oxidar o iodeto de potássio nas condições de análise.

4.4.18. Determinação do n^o de TBARS - substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico

O método utilizado nas determinações dos produtos de degradação secundária da oxidação de lipídios pela reação com o ácido 2-tiobarbitúrico foi o proposto por SINNHUBER & YU (1958), através das seguintes etapas:

4.4.19. Composição em aminoácidos

O método utilizado nas determinações por cromatografia de troca iônica foi o proposto por SPACKMANN *et alii* (1958), usando-se um analisador automático Beckman 119-CL. Seguiram-se então, basicamente, as recomendações descritas no manual do aparelho para o preparo das amostras (BECKMAN INSTRUMENTS, 1977).

As amostras foram inicialmente hidrolisadas em tubos de ensaios herméticos, com HCl 6N contendo solução de 2-mercaptoetanol 1/100 na proporção 1:100 (p/v), por 22 horas a 110°C, depois de evaporadas até a secagem e filtração do hidrolisado em coluna Dowex-50-X (100-200 mesh). A solução de aminoácidos foi novamente evaporada até a secagem, a 50°C em atmosfera de N₂. A derivatização das amostras tratadas com KCl-propanol a 110 C/40 min, foi feita com anidrido heptafluorobutírico e acetonitrila a 150°C por 5 minutos.

Após a derivatização, injetou-se alíquota de 3 uL em um cromatógrafo VARIAN 244055, com coluna 3% SE-30 em Chromosorb W-HP, 80-100 mesh (temperatura do injetor = 225°C; temperatura do detector = 280°C; programação

de temperatura = 5-6 C^o /min de 75 a 250^oC). O padrão interno utilizado foi a norleucina e o aparelho ajustado com padrão contendo todos os aminoácidos analisados, na concentração de 0,5 mg/mL.

4.4.20. Determinação do triptofano

No presente trabalho, devido ao método de hidrólise ácida utilizado o teor de triptofano foi determinado em separado, usando-se a reação do p-dimetilaminobenzaldeído (DAB), pois segundo SPIES (1967), o método convencional provoca uma destruição do anél indólico por reações paralelas (via N-formilquinurenina), não sendo possível quantificar o triptofano por meios cromatográficos convencionais (AMAYA-FARFAN, 1980).

4.4.21. Ácidos graxos livres em lipídios

O método determina a acidez titulável de uma amostra de óleo ou gordura, decorrente da hidrólise dos triacilgliceróis pela ação das lipases. Para tanto, a amostra é dissolvida em álcool etílico 95%, neutralizado e aquecido, e a mistura resultante titulada com solução padronizada de álcali, à fenolftaleína (AOAC, 1975).

4.5. Ensaio biológicos

4.5.1. Material e animais para os ensaios

Para os ensaios biológicos utilizaram-se ingredientes comerciais de diversas procedências, como segue: a) óleo de milho comercial (Mazola), b) amido de milho alimentício (Refinações de Milho Brasil, c) sacarose (Açúcar Refinado União).

As gaiolas foram do tipo metabólica individuais, construídas em aço inox, e mantidas em prateleiras.

Os animais utilizados nos ensaios biológicos foram ratos machos da linhagem Wistar, recém-desmamados com 21 dias de idade provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas, SP.

4.6. Preparo das dietas

4.6.1. Dieta para ratos

Na realização dos ensaios biológicos, foram preparadas dietas cujas composições está especificada conforme AOAC (1975), sendo que as proporções usadas estão na Tabela 4.

A composição da mistura mineral utilizada foi a especificada na "United States Pharmacopeia - USP XIX", AOAC (1975), Tabela 5, e a mistura

vitamínica para fortificação da dieta animal, representada na Tabela 6 da NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORPORATION (1977/1978).

Tabela 4 Formulação básica utilizada para o preparo das dietas utilizadas nos ensaios biológicos, segundo AOAC (1975)

Componentes	Dieta protéica	Dieta aprotéica
Proteína	10	0
Gordura (óleo de milho comercial)	8	8
Sais minerais (a)	4	5
Vitaminas (b)	2	2
Sacarose (açúcar refinado comercial)	1/3 do peso para 100	
Amido (amido de milho comercial)	2/3 do peso para 100	

a. Mistura mineral preparada conforme AOAC (1975)

b. Mistura vitamínica preparada conforme o INC Diet Catalog (NBC, 1977 e 1978).

Tabela 5 Formulação da mistura salina utilizada na elaboração dos ensaios biológicos segundo AOAC (1975).

Componentes	Fórmula	Quantidade (g)
Carbonato de cálcio	CaCO_3	38,14
Bifosfato de potássio	KH_2PO_4	38,90
Cloreto de sódio	NaCl	13,93
Sulfato de magnésio	MgSO_4	5,73
Sulfato ferroso	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,70
Sulfato de manganês	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,40
Sulfato de zinco	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,05
Sulfato de cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,04
Sulfato de cobalto	$\text{CoC}_{12} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,002
Iodeto de potássio	KI	0,079

Tabela 6. Formulação da mistura (*) vitamínica para fortificação de dietas utilizadas nos ensaios biológicos, segundo Nutritional Biochemicals Corporation (1977/78).

Componentes	Quantidade (g)
Parte A	
Vitamina A Palmitato 250 C.W.S.	3,60
Vitamina D3 Po 100 C.W.S.	1,00
Vitamina E Po 50% SO	10,00
ácido ascórbico	45,00
Cloridrato de Tiamina (vitamina B1)	1,00
Cloreidrato de Piridoxina (vitamina B6)	1,00
Biotina	0,02
Pantotenato de cálcio	3,00
Ácido Fólico	0,09
Riboflavina (vitamina B2)	1,00
Cianocobalamina 0,1%	1,35
Inositol	5,00
Menadiona	1,47
Ácido para-aminobenzóico	5,00
Niacina	4,50
Dextrose	416,12
Parte B	
Cloreto de Colina 50%	150,00
Dextrose	350,00

Fonte: NBC (1977 /78).

(*) Mistura igual das duas partes, misturando-se no momento de uso.

4.6.2. Procedimento de ensaio

Durante os ensaios biológicos os ratos foram mantidos individualmente, em gaiolas metabólicas, as quais, permitem a separação de fezes e urina, sob temperatura ambiente dentro da faixa de neutralidade térmica para o rato

(22 ± 1 °C), umidade relativa entre 50-60%, com ciclos de luz artificial de 12 horas, alternados.

Os ratos recém-desmamados, de aproximadamente 21 dias, foram alimentados com dieta comercial e água *ad libitum* por um período de 10 dias e 5 de adaptação.

A distribuição dos ratos nos grupos que receberam os diferentes tratamentos foi feita após pesagem e depois do período de aclimatação, através de sorteio ao acaso (blocos casualizados).

Em seguida os ensaios biológicos foram conduzidos em três etapas.

4.7. Avaliação nutricional da silagem - Determinações do quociente de eficiência alimentar e da eficiência protéica líquida . (Ensaio A)

Este ensaio teve como objetivo avaliar nutricionalmente o uso da silagem nova (30 dias de armazenamento) e silagem antiga com 90 dias de armazenamento. O experimento constou de 5 tratamentos com 8 ratos por repetição, criados em gaiolas durante 10 dias e 5 de adaptação com peso médio de $61,42 \pm 3,09$ g. Os tratamentos constaram de 5 dietas isoprotéicas e isocalóricas, cujo conteúdo protéico ($10,3 \pm 0,07\%$ de proteína), foi fornecido por caseína, silagem nova, silagem antiga e Nuvilab CR-1 autoclavável (dieta não purificada

de fórmula fechada, da Nuvital Nutrientes Ltda), contendo (22,5% de proteína) e aptotéica como fontes protéicas.

4.8. Utilização da silagem nas fases de crescimento e terminação baseada em experimento com ratos (Ensaio B)

Este ensaio foi conduzido com o objetivo de se avaliar a complementação protéica com o uso de silagem de tilápia do Nilo em rações que são empregados usualmente na alimentação de suínos nas fases de crescimento e terminação, utilizando-se o rato como modelo experimental. O experimento constou de 8 tratamentos com 6 ratos por repetição, com peso individual de $53,35 \pm 3,10$ g, durante 10 dias, com pesagem a cada 5 dias com balanço de nitrogênio no final do experimento.

Os níveis de adição de silagem adotados foram: 0%, 5%, 10% e 15% (GREEN, 1984), respectivamente com o milho e o farelo de soja, na relação de 3,41 na fase de crescimento e 4,88 na fase de terminação (BATTERHAM & GORMAN, 1980), que foram substituídos pela silagem de tilápia em base protéica, sendo a mistura salina usada proporcionalmente para completar a ração a 100% como recomendado na literatura por (GREEN, 1984; GREEN et alii, 1988), comparando-se os efeitos dos níveis de substituição parcial do milho e farelo de soja por silagem, sendo a ração base final composta de milho, farelo de soja, sais minerais e vitaminas, com 16% de proteína bruta na fase de crescimento e 14% de proteína bruta na fase de terminação (GREEN, 1984).

Os tratamentos constaram de 8 dietas isoprotéicas e isocalóricas sendo:
LRC1 - Ração de crescimento (16% de proteína bruta) Ração Controle, baseada

em milho e farelo de soja, 2. RC2 - Ração Controle (milho e farelo de soja) + 5% de silagem de peixe, 3.RC 3 Ração Controle (milho e farelo de soja) + 10% de silagem de peixe, 4.RC 4 - Ração Controle (milho e farelo de soja) + 15% de silagem de peixe (Tabela 7) e Ração de terminação 1. RT 1 (14% de proteína bruta), - Ração Controle, baseada em milho e farelo de soja, 2.RT 2 Ração Controle (milho e farelo de soja) + 5% de silagem de peixe, 3.RT 3 - Ração Controle (milho e farelo de soja) + 10% de silagem de peixe, 4.RT 4 - Ração Controle (milho e farelo de soja) + 15% de silagem de peixe (Tabela 8).

Tabela 7. Composição percentual das rações de crescimento para suínos (25 - 60 kg) utilizadas pelos ratos no ensaio biológico

Ingredientes	Ração RC 1	Ração RC 2	Ração RC 3	Ração RC 4
Milho	74,72	69,85	64,96	59,98
Farelo de soja	21,88	20,45	19,04	17,63
Silagem de peixe	-	5,00	10,00	15,00
Mistura salina	2,30	3,30	4,30	5,30
Mistura vitamínica	1,60	1,60	1,60	1,60
Valores calculados				
p\proteína bruta	16,00	16,00	16,00	16,00

Tabela 8. Composição percentual das rações de terminação para suínos (60 - 98 kg) utilizadas pelos ratos no ensaio biológico.

Ingredientes	Ração RT 1	Ração RT 2	Ração RT 3	Ração RT 4
Milho	80,52	75,12	69,54	64,01
Farelo de soja	16,50	15,65	14,25	13,10
Silagem de peixe	5,00	10,00	15,00	
Mistura salina	2,30	3,30	4,30	5,30
Mistura vitamínica	1,60	1,60	1,60	1,60
Valores calculados				
p\ proteína bruta	14,00	14,00	14,00	14,00

Ao final do experimento foram coletados dados tomando-se como base os seguintes parâmetros: ganho de peso, ingestão de dieta, quociente de eficiência alimentar, nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado (fezes e urina), balanço nitrogenado aparente, digestibilidade aparente, valor biológico aparente e utilização líquida aparente da proteína.

4.9. Avaliação nutricional da complementação protéica da caseína com as silagens integral e parcialmente desengorduradas (Ensaio C)

Este ensaio teve por objetivo a avaliação do efeito da complementação protéica da caseína com as silagens integral e parcialmente desengordurada nas dietas de caseína. O experimento constou de 8 tratamentos com 6 ratos por repetição, com peso médio de $44,27 \pm 2,03$ g durante 10 dias com balanço de nitrogênio de 5 dias.

Os tratamentos constaram de 8 dietas isoprotéicas e isocalóricas, cujo conteúdo protéico ($10,5 \pm 0,09\%$ de proteína) que foram fornecidos por: Caseína, Caseína + 5% de silagem com óleo, Caseína + 5% de silagem sem óleo, Caseína + 10% de silagem com óleo, Caseína + 10% de silagem sem óleo, Caseína + 15% de silagem com óleo, Caseína + 15% de silagem sem óleo e aprotéica. O nitrogênio foi analisado nas fezes e urina, sendo que na urina o conteúdo era recolhido em 10 mL de ácido sulfúrico a 20%.

4.10. Parâmetros avaliados nos ensaios

4.10.1. Quociente de eficiência protéica líquida (NPR)

Na avaliação da qualidade nutricional da silagem de tilápia do Nilo, foi determinado o quociente de eficiência líquida da proteína NPR, descrito por BENDER & MILLER (1953), utilizando-se ratos em crescimento conforme ESPE et alii (1989), com um peso médio entre 44 a 64 g, no início do ensaio. Além dos grupos que receberam as rações com as proteínas em estudo, foram

empregados sempre os grupos controle em dieta aprotéica e de caseína. Durante os ensaios, foram controlados os ganhos de peso dos animais, assim como as quantidades de dieta consumidas. Findo o período estabelecido, o índice NPR foi calculado pela equação:

$$\text{NPR} = \frac{\text{GP teste} + \text{P.P. aprot}}{\text{P. ing.}}$$

GP teste = ganho de peso do grupo alimentado com a dieta contendo a proteína em estudo.

PP aprot. = perda de peso do grupo alimentado com a dieta aprotéica.

P ing = proteína em estudo, ingerida.

4.10.2. Determinação da digestibilidade e do valor biológico

A digestibilidade e o valor biológico das proteínas foram estimadas com base no balanço de nitrogênio. O nitrogênio ingerido com a dieta foi analisado nas fezes e urina, sendo a urina recolhida em 10 mL de ácido sulfúrico a 20%. Os animais receberam as dietas com as fontes protéicas em estudo e a água "ad libitum", sendo a coleta de fezes e urina, assim como o controle de dieta consumida, sempre feitas por um período de cinco dias, após os animais terem se adaptado à dieta pelo mesmo período de tempo.

O valor biológico (VB) foi calculado pela fórmula:

$$VB = \frac{N_{ing} - (N_{fezes} - N_{fezes\ aprot}) + (N_{urina} - N_{urina\ aprot})}{N_{ing} - (N_{fezes} - N_{fezes\ aprot})}$$

N urinário = nitrogênio total eliminado na urina.

N urinário aprot = nitrogênio total eliminado na urina, pelo grupo aprotéico.

Os balanços metabólicos também permitiram o cálculo da utilização líquida da proteína (NPU), pela relação:

$$NPU(\%) = \frac{N_{ing} - (N_{fezes} - N_{fezes\ aprot}) + (N_{urina} - N_{urina\ aprot})}{N_{ing}} \times 100$$

A digestibilidade aparente e verdadeira foram calculadas conforme descrito por (WOLZACK, 1981).

O cálculo foi feito pela equação:

$$\text{Digestibilidade aparente } \% = \frac{N_{ing} - N_{fezes}}{N_{ing}} \times 100$$

N ing = nitrogênio total ingerido com a ração.

N fezes = nitrogênio total eliminado nas fezes.

A digestibilidade verdadeira das proteínas foi estimada com base na determinação do nitrogênio total eliminado nas fezes pelo grupo de ratos

alimentados com dieta aprotéica, além das determinações feitas para o cálculo da digestibilidade aparente.

O cálculo foi feito pela equação:

$$\text{Digestibilidade verdadeira \%} = \frac{\text{N ing} - (\text{N fezes} + \text{N fezes aprot})}{\text{N ing}} \times 100$$

N fezes aprot = nitrogênio total eliminado nas fezes pelo grupo em dieta aprotéica.

4.11. Análises estatísticas

O delineamento estatístico experimental utilizado nos ensaios biológicos foi inteiramente casualizado (PIMENTEL GOMES, 1985). Para comparação entre médias, foi feita a análise de variância, e se diferentes do teste F, analisadas de acordo com Tukey. Usou-se a regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, para definir as equações das retas de evolução ponderal dos animais nas diferentes dietas (SNEDECOR & COCHRAN, 1967).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Composição química da tilápia utilizada

Os resultados da composição proximal da matéria prima utilizada para preparação da silagem encontra-se na Tabela 9.

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 (SHARDA *et alii*, 1976). Isto não se refletiu na composição do pescado do gênero *Tilapia* aqui estudada mesmo classificado como refugo.

Observa-se que para as 4 amostras de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus, Linnaeus*) os teores de umidade, lipídios e proteínas e cinzas corresponderam a 76,62% para umidade, 17,07 para proteína, 3,57% para lipídios e 2,33% para cinzas. Estes dados estão de acordo com o relato de FREITAS *et alii* (1982), que analisando a composição do híbrido de *Tilapia nilotica* com *Tilapia hornorum* verificaram que a proteína apresentou 17,52 a 17,62%, de umidade; 74,32% a 75,63%, de cinzas; 1,73 a 2,32% e 3,75 a 7,48% para lipídios de acordo com o período analisado. Segundo os mesmos autores, esta variação no teor de lipídios deveu-se à presença de gordura cavitária, em diferentes proporções nas amostras analisadas.

Tabela 9. Dados sobre umidade, proteína bruta (N x 6,25), lipídios e cinzas da tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, São Paulo, quando da fase de despesca.

Fonte Prot	Ensaios	Umidade %	Proteína %	Lipídios %	Cinzas %
Peixe 1	10/02/91	76,64 a ±1,50	17,07 a ±0,53	3,56 a ±0,00	2,33 a ±1,09
Peixe 2	20/04/91	76,63 a ±0,71	17,08 a ±0,45	3,59 a ±0,14	2,34 a ±0,50
Peixe 3	25/06/91	76,62 a ±0,48	17,07 a ±0,31	3,58 a ±0,05	2,35 a ±0,19
Peixe 4	20/08/91	76,61 a ±1,01	17,08 a ±0,09	3,55 a ±0,64	2,33 a ±0,19
Média		76,62	17,07	3,57	2,33

I. Valores médios e desvios-padrão de 3 determinações.

a. Valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

A maior variação ocorreu no teor de cinzas com um coeficiente de variação (CV) de 17,86% e, em seguida em menor grau pelos teores de lipídios, com um (CV) de 10,60%, seguida pela proteína, com um (CV) de 2,65% e finalmente a umidade com um (CV) de variação de 1,29%. FREITAS *et alii* (1979) relatam que a composição da tilápia do Nilo, apresenta variações mais acentuadas nos teores de cinzas (0,7 - 4,2%), estando as menores variações nos teores de umidade e proteína, onde quase todas as espécies

apresentam valores semelhantes, podendo a tilápia ser enquadrada como peixe magro de alto teor protéico.

A análise de variância não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras para as variáveis umidade, proteína, lipídios e cinzas

5.2. Composição centesimal da silagem integral e desengordurada

Nas Tabelas 10 e 11, estão apresentados os resultados da composição da silagem ácida de pescado integral e desengordurada nas diversas amostras estudadas. Observa-se na Tabela 11 que o teor de lipídios decresceu de 3,26% para 0,48% depois do processo de retirada do óleo através da decantação, que teve duração de 15 a 20 dias durante o processo de armazenagem.

Como esperado, a composição centesimal da silagem de tilápia do Nilo foi praticamente a mesma da composição da matéria-prima que a originou, demonstrando homogeneidade do produto final, fato comprovado por outros autores (TIBBETTTS *et alii*, 1981; BATISTA, 1987; WIGNAL & TATTERSON, 1976; FAGBENRO *et alii*, 1994; GREEN *et alii*, 1988).

Por outro lado, ainda, com relação à composição química, a mesma manteve-se constante ao longo do período de armazenagem. Com isso, a quantidade de 3% de ácido fórmico a 98%, em relação ao peso do peixe moído, geralmente recomendada na literatura (DISNEY *et alii*, 1979; TATTERSON &

WINDSOR, 1974; BERAQUET & GALACHO, 1983), foi julgada satisfatória, não alterando os dados da composição centesimal.

Tabela 10. Dados sobre a composição aproximada da silagem integral de tilápia do Nilo (*Oreochomis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, São Paulo, quando da fase de despesca.

Fonte Prot.	Ensaios	Umidade %	Proteína %	Lipídios %	Cinzas %
Silagem I 1	10/02/91	77,24 a ±0,11	16,30 a ±0,07	3,28 a ±0,50	3,19 a ±0,01
Silagem I 2	30/04/91	77,25 a ±0,24	16,31 a ±0,21	3,27 a ±0,36	3,18 a ±0,01
Silagem I 3	11/06/91	77,26 a ±0,29	16,32 a ±0,05	3,26 a ±0,05	3,17 a ±0,08
Silagem I 4	25/08/91	77,27 a ±0,52	16,31 a ±0,12	3,25 a ±0,69	3,16 a ±0,09
Média		77,25	16,31	3,26	3,17

I. Valores médios e desvios-padrão de 3 determinações.

a. Valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Para os quatro lotes da silagem ácida de pescado, a média dos teores de umidade, proteínas, lipídios e cinzas corresponderam a 77,25% (77,24 - 77,27%) para umidade, 16,31% (16,30 - 16,32%) para proteínas, 3,26% (3,25-3,28%) para lipídios totais e 3,17% (3,16 - 3,19%) para cinzas, respectivamente. A maior variação ocorreu no teor de lipídios com um coeficiente de variação (CV) de

1,72%, seguido em menor grau pelo teor de cinzas com um (CV) de 1,65%, proteína com um (CV) de 0,87% e finalmente por umidade com um (CV) de 0,42%.

Estes resultados aproximam-se daqueles obtidos, segundo diferentes autores que encontraram teores protéicos que variaram para a silagem de vísceras entre 10,2 a 15,4% (BALOGUM *et alii*, 1986) de 12,4 a 15,4% para pescado inteiro (TATTERSON & WINDSOR, 1974), e de 12,8 a 14,2% para sardinha inteira (*Sardinella brasiliensis*) (BERAQUET & GALACHO, 1983).

TATTERSON & WINDSOR *et alii* (1974), elaborando uma silagem ácida de pescado de forma semelhante à este experimento, com resíduos de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) contendo 71,06% de umidade, 16,16% de proteína, 6,23% de gordura e 6,56% de cinzas, consegui uma silagem líquida com 71,80% de umidade, 18,74% de proteínas, 4,14% de gordura e 4,17% de cinzas.

A análise de variância não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras para as variáveis umidade, proteína, lipídeos e cinzas, nas silagens de peixe.

TATTERSON & WINDSOR (1974), utilizando 3,0% de ácido fórmico a 98% obtiveram 6 fórmulas de silagem com diferentes pescados e o pH ficou em torno de 4,0 em todas as fórmulas. O teor de proteína ficou em torno de 14,9%, o teor de gordura variou de 0,5 a 16,3% e os minerais em torno de 2,5%.

Tabela 11. Dados sobre a composição aproximada da silagem desengordurada de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus), (peixe inteiro) provenientes de Indaituba, S.P, quando da fase de despesca.

Fonte Prot.	Ensaios	Umidade %	Proteína %	Lipídios %	Cinzas %
Silag D 1	20/02/91	77,64 a ±0,11	17,25 a ±0,07	0,48 a ±0,20	3,63 a ±0,01
Silag D 2	10/04/91	77,69 a ±0,24	17,24 a ±0,21	0,49 a ±0,19	3,64 a ±0,01
Silag D 3	12/06/91	77,66 a ±0,29	17,25 a ±0,05	0,48 a ±0,17	3,63 a ±0,08
Silag D 4	03/08/91	77, a ±0,52	17,21 a ±0,12	0,48 a ±0,17	3,,62 a ±0,09
Média		77,66	17,23	0,48	3,63

I. Valores médios e desvios-padrão de 3 determinações.

a. Valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

5.3. Composição em minerais

Os resultados da composição em Ca, P, Mg e Fe na silagem de tilápia do Nilo estão representados na Tabela 12, onde observa-se que estes resultados foram constantes e uniformes, refletindo a homogeneidade da matéria prima.

Mais ainda, estes resultados são comparáveis com os encontrados por diversos autores que correlacionaram o efeito dos diversos fatores que podem determinar a biodisponibilidade dos diferentes minerais na silagem de peixe, explicando que são necessários devido ao importante papel que possuem junto ao metabolismo animal (SMITH, 1977; DISNEY et alii, 1979; MANDELLI, 1972).

Ao analisarmos a Tabela I2, comprovamos que a composição em minerais dos diferentes lotes de silagem de tilápia do Nilo tendo um peso médio de 150 g (150 - 152 g), apresentou como média dos teores de cálcio, fósforo, magnésio e ferro, valores que corresponderam respectivamente a 1,42% (1,41 - 1,43%) para o cálcio, 0,97% (0,96 - 0,98%), para o fósforo, 0,61% (0,60 - 0,63%) para o magnésio e, 0,07% (0,05 - 0,08%) para o ferro. A maior variação ocorreu no teor de ferro, com um coeficiente de variação (CV) de 15,43%, seguida em menor grau pelo teor de magnésio, com um (CV) de 1,61%, o fósforo, com um (CV) de 1,11% e finalmente o cálcio, com um (CV) de 1,04%.

Entretanto, é possível observar uma grande variação entre os valores referidos por alguns autores que são, mais uma vez, reflexo das diferentes matérias-primas que incidem na composição final destes produtos. Além deste fato, verifica-se que para o cálcio, GRENN (1984) apresentou valores que variaram entre 0,7 a 1,65 mg/100 g de silagem, para o fósforo, valores entre 0,4 a 2,0 mg/100 g de silagem; para o magnésio, 0,5 a 1,05 mg/100 g e para o ferro, 0,05 a 0,09 mg/100 g de silagem. Outro fator composicional importante a considerar no valor nutritivo da silagem de peixe é o teor de manganês. Em trabalho realizado por MANDELLI (1972), o autor concluiu que este mineral está presente na silagem de peixe nos teores de 0,5 a 0,7 mg/100 g de silagem.

Tabela 12. Composição em Ca, P, Mg e Fe dos distintos lotes de silagem¹ de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) (peixe inteiro) provenientes de Indaiatuba, São Paulo, quando da fase de despesca.

Fonte Prot.	Ensaios	Cálcio mg/100g	Fósforo mg/100g	Magnésio mg/100g	Ferro mg/100g
Silagem 1	20/02/91	1,41 a ±0,01	0,96a ±0,01	0,60 ±0,01	0,08a ±5,77
Silagem 2	10/04/91	1,42 a ±0,01	0,97 a ±0,01	0,61 a ±0,01	0,05a ±0,01
Silagem 3	12/06/91	1,42 a ±0,01	0,98 a ±0,01	0,62 a ±0,01	0,07 a ±0,01
Silagem 4	03/08/91	1,43 a ±0,01	0,97 a ±0,01	0,62 a ±0,01	0,08 a ±0,01
Média		1,42	0,97	0,61	0,07

1. Valores médios e desvios-padrão de 3 determinações.

a. Valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$).

A análise de variância não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras, para as variáveis cálcio, fósforo, magnésio e ferro nos diversos lotes observados.

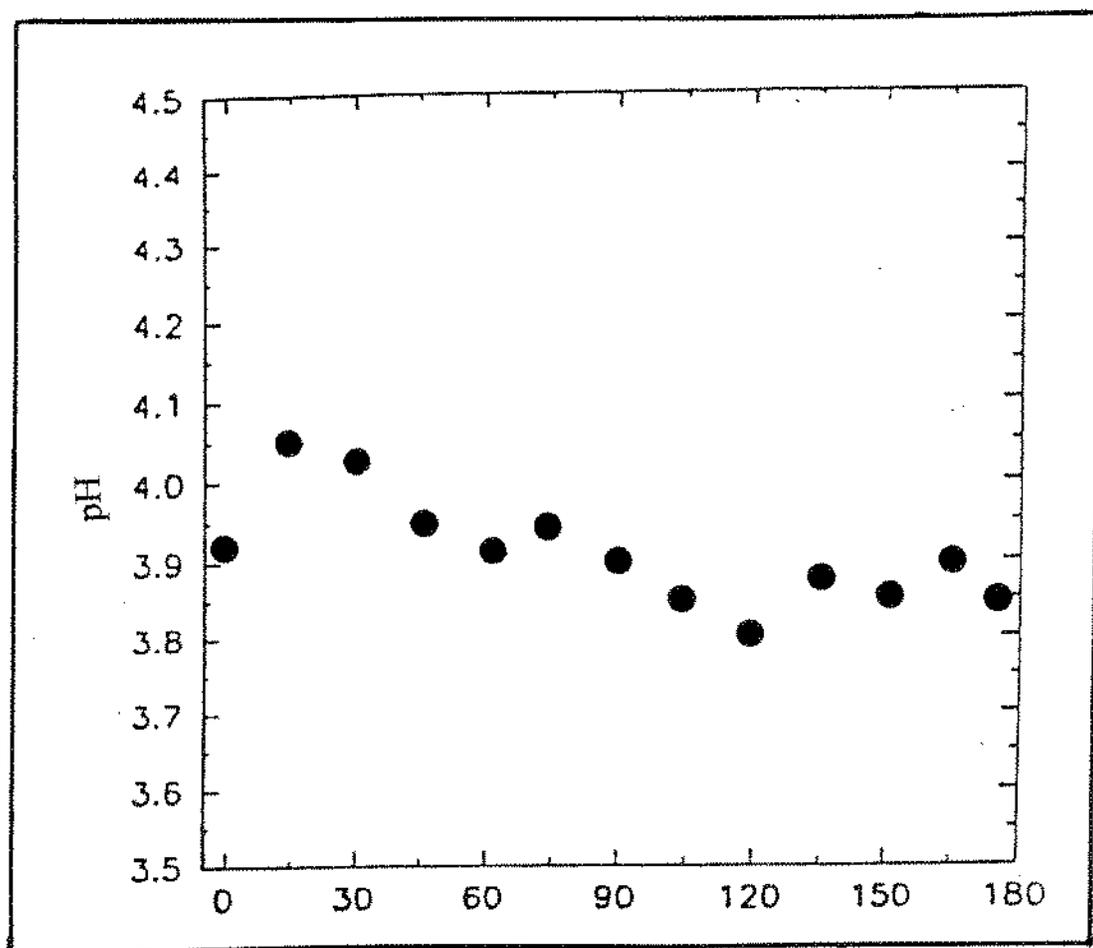
5.4. Valores de pH

A Figura 4 apresenta os valores de pH na silagem de tilápia do Nilo durante 180 dias de armazenagem. O material se liquefaz já na primeira semana sob efeito do ácido fórmico, mostrando-se praticamente inalterado até os 180 dias de armazenagem, quando apresentou em média pH de 3,80.

Em estudo conduzido com silagens de peixe, ESPE *et alii* (1989) verificaram que, o processo de liquefação pode acontecer com o ácido fórmico dentro de uma variação de pH entre 4,0 a 4,5, devido às propriedades anti-sépticas deste ácido, em relação aos ácidos inorgânicos com pH igual a 2,0. O ácido fórmico tem como vantagem de que a preservação é conseguida num pH mais alto e o alimento não necessita de neutralização, liquefazendo-se mais rapidamente, de modo que os lipídios separem-se mais facilmente das proteínas (HARDY *et alii*, 1983).

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

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



Tempo de armazenagem em dias

Figura 4. Valores de pH na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3,8 durante 180 dias.

Outros autores mostraram que a liquefação completa das silagens de peixe é favorecida por valores ácidos de pH 3,8 a 4,0 e temperatura acima de 27°C, sendo que as transformações mais óbvias que ocorrem durante a armazenagem

da silagem de peixe são a autólise dos tecidos e liberação de amônia (DISNEY *et alii*, 1979).

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

5.5. Alterações na fração protéica

5.5.1. Conteúdo de nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total

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

Entretanto, podemos observar na Figura 5, que os valores do nitrogênio não-protéico, sofreram um aumento em relação ao nitrogênio total, durante 30 dias de armazenagem à temperatura de 25°C, sendo rápida nos primeiros dias,

atingindo níveis entre 55 a 60 %, para em seguida tornar-se mais lenta. A partir desta tempo os valores de nitrogênio não-protéico permanecem constantes sem muito acréscimo aos valores iniciais, representada pela equação do tipo $y = a.x/b + x$, que representa uma hipérbole.

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

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

GREEN (1984) relata que o nitrogênio não-protéico não é indicado como avaliador do índice de frescor, mas tem importância para avaliação do processo de armazenagem da silagem de pescado. O mesmo autor observa que, sua

determinação resulta num parâmetro para julgar as condições de conservação do produto, assim como o tempo de armazenagem.

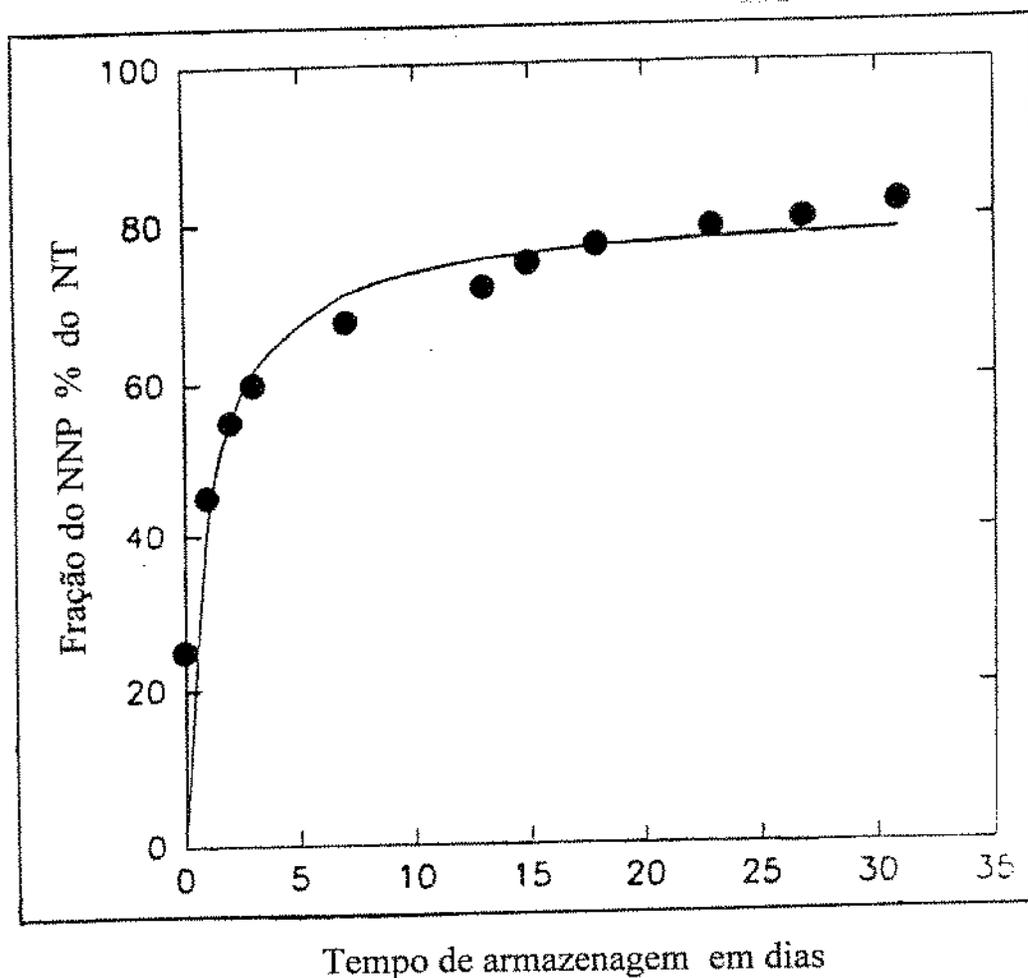


Figura 5- Formação de nitrogênio não-protéico na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22 - 25°C e pH 3,8 durante 30 dias.

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

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

5.5.2. Conteúdo de nitrogênio alfa-amínico

A figura 6, mostra a variação do teor de nitrogênio alfa-amínico ao longo do experimento na silagem de tilápia do Nilo de, 1,54 g a 4,34 g / 100g, respectivamente 1 a 180 dias após a liquefação da mistura.

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

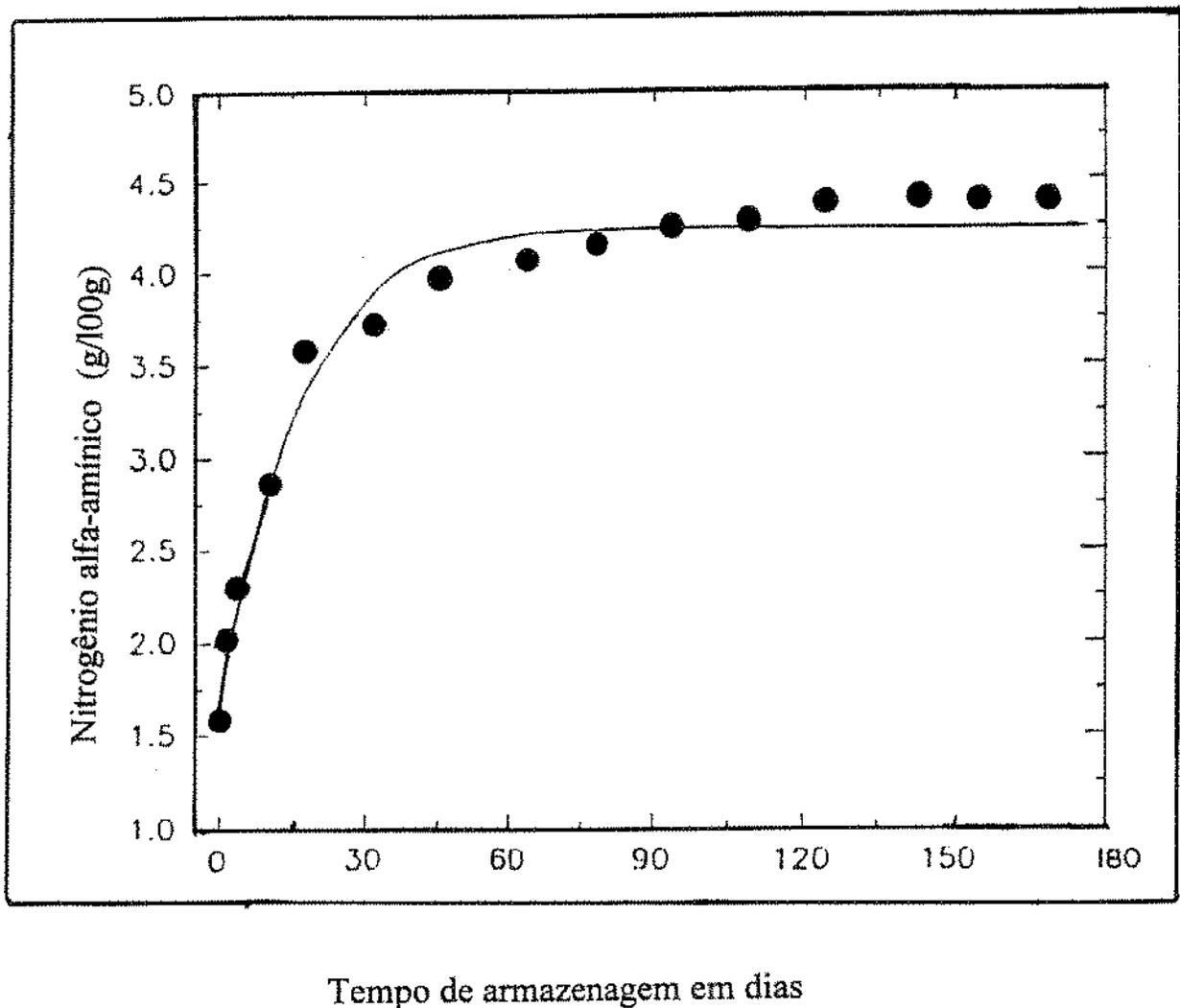


Figura 6- Valores do nitrogênio alfa-amínico na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3,8 durante 180 dias.

Esse elevação do teor de nitrogênio alfa-amínico, durante as primeiras semanas de armazenagem a 25°C foi simultânea à elevação no conteúdo de nitrogênio não-protéico em relação ao nitrogênio total discutido previamente no item anterior, no entanto, deve-se considerar os produtos secundários próprios da hidrólise protéica, mono e dimetilamina, necessários para desenvolver as características desejáveis da silagem (MENDES & LAJOLO, 1975).

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

5.5.3. Aminoácidos

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados da determinação da composição aminoacídica da silagem nova (com 30 dias de armazenamento), silagem antiga (com 90 dias de armazenamento), farelo de soja, caseína e milho, assim como os valores do escore químico para obtenção da qualidade de tais fontes protéicas, obtidos em relação ao padrão teórico de referência da National Academy of Sciences (1980).

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

Em termos de aminoácidos essenciais, considerando o triptofano que foi determinado segundo SPIES (1967), os seguintes valores médios (g /16g N), em

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

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

Pela composição dos aminoácidos, com exceção do triptofano com (escore químico EQ 0,96) a silagem nova revelou-se como boa fonte de aminoácidos essenciais (AAEs). Constatou-se também pelo escore químico (EQ) (Tabela 13), que os aminoácidos, triptofano (EQ 0,54), leucina (EQ 0,85), ácido aspártico (EQ 0,89) e isoleucina (EQ 0,90) que foram limitantes na silagem antiga, sendo equivalentes ao trabalho de (GREEN, 1984), quando o autor obteve para os mesmos aminoácidos escores químicos semelhantes.

Para COLE (1978), os três primeiros aminoácidos mais comumente limitantes em dietas para suínos são, pela ordem lisina, treonina e metionina + cistina. Entretanto, alguns autores demonstraram que a suplementação de rações para suínos com lisina, metionina e triptofano, predispõe a um aumento

significativo do ganho de peso, assim como na eficiência da conversão alimentar, Esta maior eficiência foi observada nas primeiras etapas de desenvolvimento dos suínos (12 - 35 kg de peso vivo) nas fase de (crescimento) observando-se aumento significativo no ganho de peso, ingestão de dieta e quociente de eficiência alimentar (BATTERHAM & GORMAN, 1980), fato observado também nos ensaios biológicos no presente trabalho com ratos (Tabela 17).

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

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

Entretanto, a composição dos aminoácidos nas silagens nova e antiga apresentam também muita semelhança com as farinhas de peixe (Anexo 4), quando são feitos da mesma matéria-prima, porém , deve ser lembrado que esses

produtos não são produzidos a partir de uma mesma matéria-prima, o que demonstra que as silagens proporcionam uma resposta ótima em termos de taxa de crescimento e eficiência alimentar (GRENN, 1984), muito embora, o preço da farinha de peixe no mercado mundial esteja atualmente fixado no seu conteúdo bruto em proteínas, este por si só, não reflete o real valor da farinha. O valor nutritivo real das proteínas está na capacidade de fornecerem os aminoácidos essenciais aos animais alimentados nas quantidades necessárias para suas necessidades metabólicas.

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

Tabela 13. Conteúdo de aminoácidos (g /16 g N) e escore químico das fontes protéicas utilizadas para a elaboração das dietas, cuja determinação foi feita por troca iônica.

Aminoácido	Silagem nova	Silagem antiga	Farelo de soja	Caseína	Milho	Padrão I
Isoleucina	5,64	3,80	1,81	5,4	2,5	4,2
Leucina	9,27	6,00	3,69	10,2	10,3	7,0
Lisina	9,90	6,80	2,65	7,8	2,2	5,1
Metionina	3,05	2,70	0,64	2,8	1,9	-
½ Cistina	1,22	0,98	-	0,2	-	-
Sulfurados totais	4,27	3,90	0,64	3,0	1,9	2,6
Tirosina	3,20	3,12	-	6,1	-	-
Fenilalanina	4,36	4,10	2,11	5,6	3,6	-
Aromáticos totais	7,56	7,22	2,11	11,7	3,6	7,3
Treonina	4,35	3,90	1,80	4,9	2,9	3,5
Valina	5,25	5,12	2,05	6,9	3,9	4,8
Serina	3,80	3,60	2,42	6,8	3,7	-
Alanina	8,10	4,23	2,12	3,2	6,3	-
Triptofano	1,06	0,60	-	-	-	1,1
Histidina	2,20	2,10	-	2,9	-	1,7
Arginina	8,35	7,10	3,17	4,1	3,2	-
Ac. Glutâmico	18,27	12,30	8,82	27,4	17,2	-
Ac. Aspártico	12,30	7,00	5,13	8,6	5,4	-
Glicina	8,12	6,05	1,98	1,9	3,0	-
Prolina	4,25	3,90	2,33	10,0	7,2	-
Escore químico	96,30	54,5	24,6	115,30	43,1	-

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

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

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

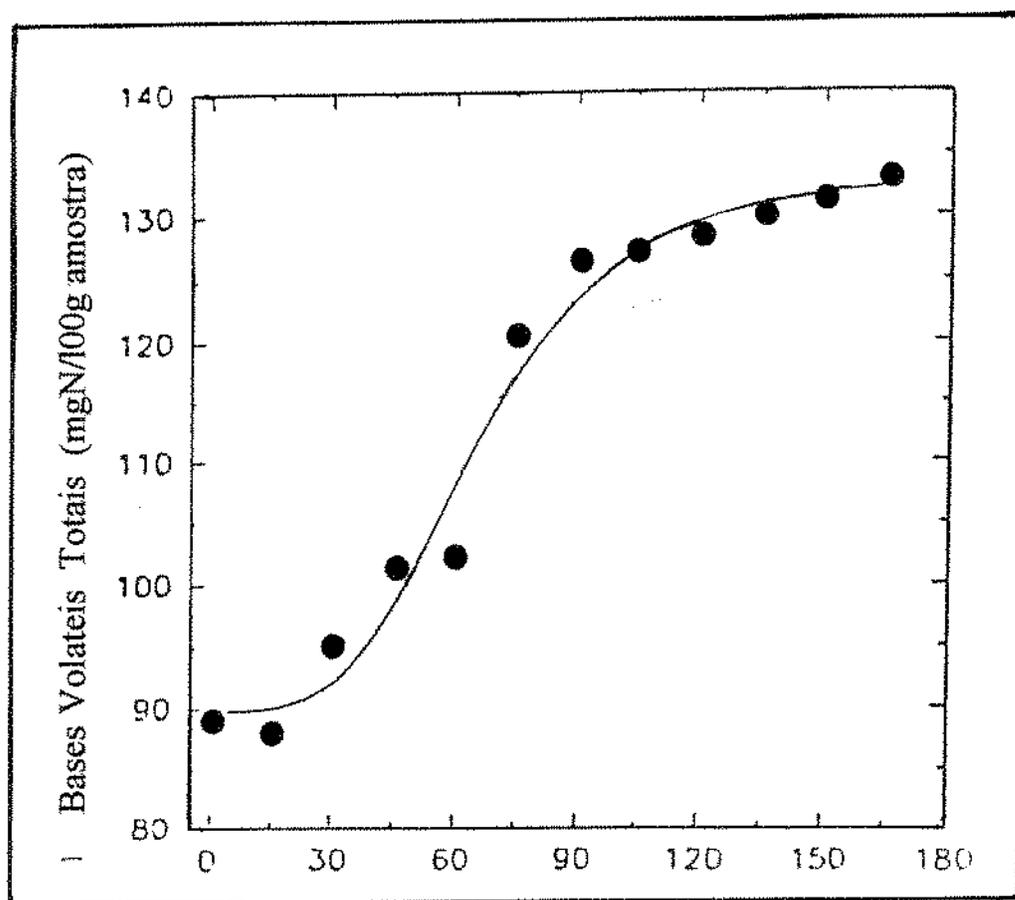
Dessa forma, em função desses resultados, conclui-se que a magnitude da decomposição dos aminoácidos, foi maior na silagem armazenada durante 90 dias do que nas amostras realizadas durante os primeiros 30 dias nos quais apresentam uma quantidade menor de produtos decompostos particularmente dos aminoácidos essenciais leucina, isoleucina, lisina e triptofano, porém não afetando significativamente o ganho de peso dos animais em relação as silagens armazenadas por longos períodos de tempo.

5.5.4. Bases voláteis totais

A Figura 7 mostra os valores da variação das bases voláteis totais. Na primeira fase até os 30 dias, observa-se uma inclinação suave da curva, demonstrando progressão lenta do processo, aumentando gradativamente de acordo com o tempo de armazenagem.

No caso específico, a partir do 80º dia, o valor das bases voláteis, embora tenha aumentado, ainda se manteve dentro dos limites normais, se comparado com os 145 mg N/ 100 g assinalados como limite máximo para silagem de pescado (RAA & GILDBERG, 1982), já que a putrefação estava inibida pelo

teor de ácido do meio, sabendo-se no entanto que o nitrogênio volátil é um dos compostos resultantes da decomposição protéica.



Tempo de armazenagem em dias

Figura 7 - Valores das bases voláteis totais na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3,8 durante 180 dias.

É importante salientar que, para certos tipos de silagens de peixe serem consideradas de boa qualidade, elas devem apresentar teores de N-BVT inferior a 120 mg/ 100 g de silagem (BACKHOFF, 1976). Por sua vez JOHSEN &

SKREDE (1981), sugerem como padrão tentativo, que a silagem de vísceras deva apresentar teores máximos de N-BVT na faixa de até 150 mg/100 g de silagem. O mesmo ocorreu com trabalhos apresentados por RAA & GILDBERG (1976), que encontraram valores de cerca de 130 mg/100 g de N-BVT na silagem de resíduos durante 110 dias de armazenagem, enquanto TATTERSON & WINDSOR (1974) informam que silagem de cabeça e vísceras apresentaram teores de N-BVT acima de 110 mg /100 g de silagem.

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

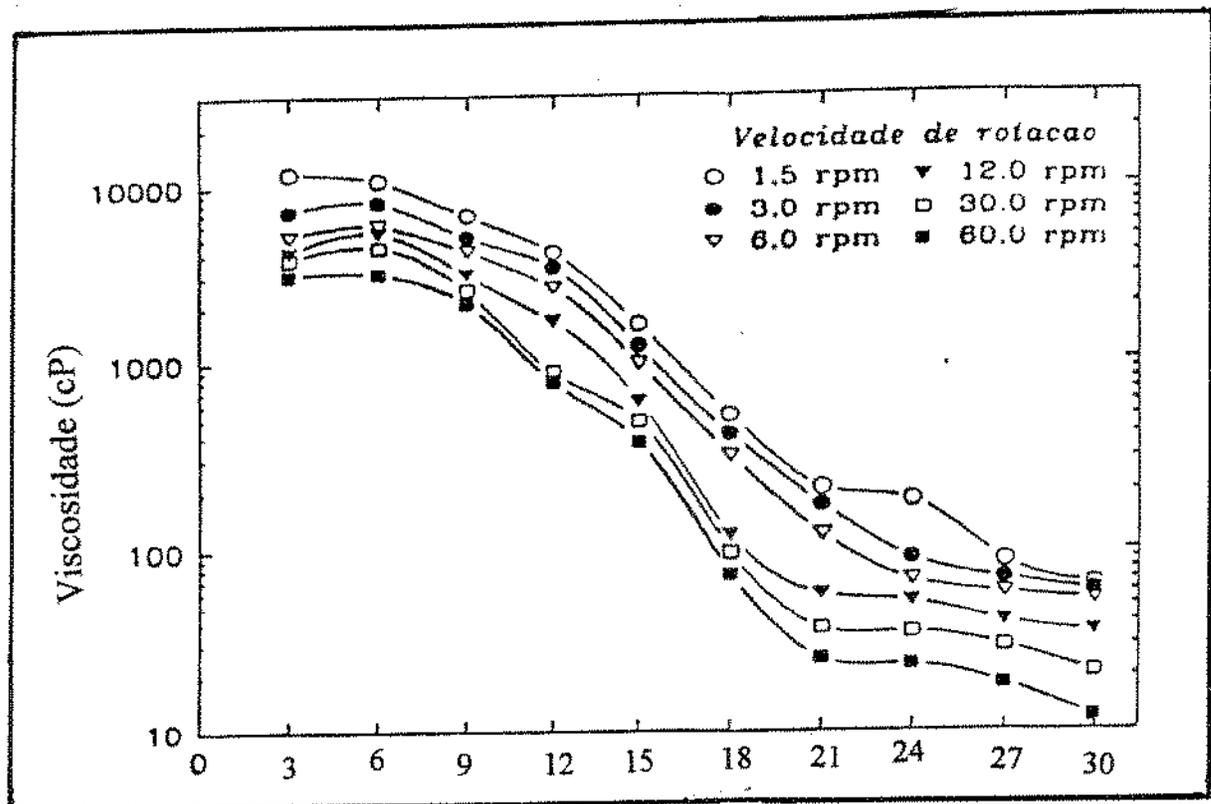
5.6. Viscosidade

Os resultados apresentados na Figura 8, utilizando-se diferentes cilindros , (1,5), (3), (6), (12), (30) e (60) rpm (rotação por minuto), indicam que a viscosidade aparente no processo de autólise caiu gradativamente a medida que

se realizava a autólise, sendo mais intensa nos primeiros dias onde a viscosidade era reduzida de 10.000 cP a 100 cP ou menos até o 21º dia de armazenamento, onde se notou uma pequena estabilidade por volta dos últimos 3 dias.

Entretanto, entre as diferentes viscosidades observadas, a 1,5 rpm foi a que resultou em maiores valores de viscosidade, indicando que foram diferentes significativamente ($p < 0,05$) e superiores às demais. Para tanto, o alto teor de gordura da silagem de tilápia pode ter sido responsável pelo decréscimo na porcentagem de viscosidade observada nas diferentes velocidades, sendo que, o mecanismo pelo qual ocorreu a redução esteve relacionado ao grau de oxidação lipídica durante a armazenagem. Ao final do 30 de armazenagem a porcentagem de redução dos valores de viscosidade em relação ao valor inicial foram respectivamente 10.800 e 55 centipoise, 8.200 e 45 centipoise, 6.080 e 42 centipoise, 5.500 e 31 centipoise, 4.500 e 18 centipoise, 3.200 e 10 centipoise, consideravelmente inferiores aos observados por HALL (1985) quando a silagem de peixe era reduzida de 1.500 cP a cada dois dias de armazenamento, à temperatura acima de 25°C.

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



Tempo de armazenagem em dias

Figura 8 - Viscosidade da silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 27°C e pH 3,8 durante 30 dias.

BACKHOFF (1976) relata que a concentração de nitrogênio não-protéico aumenta durante o armazenamento da silagem, o que foi correlacionado com o produto que ficava mais fluído, melhorando a solubilidade do produto no momento da homogeneização. Essa intensa redução na viscosidade foi simultânea à elevação nos valores de TBARS, como será discutido posteriormente, indicando que a presença de lipídios oxidados pode ter

contribuído para a redução da solubilidade. Isto pode ter sido causado principalmente nas proteínas insolúveis ou ainda em função do próprio processo de adição de ácido, o qual rompe completamente as fibras musculares, levando a uma insolubilização inicial das proteínas miofibrilares (RAA & GILDBERG, 1982).

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

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

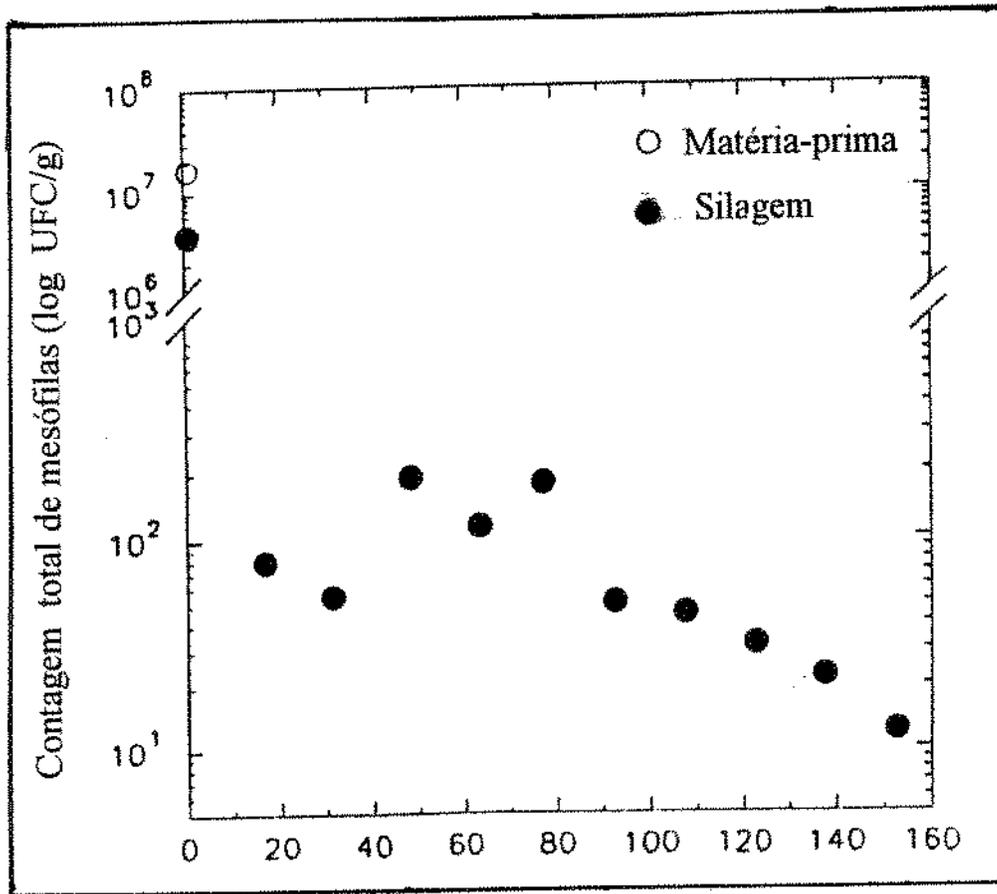
5.7. Contagem de mesófilos

Na figura 9 estão os resultados das contagens totais de mesófilos na matéria-prima e na silagem de tilápia do Nilo, onde constata-se que a população bacteriana total de mesófilos na matéria-prima, antes do processamento, e expressa em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g), variou de $1,7 \times 10^7$ UFC/g onde se observa que a contagem microbiana encontrava-se acima dos padrões estabelecidos pela COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (CNNPA, 1978).

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

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

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



Tempo de armazenagem em dias

Figura 9. Contagem total de mesófilos na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22 -25°C e pH 3,8 durante 160 dias.

5.8. Alterações no óleo

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

Na Figura 10, observa-se que o teor de ácidos graxos livres não variou durante o transcorrer dos experimentos na armazenagem à temperatura ambiente, após 60 ° dia estabilizando-se até os dias finais do experimento, demonstrando que, a pequena variação que ocorreu nos ácidos graxos durante os 180 dias, com média de $26,41 \pm 1,19$, não mostrou diferença significativa entre as amostras ($p > 0,05$) em relação aos valores iniciais, que ficou ao redor de $24,8 \pm 0,89$.

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

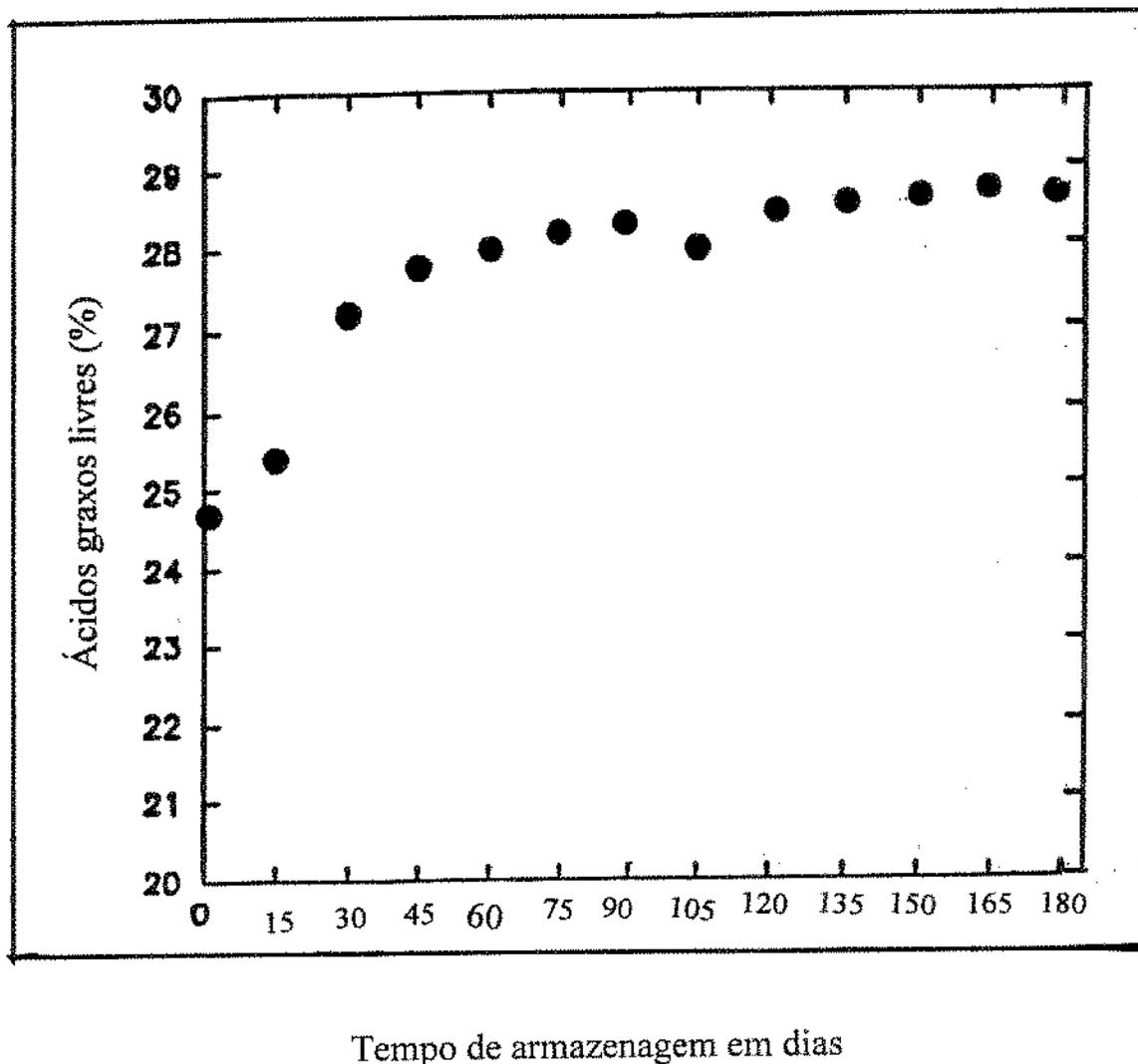


Figura 10 - Valores dos ácidos graxos livres na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenada à temperatura de 22-25°C e pH 3,8 durante 180 dias.

BERAQUET & GALACHO (1983), trabalhando com resíduos de pescada e sardinha obtiveram, após 30 dias de armazenagem, teores de ácidos graxos livres na silagem de sardinha que praticamente dobraram para 48,5% e, a partir daí, mantiveram-se razoavelmente estáveis até os 90 dias de armazenagem,

período de duração do experimento. Segundo os mesmos autores, para a pescada (*Cynoscion acoupa*) também houve um pequeno aumento no teor de AGL até o trigésimo dia de armazenagem, a partir do qual a degradação de lipídios também se estabilizou. Isto provavelmente se deve ao pH e ao método de extração utilizado no estudo, já que REECE (1980) verificou que a recuperação do óleo em um meio ácido como a silagem resulta em valores altos de AGL, devido a dissociação e extração de sais de ácidos graxos solúveis em água e também devido a ação de lipases que atuam em pH em torno de 4,0. O mesmo autor sugere o aquecimento da silagem, no início do processo, a 45-50°C durante alguns minutos, reduzindo a atividade lipolítica das enzimas presentes, e conseqüentemente, a formação de ácidos graxos livres.

5.8.1. Composição em ácidos graxos do óleo extraído da silagem armazenado à temperatura ambiente

Com relação à composição dos ácidos graxos do óleo extraído da silagem de tilápia do Nilo, armazenada à temperatura ambiente (Tabela 14), embora os resultados encontrados sejam compatíveis com outros estudos citados na literatura HALL & LEDWAR (1986), também observou-se muita semelhança com a silagem de peixes da costa brasileira XIMENES CARNEIRO (1991), devido principalmente ao teor de gordura encontrados nesses peixes

Neste trabalho foram identificados aproximadamente 98% dos ácidos graxos (AG) na silagem, correspondendo a 22 AG diferentes, todos contendo de

10 a 22 carbonos, sendo que 12 desses AG foram encontrados em concentrações inferiores a 1%, entretanto JOHNSEN & SKREDE (1981), utilizando diferentes metodologias de análise identificaram 99,5% dos AG da silagem (30 AG), dos quais apenas 8 se apresentaram em concentrações superiores a 1% do total de ácidos graxos da silagem analisada.

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

O ácido oléico (18:1) foi o AG encontrado em maior quantidade na silagem de tilápia do Nilo (Tabela 14), corroborando com os resultados apresentados na literatura (BACKHOFF, 1976; GRENN, 1988), sendo que a maior quantidade deste, é devido à sua presença nos lipídios de peixe (OLCOTT, 1962).

A análise dos valores encontrados para a silagem de tilápia do Nilo, em comparação com o perfil de ácidos graxos estudados por HALL & LEDWARD (1986) mostra que as quantidades foram semelhantes nos ácidos graxos 14:0 e 20:5; maiores nos ácidos graxos 16:0, 18:0 e 18:1 e menores nos ácidos graxos 16:1, 18:1, 18:3, 20:4, 22:5 e 22:6.

Tabela 14. Composição dos ácidos graxos (%) do óleo extraído da silagem.

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

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

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

O óleo da silagem de pescado tem a propriedade bastante útil de fornecer ácidos graxos essenciais para engorda de suínos. Porém a necessidade de certos ácidos graxos em dietas de suínos ainda está sendo discutida. Os AGPI 18:2 w 6 e 18:3 w 3 não são sintetizados pelo organismo animal, sendo fornecidos pela dieta e através do mecanismo de dessaturação e alongação da cadeia carbônica, dando origem aos AGPI de cadeia longa, como o 20:4 w 6 (ácido araquidônico) eicosapentaenóico (20:5 w 3) e docosahexanóico (22: 3 w 6) (CASTER *et alii*, 1962), sendo que a alta insaturação destes AGPI pode resultar em reações de oxidação, cujos produtos interagem com as proteínas da silagem diminuindo seu valor nutricional (DE OLIVEIRA, 1977).

Portanto, a composição lipídica da silagem é de grande importância e desempenha importantes funções metabólicas no organismo dos monogástricos, como por exemplo: fornecem a maior parte das calorias necessárias ao crescimento e desenvolvimento dos animais, veiculam vitaminas lipossolúveis GRENN (1988) e fornecem ácidos graxos essenciais (AGE) e polinsaturados (AGPI) (CASTER *et alii*, 1962).

5.8.2. Teor de malonaldeído estimado pela técnica do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)

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

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

A Figura 11, mostra a evolução do conteúdo, em mg de malonaldeído/100g da mostra, durante 180 dias de armazenagem. Observa-se que, em relação aos teores de malonaldeído na silagem de tilápia do Nilo durante o período de armazenagem, foi possível estabelecer relação linear entre o teor de malonaldeído e o tempo de armazenagem. Esta correlação foi forte e positiva,

com coeficiente de correlação de Pearson, r próximo a unidade, de acordo com a equação $y = 2,09 x + 14,22$, $r = 0,9834$.

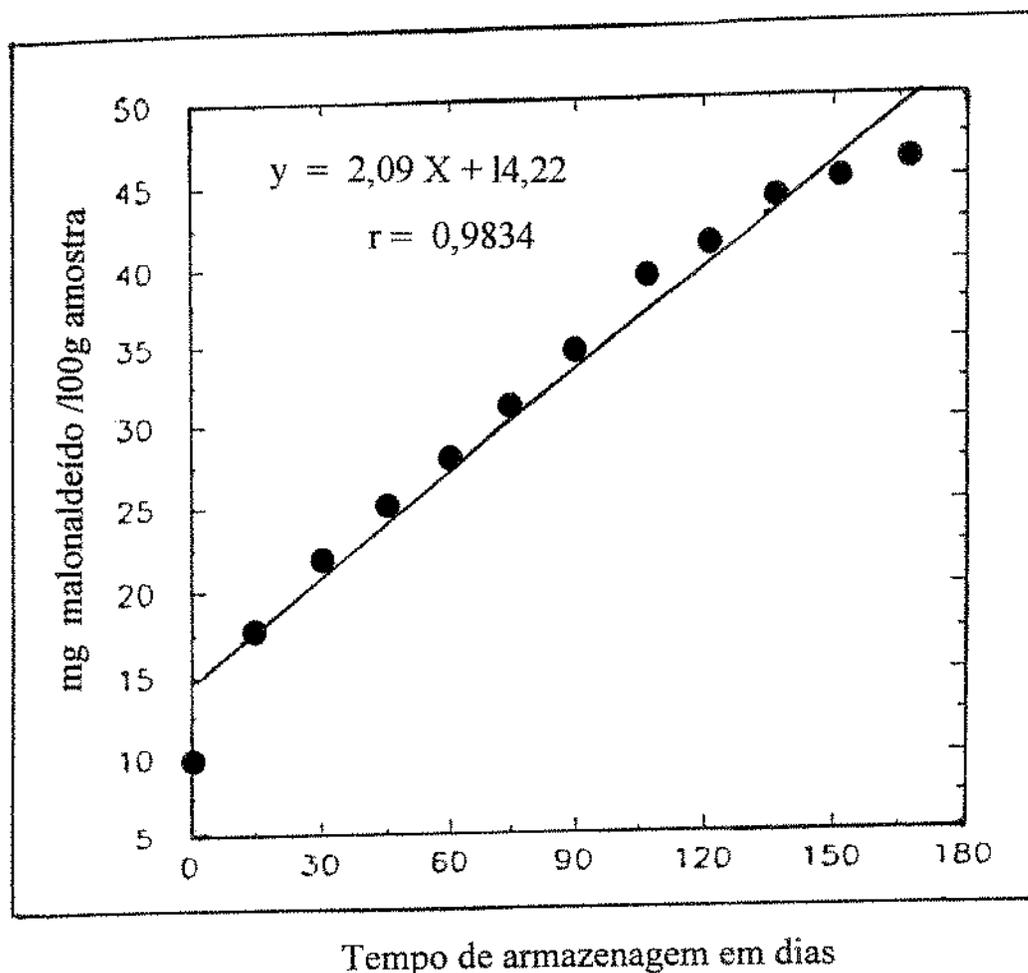


Figura 11- Teores de malonaldeído na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) armazenado à temperatura de 22-25°C e pH 3,8 durante 180 dias.

De um modo geral, a oxidação da silagem, medida pelo nível de malonaldeído formado, apresentou um aumento progressivo significativo da produção de malonaldeído durante o curso da armazenagem, atingindo 45 mg em 180 dias. Possivelmente, os compostos que reagem com o ácido tiobarbitúrico

que são de estrutura semelhante ao aldeído malônico, são carregados pela silagem, já que são parcialmente solúveis em água.

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

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

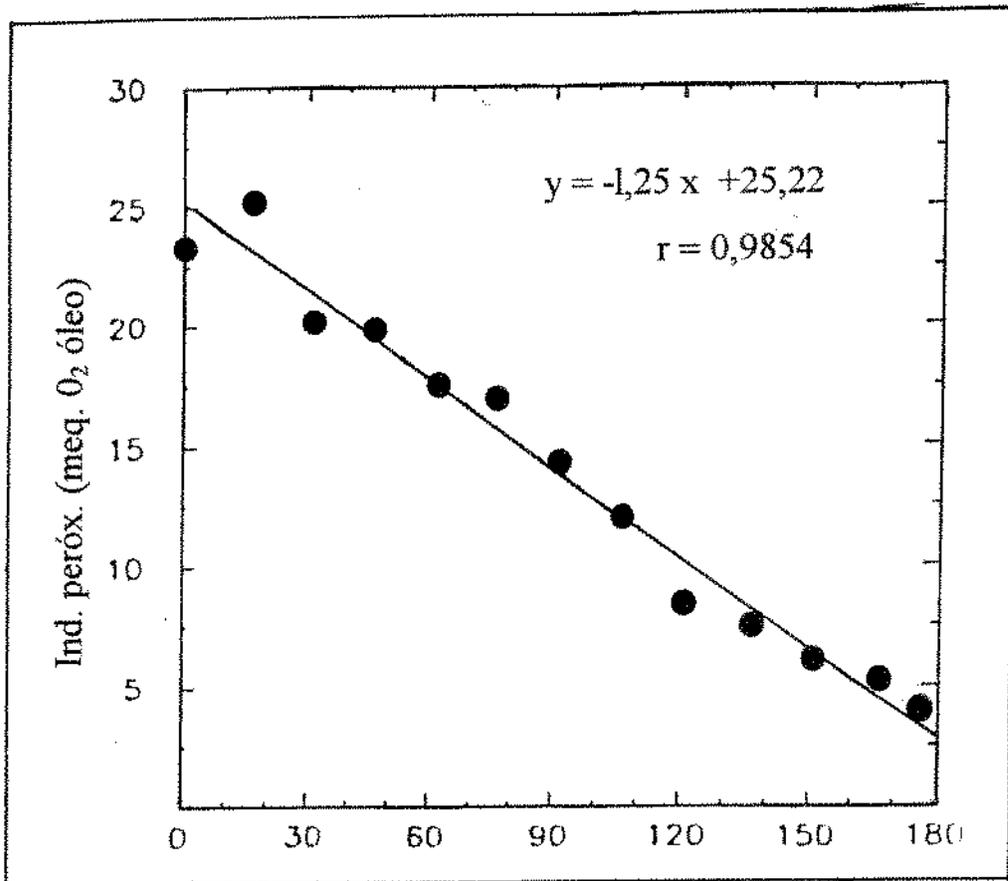
5.8.3. Valores do índice de peróxido

Os valores do índice de peróxidos na silagem de tilápia do Nilo durante o processo de armazenagem estão apresentados na Figura 12, onde podemos observar que esses valores decresceram linearmente e significativamente durante

todo o período de armazenagem havendo decréscimo de 25,22 meq O_2 /kg do período inicial até 4,40 meq O_2 / kg de óleo aos 180 dias.

Essa intensa inclinação acentuada da reta, representa uma forma típica de decomposição dos peróxidos, que têm um valor máximo e logo decrescem, com o aumento das TBARS. Em produtos marinhos, valores de peróxidos de 25 a 30 meq O_2 /kg da gordura são considerados aceitáveis (LEA, 1962).

Assim, o índice de peróxido que mede a quantidade de oxidantes contidos numa determinada substância, assumindo que todos eles são peróxidos, apresentou valores decrescentes a partir do 15^o dia até atingir uma decomposição regular e constante, tendendo a uma estabilidade no fim do processo , fato observado também por LEA (1962), que faz algumas citações a respeito do assunto relatando diminuição elevada desde o início, não sendo observado odor de ranço no produto. Resultados obtidos por GREEN, (1984), confirmam que os valores de peróxidos diminuem quadraticamente com o tempo de armazenagem de 16,3 meq O_2 /kg de óleo no 1^o dia a um nível relativamente estável de aproximadamente 5,3 meq O_2 /kg de óleo do 40^o dia ao 111^o dia de armazenagem. Entretanto, uma concentração máxima de peróxidos foi registrada no 1^o dia de armazenagem que, em seguida, diminuiu, provavelmente como resultado da decomposição dos peróxidos em produtos secundários, fato observado em silagens de pescado inteiro por GREEN (1984). O desenvolvimento de sabores incomuns na gordura é atribuído a estes produtos secundários de oxidação, especialmente carbonílos (LABUZA,1971).



Tempo de armazenagem em dias

Figura 12 - Valores dos índices de peróxidos na silagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis (Oreochromis) niloticus*, Linnaeus) armazenado à temperatura de 22-25°C e pH 3,8 durante 180 dias.

Segundo LOGANI & DAVIS (1980), as reações entre peróxidos e proteínas causam a perda da atividade enzimática, polimerização, quebra da cadeia polipeptídica, formação acelerada de pigmentos marrons e destruição de resíduos de aminoácidos lábeis, o que não parece ser o caso do presente trabalho.

5.9. Ensaio biológicos

Um total de vinte e hum tratamentos foram testados em três diferentes ensaios biológicos, diferenciados quanto ao tipo e/ou conteúdo das fontes protéicas, as quais entraram na formulação das dietas ou rações.

5.9.1. Avaliação nutricional da silagem - Determinação dos quocientes de eficiência alimentar e de eficiência protéica. (Ensaio A)

A evolução dos pesos médios dos animais nas diversas dietas, ao longo dos últimos 15 dias do experimento, estão dispostas na Figura 13. Observa-se que, para todas as dietas, foi possível estabelecer relação linear entre o ganho de peso dos ratos e o tempo na respectiva dieta em dias. Estas relações foram, em todos os casos, positivas e altas, com coeficientes de correlação de Pearson, r , próximos à unidade, representadas pelas correlações: caseína ($y = 64,6388 + 4,7543 x$, $r = 0,9421$), Nuvilab ($y = 61,5490 + 5,5024 x$, $r = 0,9131040$), silagem nova ($y = 62,3966 + 2,9671 x$, $r = 0,8951$), silagem antiga ($y = 61,6925 + 0,78625 x$, $r = 0,8701$) e aprotéica ($y = 61,9822 + (-0,70467 x)$, $r = 0,9126$,

Na Tabela 16, estão os resultados dos ensaios de avaliação nutricional com a silagem de tilápia que podem explicar, satisfatoriamente, o perfil dos parâmetros na determinação dos quocientes de eficiência alimentar e de

eficiência protéica com a silagem de tilápia do Nilo, durante 10 dias de experimento.

Observa-se que, em todas as dietas, caseína, Nuvilab, silagem nova e antiga (Tabela 16), apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) para as variáveis ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID), quociente de eficiência alimentar (QEA), quociente de eficiência líquida da proteína (NPR) e quociente de eficiência líquida da proteína relativa (RNPR).

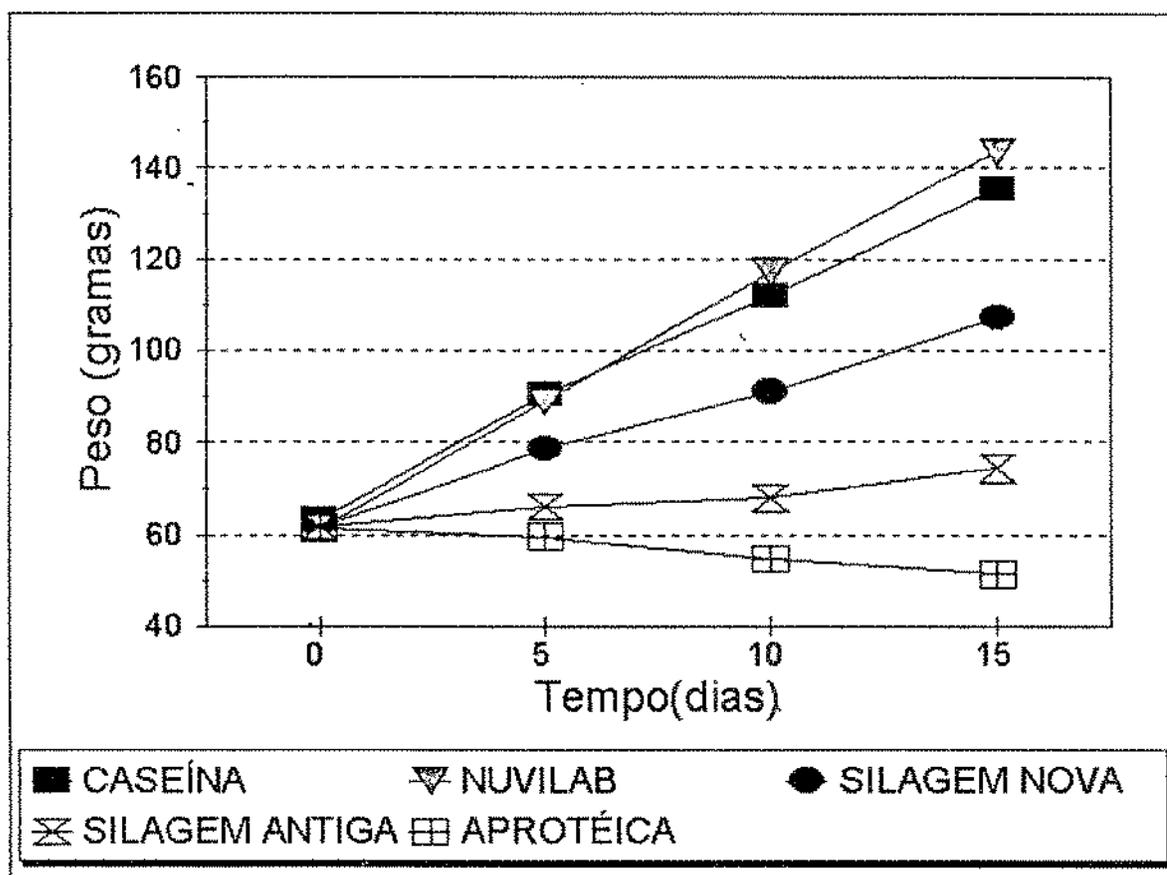


Figura 13. Regressões lineares para as relações entre o peso médio dos ratos Wistar, em gramas, e o tempo do experimento em dias, para diversas dietas balanceadas, quando alimentados com dietas cujo conteúdo protéico (10%) foi fornecido por caseína, silagem nova, silagem antiga e dieta aprotéica. Utilizaram-se grupos de 8 animais, com peso médio inicial de $61,42 \pm 3,09$ g.

Tabela 15. Ensaio de avaliação nutricional com silagem de tilápia em ratos¹ Wistar previamente adaptados às dietas de caseína, silagem nova, silagem antiga (10,2 ±0,07% de proteína), (nuvilab com 22,5% de proteína) e aprotéica como fontes protéicas durante 10 dias.

Dietas ²	Ganho de peso (g)	Ingestão de dieta(g)	QEA ³	NPR ⁴	RNPR ⁵
Caseína	44,92 b ±6,76	190,71 a ±22,43	0,24 ab ±0,02	2,58 a ±0,30	
Nuvilab	54,77 a ±6,88	209,87 a ±21,03	0,26 a ±0,02	1,18 c ±0,10	0,46 b ±0,03
Silagem nova	28,86 c ±3,46	145,21 b ±27,01	0,20 b ±0,03	2,22 b ±0,32	0,86 a ±0,13
Silagem antiga	8,14 d ±3,30	80,85 c ±14,49	0,10 c ±0,04	0,22 d ±0,06	0,08 c ±0,02

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 8 ratos pesando 61,42 ± 3,09g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. Caseína

Nuvilab

Silagem nova - (30 dias de armazenamento)

Silagem antiga - (90 dias de armazenamento)

3. QEA - Quociente de eficiência alimentar

4. NPR - Quociente de eficiência líquida da proteína

5. RNPR - Quociente de eficiência líquida da proteína relativa

a.b.c.d - Valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significativa (p > 0,05)

Comparando-se os tratamentos, os ratos em dieta Nuvilab apresentam o maior ganho de peso ($p < 0,05$) diferindo portanto das demais. Isto foi devido ao maior teor protéico desta dieta, de 22,5% em relação as demais. Entretanto, com relação a silagem antiga, o ganho de peso dos ratos foi o estatisticamente menor ($p < 0,05$) quando comparada à silagem nova. De acordo com alguns autores, uma redução no valor nutritivo com o crescente grau de autólise na silagem de peixe tem sido relatada em experimentos com ratos (STROM & EGGUM, 1981) trutas (HARDY *et alii*, 1984; STONE & HARDY, 1986) e suínos (RAA & GILDBERG, 1982), devido, provavelmente, à reação dos compostos carbonílicos provenientes da quebra dos hidroperóxidos, com os aminoácidos das proteínas autolisadas, diminuindo o valor nutricional da silagem.

Resultados obtidos por STROM & EGGUM (1981) confirmam que dietas compostas de silagens recém preparadas, foram significativamente superiores as silagens armazenadas durante longos períodos de tempo. Entretanto, a determinação da quantidade de aminoácidos disponíveis realmente utilizáveis pelo animal, em oposição ao total presente no alimento, é fundamental, visto que o real valor nutritivo de uma proteína não depende tão somente do seu conteúdo em aminoácidos essenciais, mas também da disponibilidade biológica (OLLEY *et alii*, 1968).

Em estudo conduzido com ratos com o propósito de determinar o período ideal de adição de silagem mais adequada nas dietas STROM & EGGUM (1981), verificaram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as dietas para o ganho de peso médio, porém, para conversão alimentar e no NPR, foram verificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Na ingestão de dieta (ID), verificou-se que as dietas de caseína e Nuvilab $209,87 \pm 21,03$ não apresentam diferença estatística ($p > 0,05$) entre ambas, sendo significativamente superiores as demais, aos 10 dias, em relação aos outros tratamentos. Comparada à Nuvilab, a silagem antiga foi a que apresentou uma menor ingestão de dieta ($p < 0,05$) em relação às demais dietas analisadas.

No quociente de eficiência alimentar (QEA), as dietas de caseína e Nuvilab também não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$), entre ambas, aos 10 dias, mas o Nuvilab foi significativamente diferente da silagem nova e antiga, porém os ratos do Nuvilab tiveram aparentemente o maior QEA, sendo muito próximo da caseína e este da silagem nova, diferindo portanto da silagem antiga que apresentou menor QEA, diferindo portanto dos demais, o que nos leva a concluir que somente um tratamento, a silagem antiga foi estatisticamente inferior em relação às demais dietas analisadas.

No quociente de eficiência líquida da proteína (NPR), o padrão, caseína $2,58 \pm 0,03$ foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos outros tratamentos diferindo, portanto, dos demais. Portanto, pelo fato de o tratamento silagem nova ter sido significativamente superior ao Nuvilab, existindo diferença entre silagem nova e caseína ao nível de 5%, requer-se um certo cuidado especial para quaisquer conclusões entre estes dois tratamentos, pois a silagem nova apresentou um NPR bem superior as demais dietas a nível de 5%.

No quociente de eficiência líquida da proteína relativa (RNPR), a silagem nova $0,86 \pm 0,13$ foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos.

A importância desses resultados está no fato de que um dos problemas mais críticos no emprego do uso da silagem de pescado na alimentação animal, é o tempo de armazenamento, que é usado como um critério de qualidade, confirmam resultados obtidos em por vários autores (RAA & GILDBERG, 1982; STROM & EGGUM, 1981), a de que, a utilização de uma silagem recentemente preparada (20 a 30 dias), apresenta um maior valor nutricional em relação a silagem armazenada por mais de 90 dias, pois há evidências que os aminoácidos essenciais, particularmente, leucina, isoleucina, lisina e triptofano, são gradualmente destruídos provavelmente por interações com os lipídios oxidados, permitindo o desenvolvimento de substâncias tóxicas BERTULLO (1989), o que explica o baixo valor nutricional encontrado para a referida silagem, como ficou demonstrado através da baixa utilização da proteína dietética pelos ratos.

Finalmente, em relação ao tempo de armazenagem, seu efeito é crucial para a resposta esperada, demonstrado através dos baixos valores da silagem antiga ao longo do armazenamento como um critério de qualidade para a silagem de pescado, confirmando resultados obtidos em observações de vários autores (RAA & GILDBERG, 1982; ESPE *et alii*, 1989).

5.9.2. Utilização da silagem nas fases de crescimento e terminação baseada em experimento com ratos. (Ensaio B)

A evolução dos pesos médios dos animais, nas diversas rações ao longo dos 10 dias de experimento, estão dispostas nas Figuras 14 e 15. Observa-se que,

para todas as dietas, foi possível estabelecer relação linear entre o ganho de peso dos ratos e o tempo na respectiva dieta em dias. Estas correlações foram, em todos os casos, positivas e fortes, com coeficiente de correlação de Pearson, r , próximo à unidade, representadas pelas correlações: No crescimento: RC 1 ($y = 53,5255 + 5,48343 x$, $r = 0,9294$), RC 2 ($y = 54,5678 + 5,49583x$, $r = 0,9312$), RC 3 ($y = 53,4069 + 5,38492x$, $r = 0,9347$), RC 4 ($y = 53,5098 + 5,09873 x$, $r = 0,9294$), e na terminação: RT 1 ($y = 53,4950 + 5,98506x$, $r = 0,9357$), RT 2 ($y = 54,6098 + 5,99876x$, $r = 0,94054$), RT 3 ($y = 53,5490 + 5,23092x$, $r = 0,9300$), RT 4 ($y = 53,9867 + 5,45873x$, $r = 0,9326$).

Na Tabela 16 podemos observar os valores médios, com os respectivos desvios-padrão referentes à dieta consumida no balanço (g), variação de peso durante adaptação e balanço (g) e o peso das fezes no balanço (g), previamente adaptadas as rações com fontes protéicas, contendo milho, farelo de soja, e silagem de peixe nas rações de crescimento e terminação para suínos, baseada em experimento com ratos, concernentes ao ensaio B.

Observa-se que, entre as rações analisadas, a análise de variância (Teste F) (Tabela 16) não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (dieta consumida no balanço e variação de peso no balanço), diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (variação de peso (adaptação) e peso das fezes no balanço na fase de crescimento. Na fase de terminação não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (dieta consumida no balanço, variação de peso na (adaptação e balanço), e diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para a variável peso das fezes no balanço.

Comparando-se os tratamentos entre si (Tabela 16) observa-se que: na dieta consumida no balanço, não houve diferença entre as rações tanto na fase de crescimento como na terminação a nível de 5%. Entretanto, o consumo de ração no balanço não foi afetado pelo nível de proteína da ração, em nenhuma das fases estudadas, crescimento e terminação.

Mesmo não tendo havido diferença significativa ($p > 0,05$) na dieta consumida no balanço (g), conforme as médias apresentadas na (Tabela 16), verifica-se que houve uma tendência de inferioridade do consumo de ração pelos animais que receberam a ração (RC 4 + 15%), quando comparado com o consumo de ração pelos animais que receberam os demais tratamentos, os quais demonstraram haver maior consumo à medida que se diminuía o nível de silagem na dieta.

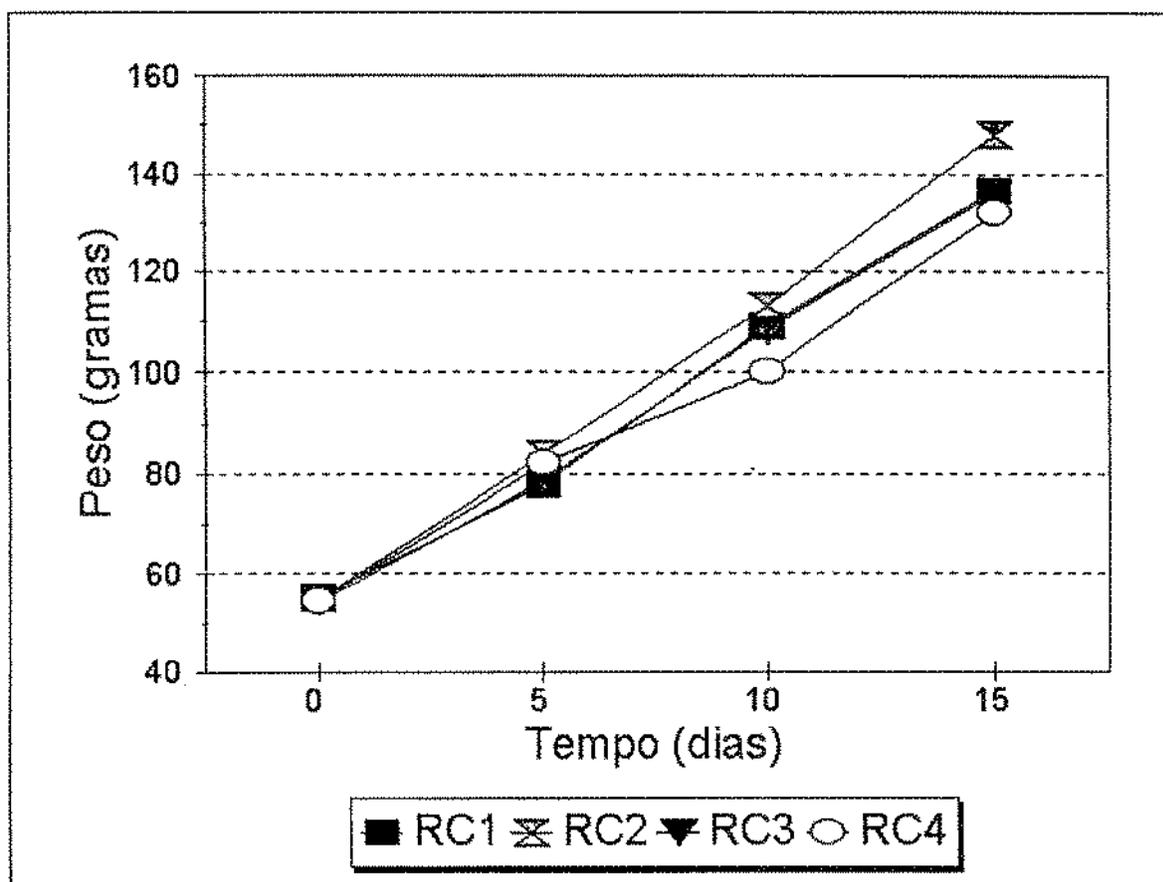
Estes resultados são compatíveis com os encontrados por ESPE et alii (1989), que trabalhando com ratos utilizando dietas suplementadas com silagem de peixe na proporção de 6 a 8%, não verificaram nenhuma influência sobre o consumo de dieta.

Em estudo conduzido com suínos GREEN (1984) verificou que, o aumento do nível protéico nas rações nas proporções de 6 a 8% apresentam uma certa similaridade em relação a dieta consumida no balanço.

Na variação de peso na adaptação, constatou-se que os tratamentos (RC 2 + 5%) e (RC 4 + 15%) tem os ratos mais pesados que os tratamentos (RC 3 + 10%) e (RC 1 Controle) ao nível de 5% na fase de crescimento, enquanto na fase de terminação não houve diferença significativa entre ambas. Na variação de

peso no balanço, os 4 tratamentos na fase de crescimento e terminação, foram significativamente iguais ($p > 0,05$) entre as variáveis.

E finalmente, no peso das fezes no balanço, os tratamentos (RC 3 + 10%) e (RC 4 + 15%) foram superiores aos tratamentos (RC 1 Controle) e (RC 2 + 5%) com o mesmo nível anterior a (5%), enquanto na fase de terminação, constatou-se que o tratamento RT 4 + 15% foi significativamente superior aos tratamentos RT 2 + 5% e RT 3 + 10%, enquanto ao tratamento RT 1 nada se pode afirmar, já que não houve diferença deste com os outros dois tratamentos citados anteriormente.



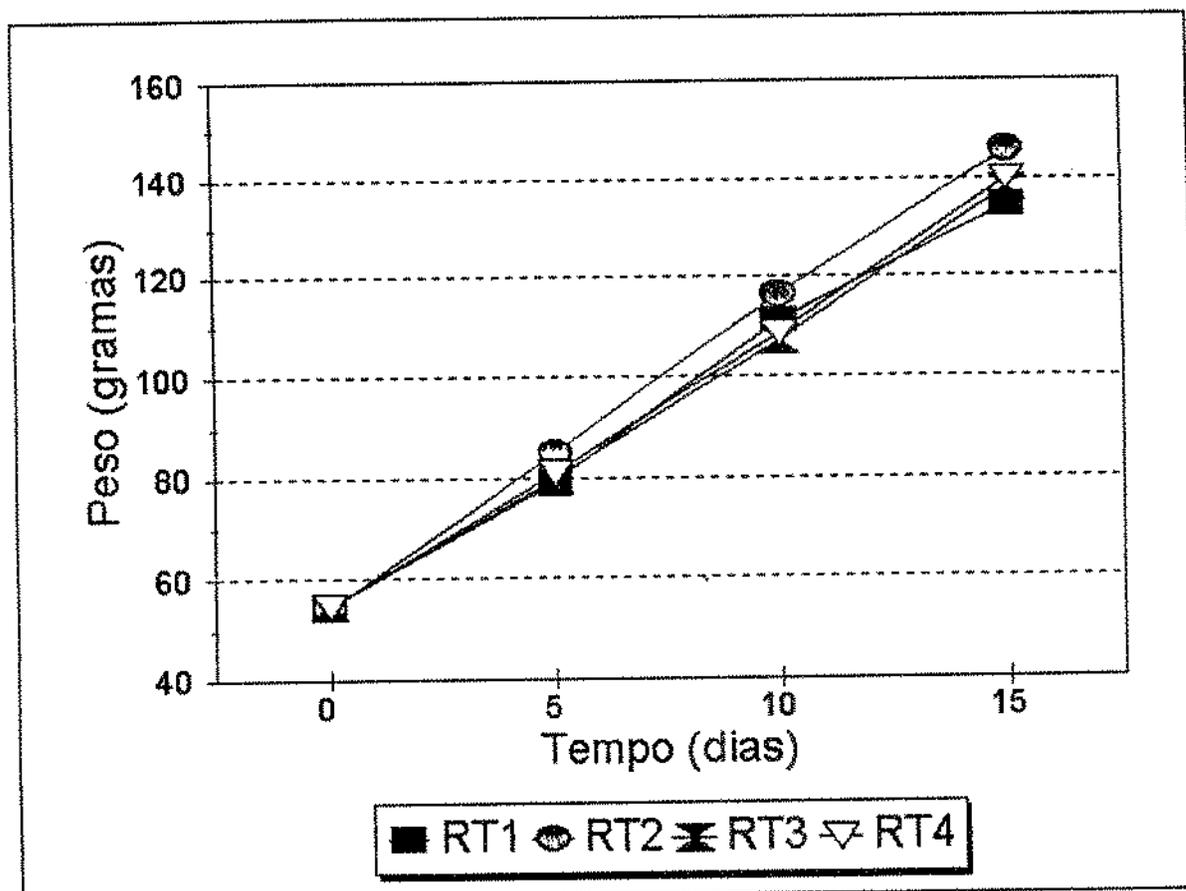
(RC 1) - Ração controle (milho + farelo de soja).

(RC 2) - Ração controle + 5% de silagem de peixe.

(RC 3) - Ração controle + 10% de silagem de peixe.

(RC 4) - Ração controle + 15% de silagem de peixe.

Figura 14. Regressões lineares para as relações entre o ganho médio de peso de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em dias, para rações utilizadas na fase de crescimento para suínos, cujo conteúdo protéico (16%) foi fornecido por ração controle (milho + farelo de soja), ração controle + 5% de silagem, ração controle + 10% de silagem e ração controle + 15% de silagem. Utilizaram-se grupos de seis animais, com peso médio inicial de $53,35 \pm 3,10g$.



(RT1) - Ração controle (milho + farelo de soja).

(RT 2) - Ração controle + 5% de silagem de peixe.

(RT 3) - Ração controle + 10% de silagem de peixe.

(RT 4) - Ração controle + 15% de silagem de peixe.

Figura 15. Regressões lineares para as relações entre o ganho médio de peso de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em dias, para rações utilizadas na fase de terminação para suínos, cujo conteúdo protéico (14%) foi fornecido por ração controle (milho + farelo de soja), ração controle + 5% de silagem, ração controle + 10% de silagem e ração controle + 15% de silagem. Utilizaram-se grupos de 6 animais, com peso médio inicial de $53,35 \pm 3,10g$.

Tabela 16. Valores médios de dieta consumida, variação de peso e peso das fezes em ratos¹ Wistar, previamente adaptados às rações com fontes protéicas contendo milho, farelo de soja, e silagem de tilápia para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 dias de experimento e com balanço de nitrogênio de 5 dias.

Fase de crescimento (Médias dos tratamentos)				
Rações ²	Dieta consumida no balanço (g)	Varição de peso (g) adaptação	Variação de peso (g) balanço	Peso das fezes no balanço (g)
RC 1	96,71 a ±5,93	22,59 b ±1,57	27,69 a ±5,76	11,57 b ±0,56
RC 2 + 5%	97,54 a ±2,01	29,05 a ±4,33	35,08 a ±3,86	10,08 b ±1,15
RC 3 + 10%	97,79 a ±5,63	24,49 b ±2,63	27,77 a ±4,51	12,43 a ±0,93
RC 4 + 15%	79,37 a ±22,14	27,60 a ±2,50	31,87 a ±9,18	12,35 a ±1,75
Fase de terminação (Médias dos tratamentos)				
RT 1	93,95 a ±8,11	28,42 a ±6,87	26,75 a ±5,62	10,65 ab ±1,10
RT 2 + 5%	98,06 a ±5,55	33,27 a ±3,19	29,56 a ±6,42	9,80 b ±0,55
RT 3 + 10%	99,09 a ±9,96	26,31 a ±3,41	32,00 a ±2,58	11,24 b ±1,42
RT 4 + 15%	102,48a ±7,53	27,08 a ±2,44	31,88 a ±7,13	11,86 a ±1,09

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando 53,35 + 3,10g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. RC.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RC.2. Ração Controle + 5% de silagem

RC. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RC. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

RT.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RT.2. Ração Controle + 5% de silagem

RT. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RT. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

a. b. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam

diferença estatisticamente significativa (p > 0,05)

Na Tabela 17 podemos observar os valores médios do ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID) e (QEA), com os respectivos desvios-padrão, referentes ao ensaio B, nas fases de crescimento e terminação.

A análise de variância (teste F) (Tabela 17) mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (ganho de peso e quociente de eficiência alimentar e diferença não significativa ($p > 0,05$) entre as variáveis para a (ingestão de dieta) no crescimento, enquanto na fase de terminação, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as variáveis para o ganho de peso e diferença não significativa ($p > 0,05$) entre as variáveis ingestão de dieta e QEA.

Comparando-se os tratamentos entre si observa-se que: no ganho de peso, o tratamentos RC 2 + 5% na fase de crescimento e RT 2 + 5% na fase de terminação foram significativamente superiores ($p < 0,05$) diferindo, portanto dos demais, os quais demonstraram haver diminuição do ganho de peso à medida que se aumentava a porcentagem de silagem de tilápia nas rações.

Na ingestão de dieta (g), não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos nas fases de crescimento e terminação. Mesmo não tendo havido diferença significativa ($p > 0,05$) na ingestão de dieta, conforme as médias apresentadas na (Tabela 17), verifica-se que houve uma leve tendência de superioridade do tratamento a 10% em relação ao tratamento 15% que recebeu maior porcentagem de silagem.

No quociente de eficiência alimentar, observa-se que os ratos dos tratamentos (RC 2 + 5%), (RC 1 Controle) pela ordem apresentaram maiores (QEA), sendo muito próximos da dieta RC + 10%, diferindo portanto da dieta (RC 4 + 15%) que apresentou menor (QEA) diferindo portanto dos demais na

fase de crescimento, enquanto na fase de terminação não houve diferenças entre si.

Assim sendo, o melhor rendimento no ganho de peso dos ratos nas fases de crescimento e terminação com dietas compostas por ração controle + silagem de tilápia ocorreu, principalmente em relação as rações RC 2 + 5% e RT 2 + 5% que aumentavam sempre de peso a medida que se diminuía o nível de silagem nas rações nas fases de crescimento e terminação, o que foi correlacionado também com uma redução da digestibilidade das rações, demonstrando que a suplementação de 5% de silagem de peixe na ração de 16% PB na fase de crescimento melhorou o ganho de peso, ingestão de dieta e o QEA, que não diferiram do nível de 14% PB na fase de terminação ($p > 0,05$).

Observando-se às médias obtidas no (QEA) apresentadas na (Tabela 17), verifica-se que, à medida que se aumentou a porcentagem de silagem nas rações, piorava a conversão alimentar dos animais nas fases de crescimento e terminação.

Observa-se que os níveis de silagem de peixe nas rações determinaram efeitos lineares ($p < 0,05$) sobre o ganho de peso (g) dos ratos, tanto no período de crescimento do tratamento (RC 2 + 5% de silagem) ($Y = 54,5678 + 5,49583x$, $r = 0,9312$) sobre os tratamentos (RC 1 Controle) ($Y = 53,5255 + 5,48343x$, $r = 0,9294$), (RC 3 + 10% de silagem) ($Y = 53,4069 + 5,38492x$, $r = 0,9347$) e (RC 4 + 15% + de silagem) ($Y = 53,5098 + 5,09873x$, $r = 0,9294$) e na terminação do tratamento (RT 2 + 5%) ($y = 54,6098 + 5,98876x$, $r = 0,94054$) sobre os tratamentos (RT 4+ 15%) ($y = 53,9867 + 5,45873x$, $r = 0,9326$) e (RT 3 + 10%)

($y = 53,5490 + 5,23092x$, $r = 0,9300$) (RT 1) ($y = 53,4950 + 5,98506x$, $r = 0,9357$) observados nas Figuras 14 e 15.

GRENN (1984) testando, os efeitos de níveis de silagem de peixe 0, 2, 5 e 8% nas rações de suínos nas fases de crescimento e terminação, constatou que o ganho de peso diário, a conversão alimentar, as características organolépticas, o conteúdo hídrico das fezes e o estado de saúde dos animais não foram similares em todos os tratamentos.

Porém TIBBETS *et alii* (1981) trabalhando com suínos, estudaram a resposta ao crescimento e à conversão alimentar, quando era fornecida silagem de peixe como substituto parcial da ração balanceada, observaram menor ritmo de crescimento e maiores perdas na conversão alimentar nos suínos ao receberem silagem na faixa de 12 a 15% em base protéica.

VERMEERSCH & VANSCHONBROEK (1968) em estudo conduzido com aves até aos 56 dias de idade, utilizando níveis de 3, 6, 9, 12 e 15% de silagem de peixe, em substituição ao milho, observaram que o aumento do nível de silagem na ração na faixa de 10 a 15% provoca uma diminuição no ganho de peso vivo médio aos 56 dias e uma piora na conversão alimentar das aves.

Por outro lado o uso de rações para suínos com 5% de silagem encontra-se dentro do recomendado por ROJAS *et alii*, 1969, apud DE OLIVEIRA (1977) que não deve ser superior a 10%, para se evitar alteração nos lipídios /ou desenvolvimento do gosto a pescado. Daí a necessidade de suplementação desses aminoácidos em dietas que contenham elevados teores protéicos para compensar as deficiências nutricionais.

Tabela 17. Valores médios de ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID) e quociente de eficiência alimentar (QEA) em ratos¹ Wistar, previamente adaptados às rações, com fontes protéicas contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 dias de experimento.

Rações	Ganho peso (g)	Ingestão dieta (g)	QEA
Fase de crescimento			
RC 1	50,28 c ±1,86	163,33 a ±10,54	0,30 b ±0,024
RC 2 + 5%	64,13 a ±3,83	167,34 a ±3,	0,37 a ±0,028
RC 3 + 10%	52,26 c ±4,55	169,92 a ±11,19	0,30 b ±0,030
RC 4 + 15%	59,47 b ±5,75	165,01 a ±4,51	0,36 ab ±0,028
Fase de terminação			
RT 1	55,17 c ±5,27	160,29 a ±13,86	0,34 a ±0,018
RT 2 + 5%	62,83 a ±4,29	166,12 a ±11,01	0,37 a ±0,043
RT 3 + 10%	58,31 b ±5,47	169,34 a ±15,67	0,35 a ±0,027
RT 4 + 15%	58,96 b ±9,26	177,72 a ±9,90	0,33 a ±0,048

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando 59,35 ± 3,10g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. RC.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RC.2. Ração Controle + 5% de silagem

RC. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RC. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

RT.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RT.2. Ração Controle + 5% de silagem

RT. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RT. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

a.b. c. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente ($p > 0,05$)

Na Tabela 18 são apresentados os valores médios para os ratos nas diversas dietas, com os respectivos desvios-padrão referentes ao nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado nas fezes e urina e balanço nitrogenado aparente, atinentes ao ensaio B, nas fases de crescimento e terminação.

A análise de variância (teste F) (Tabela 18) mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado na urina e balanço nitrogenado aparente e diferença não significativa ($p > 0,05$) para o nitrogênio excretado nas fezes nas rações de crescimento, enquanto nas rações na fase de terminação, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis nitrogênio ingerido e balanço nitrogenado aparente, e diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis nitrogênio (fecal e urinário).

Comparando-se os resultados, observou-se que: no nitrogênio ingerido, o tratamento RC 2 + 5% , foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais na fase de crescimento, enquanto na fase de terminação não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias.

O nitrogênio fecal durante a fase de crescimento, não diferiu diferença significativamente ($p > 0,05$) entre as médias, enquanto na fase de terminação este teste indicou que os tratamentos (RT 4 + 15%) e (RT 3 + 10%) foram significativamente superiores ($p < 0,05$) aos demais.

O nitrogênio urinário durante a fase de crescimento indicou que os tratamentos RC 4 + 15%, RC 3 + 10% e RC 1 Controle foram significativamente superiores ($p < 0,05$) na fase de crescimento, enquanto na fase de terminação os

tratamentos RT 4 + 15%, RT 3 + 10% e RT 2 + 5% foram significativamente superiores ($p < 0,05$) ao tratamento (RT 1).

Para balanço nitrogenado aparente durante a fase de crescimento, o tratamento RC 2 + 5%, foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos outros tratamentos, enquanto na fase de terminação não houve diferença com os demais. Mesmo tendo havido diferença significativa no (BN) na fase de terminação, conforme as médias apresentadas na Tabela 19, verifica-se que houve uma tendência de superioridade do (BN) dos animais que receberam o tratamento RC 2 + 5%, quando comparado com o (BN) dos animais que receberam os demais tratamentos, o que demonstra ter havido maior retenção de nitrogênio pelo organismo animal quando os animais se alimentavam com níveis de silagem na faixa de 5%.

Os resultados do BN aparente obtidos nesta fase experimental estão de acordo com os resultados encontrados por ESPE et alii (1989), que trabalhando com ratos verificaram diferenças significativas ($p > 0,05$) nas dietas suplementadas com silagem de peixe na faixa de 5 a 8%.

Tabela 18. Valores médios de balanço de nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado (fezes e urina) e balanço nitrogenado aparente em ratos Wistar, previamente adaptados às rações, com fontes protéicas contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína bruta), após 10 dias de experimento com balanço de 5 dias.

Rações	Nitrogênio Ingerido (g)	Nitrogênio Fezes(g)	Nitrogênio Urina (g)	Balanço Nitrogenado aparente (g)
RC 1	2,15 ab ±0,16	0,451 a ±0,06	0,461 ab ±0,04	1,23 b ±0,18
RC 2 + 5%	2,43 a ±0,15	0,388 a ±0,04	0,413 b ±0,07	1,62 a ±0,19
RC 3 + 10 %	2,04 b ±0,26	0,444 a ±0,04	0,554 a ±0,01	1,04 b ±0,30
RC 4 + 15%	1,86 b ±0,19	0,465 a ±0,08	0,576 a ±0,07	0,81 c ±0,20
Fase de terminação				
RT 1	1,98 a ±0,29	0,380 ab ±0,14	0,446 b ±0,01	1,15 a ±0,26
RT 2 + 5%	2,19 a ±0,14	0,354 b ±0,19	0,506 ab ±0,09	1,33 a ±0,07
RT 3 + 10%	2,28 a ±0,32	0,439 a ±0,07	0,548 ab ±0,07	1,29 a ±0,29
RT 4 + 15%	2,33 a ±0,17	0,456 a ±0,06	0,585 a ±0,04	1,04 a ±0,28

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando 59,35 + 3,10g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. RC.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RC.2. Ração Controle + 5% de silagem

RC. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RC. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

RT.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RT.2. Ração Controle + 5% de silagem

RT. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RT. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

a.b. c. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente ($p > 0,05$)

Na Tabela 19 são apresentados os valores médios, com os respectivos desvios-padrão referentes à digestibilidade aparente, valor biológico aparente e utilização líquida da proteína aparente, relacionados ao ensaio B, nas fases de crescimento e terminação, após 10 dias de experimento e balanço de 5 dias.

A análise de variância (teste F), (Tabela 19) mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (digestibilidade aparente, valor biológico aparente e utilização líquida aparente proteína (NPU) na fase de crescimento, enquanto na fase de terminação, mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) para a variável digestibilidade aparente e diferença não significativa ($p > 0,05$) para as variáveis (valor biológico e utilização líquida aparente da proteína (NPU).

Comparando-se os tratamentos, os ratos em dieta (RC 3 + 5%) na fase de crescimento e (RT 2 + 5%) na fase de terminação apresentam as maiores porcentagens de digestibilidade aparente ($p < 0,05$) diferindo dos demais na fase de crescimento. Os tratamentos (RC 4 + 5%) e (RT 4 + 15%) foram estatisticamente inferiores ($p < 0,05$), quando comparada as demais rações protéicas.

No valor biológico aparente na fase de crescimento o tratamento RC 2 +5% foi significativamente superior ($p > 0,05$) aos outros tratamentos, diferindo dos demais, enquanto na fase de terminação não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as rações. Entretanto, TIBBETS et alii (1981) trabalhando com 56 suínos encontraram resultados para digestibilidade aparente e valor biológico que foram pouco inferiores aos encontrados na referida pesquisa (74,6 a 75,2) e

semelhantes àqueles determinados por GREEN (1984) também trabalhando com suínos com rações complementadas com silagens de pescado.

Quanto ao NPU, na fase de crescimento somente o tratamento RC 2 + 5% foi significativamente superior diferindo dos demais, enquanto, na fase de terminação não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Essa intensa redução no ganho de peso dos animais foi simultânea à elevação nos valores de TBARS discutido previamente, indicando que a presença de lipídios oxidados pode ter contribuído para a redução da digestibilidade e valor biológico pelo aumento na porcentagem de silagem provavelmente resultante de várias interações, tais como a peroxidação de lipídios podendo levar a interações principalmente com as proteínas, tornando-as indigeríveis à ação enzimática pepsínica já discutidas no capítulo anterior.

Para tanto, chegou-se à conclusão de que o nível ideal de silagem para obtenção de uma ração isocalórica e isoprotéica em relação às rações testemunhas nos ensaios de balanço de nitrogênio foram as rações RC 2 + 5% de silagem de peixe no crescimento e RT 2 + 5% de silagem de peixe na terminação, pois estas rações proporcionaram resultados significativamente melhores ($p < 0,05$) nos experimentos.

Tabela 19. Valores médios de digestibilidade, valor biológico e utilização líquida de proteína aparentes e verdadeiros em ratos Wistar, previamente adaptados às rações contendo milho, farelo de soja e silagem de tilápia com fontes protéicas, para ração de crescimento (16% de proteína bruta) e ração de terminação (14% de proteína Bruta), após 10 dias de experimento com balanço de 5 dias.

Rações	Digestibilidade aparente (%)	Valor Biológico aparente (%)	Utilização Líquida de proteína aparente (NPU)
Fase de crescimento			
RC 1	79,24 b ±2,94	72,85 ab ±3,17	57,59 ab ±4,31
RC 2 + 5%	83,97 a ±1,97	79,58 a ±4,26	66,86 a ±4,59
RC 3 + 10%	78,09 b ±2,16	68,77 b ±5,54	50,38 bc ±8,19
RC 4 + 15%	75,06 b ±3,95	67,66 b ±5,48	43,83 c ±6,61
Fase de terminação			
RT 1	80,66 ab ±1,48	71,70 a ±6,95	57,89 a ±6,29
RT 2 + 5%	84,14 a ±1,15	72,38 a ±2,64	60,88 a ±1,68
RT 3 + 10%	80,67 ab ±2,08	69,58 a ±6,10	56,20 a ±5,98
RT 4 + 15%	79,46 b ±3,33	66,71 a ±4,42	53,08 a ±5,17

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando 59,35 + 3,10g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. RC.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RC.2. Ração Controle + 5% de silagem

RC. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RC. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

RT.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RT.2. Ração Controle + 5% de silagem

RT. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RT. 4. Ração Controle + 15% de silagem

a.b. c. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente ($p > 0,05$)

5.9.3. Avaliação nutricional da complementação protéica da caseína com as silagens integral e parcialmente desengorduradas (Ensaio C)

A evolução dos pesos médios dos animais, nas diversas dietas ao longo dos 15 dias de experimento, está disposta na Figura 16. Observa-se que, para todas as dietas, foi possível estabelecer relação linear entre o ganho de peso dos ratos e o tempo na respectiva dieta, em dias. Estas relações foram, em todos os casos, positivas e fortes, com coeficientes de correlação de Pearson, r , próximos à unidade, representadas pelas correlações: caseína ($y = 55,4590 + 4,98769x$, $r = 0,9820$), cas + 5% silagem com óleo ($y = 54,5904 + 4,967783 x$, $r = 0,9933$), cas + 5% silagem sem óleo ($y = 55,5069 + 5,90694x$, $r = 0,9362$), cas + 10% silagem com óleo ($y = 55,6079 + 5,90685x$, $r = 0,9786$), Cas + 10% silagem sem óleo ($y = 54,6909 + 5,49055 x$, $r = 0,9874$), cas + 15% silagem com óleo ($y = 53,0978 + 5,09782 x$, $r = 0,9363$), cas + 15% silagem sem óleo ($y = 54,9689 + 5,09784 x$, $r = 0,9868$) e aprotéica ($y = 53,9876 + (-0,4867) x$, $r = 0,5715$).

Na Tabela 20 estão os resultados da composição dos ácidos graxos nas rações de crescimento e terminação com silagem de tilápia do Nilo. Nesta parte do trabalho foram identificados aproximadamente 98% dos ácidos graxos (AG) nas rações de crescimento e terminação com silagem de tilápia do Nilo, correspondendo a 18 (AG) diferentes, todos contendo de 8 a 22 carbonos, sendo que 10 desses (AG) foram encontrados em concentrações inferiores a 1% e 7 em concentrações superiores a 1% na ração de crescimento com silagem de tilápia, enquanto nas rações de terminação foram identificados aproximadamente 98% dos ácidos graxos (AG), correspondendo a 18 AG diferentes todos também

contendo de 8 a 22 carbonos, sendo que 11 desses AG foram encontrados em concentrações superiores a 1%. Entretanto (GREEN, 1984) utilizando diferente metodologia de análise com silagem de peixe identificaram 98,5% dos AG nas rações de crescimento e terminação com silagem de peixe, correspondendo a 19 (AG) diferentes, todos contendo de 8 a 22 carbonos, dos quais apenas 6 se apresentaram em concentrações superiores a 1% do total dos ácidos graxos.

Observa-se principalmente que os ácidos graxos: 16:0, 16:2, 18:0, 18:1, 18:2 (n -6) e 20:5 (n -3), que juntos, somam 90,51% do total foram encontrados na ração de crescimento com silagem de tilápia, enquanto na ração de terminação foram detectados os ácidos graxos: 16:0, 18:1, 18:2 (n -6) 18:3 (n -3), que juntos, somam 95,28%. Esses ácidos graxos podem ter sido responsáveis pelas alterações provocadas nas dietas administradas aos animais, sendo o ácido oléico 18:1, o AG encontrado em maior quantidade nas rações de crescimento e terminação com silagem de tilápia do Nilo, com valores superiores aos encontrados na Tabela 14 corroborando com os resultados apresentados na literatura (GREEN *et alii*, 1988).

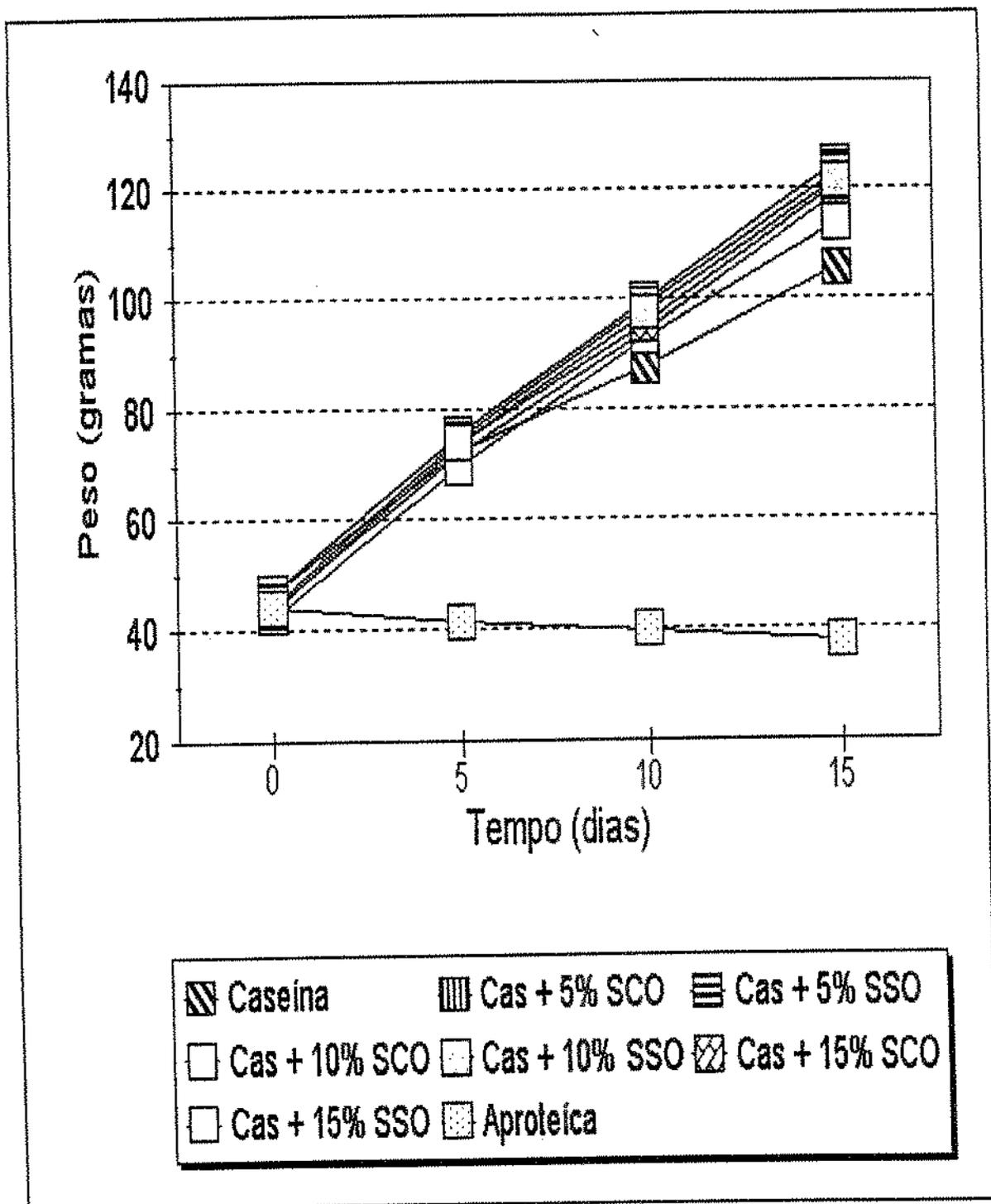


Figura 16. Regressões lineares para as relações entre o ganho médio de peso de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em dias, para diversas dietas balanceadas de caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 15% SSO e aprotéica. Utilizaram-se grupos de seis animais, com peso médio inicial de $44,27 \pm 2,03g$.

Os valores encontrados nas rações de crescimento com silagem de tilápia do Nilo, em comparação com o perfil de ácidos graxos reportados por (GREEN, 1984), foram semelhantes para os ácidos graxos 16:0 e 18:1 e 18:2; mais elevados para os ácidos graxos 16:2, 18:0 e 20:0; e mais baixos para os ácidos graxos 17:0 e 20:5 (n - 3).

Os valores encontrados nas rações de terminação com silagem de tilápia do Nilo, comparados com o perfil dos ácidos graxos reportados por (GREEN, 1984), as quantidades foram semelhantes nos ácidos graxos 16:0, 18:1, 18:2 (n - 6); mais elevados para ácidos graxos 16:2, 17:0, 18:3 (n -3); e mais baixos para ácidos graxos 20:0 e 20:5 (n - 3).

Analisando-se os resultados apresentados na (Tabela 20) com relação aos resultados apresentados na (Tabela 14) observa-se que houve um aumento significativo dos ácidos graxos das rações de crescimento e terminação em relação aos (AG) da silagem de tilápia do Nilo principalmente dos (AG) responsáveis por alterações, indesejáveis sob o ponto de vista nutricional, pois dependendo da composição dos (AG) nos lipídios a proporção desses produtos de oxidação varia bastante, fato observado quando da realização dos ensaios biológicos. Esse aumento na concentração dos (AG) das rações citadas deve-se em parte a outros ingredientes alocados nas rações.

Em nossos experimentos, houve diminuição progressiva em diversos parâmetros analisados, tais como: ganho de peso, ingestão de dieta, digestibilidade, valor biológico e utilização líquida da proteína aparente, com o aumento da porcentagem de silagem, corroborando com os resultados já comentados anteriormente de que, os ácidos graxos em porcentagens elevadas,

são críticos no processo de oxidação reduzindo o valor nutricional da dieta analisada.

Na Tabela 21 são apresentados os valores médios, com os respectivos desvios-padrão referentes à dieta consumida no balanço (g), variação de peso na adaptação e balanço (g) e peso das fezes no balanço, concernentes ao ensaio C.

A análise de variância (teste F) (Tabela 21) mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (dieta consumida no balanço (g), variação de peso (g) (na adaptação e balanço) e peso das fezes no balanço (g).

Entre as medidas de dieta consumida no balanço, variação de peso na adaptação e peso das fezes no balanço, não existiu um tratamento que apresentasse ratos mais pesados que fossem detectados por um teste estatístico ao nível de 5%, mas o tratamento aprotéico teve os pesos inferiores ao nível citado em todas as medições.

Por outro lado na variação de peso no balanço, o tratamento Cas + 5% SSO apresenta ratos mais pesados significativamente, enquanto o tratamento aprotéico apresenta os menores pesos a nível de 5%. Isso indica que, o tratamento (Cas + 5% SSO) resultou em ratos, com peso significativamente maiores e o tratamento aprotéico, em ratos com menores pesos ao nível de 5%.

Finalmente, o peso das fezes no balanço, não se encontrou um tratamento que apresentasse diferença significativa entre ambos.

Tabela 21. Valores médios de dieta consumida no balanço, variação de peso na adaptação e balanço e peso das fezes excretadas de ratos Wistar, previamente adaptadas às dietas de caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 15% SSO como fontes protéicas ($10,5 \pm 0,09\%$ de proteína) e aprotéica após 10 dias de experimento com balanço de nitrogênio de 5 dias.

Dietas	Dieta consumida no balanço (g)	Variação de adaptação	Peso na balanço (g)	Peso das Fezes no balanço (g)
Caseína	61,26 a $\pm 9,16$	23,94 a $\pm 6,77$	19,22 c $\pm 2,90$	2,87 b $\pm 0,21$
C + 5% SCO	66,49 a $\pm 9,74$	25,97 a $\pm 3,32$	25,20 b $\pm 3,34$	2,85 b $\pm 0,22$
C + 5% SSO	65,66 a $\pm 1,96$	22,89 a $\pm 2,47$	36,11 a $\pm 7,50$	3,07 a $\pm 0,18$
C + 10% SCO	68,25 a $\pm 4,67$	24,77 a $\pm 2,13$	23,75 b $\pm 1,95$	2,80 b $\pm 0,19$
C + 10% SSO	67,99 a $\pm 1,73$	22,39 a $\pm 2,78$	27,88 b $\pm 4,03$	2,73 b $\pm 0,17$
C + 15% SCO	72,56 a $\pm 5,62$	27,76 a $\pm 2,18$	24,00 b $\pm 2,35$	3,31 a $\pm 0,18$
C + 15% SSO	71,45 a $\pm 3,53$	27,36 a $\pm 2,64$	24,95 b $\pm 2,51$	2,98 a $\pm 0,20$
Aprotéica.	36,77 b $\pm 3,77$	-3,35 b $\pm 1,63$	-2,33 d $\pm 0,86$	2,06 c $\pm 0,29$

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando $59,35 \pm 3,10$ g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. RC.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RC.2. Ração Controle + 5% de silagem

RC. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RC. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

RT.1. Ração Controle (milho + farelo de soja)

RT.2. Ração Controle + 5% de silagem

RT. 3. Ração Controle + 10% de silagem

RT. 4. Ração Controle + 15% de silagem.

a.b. c. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente ($p > 0,05$)

Na Tabela 22 são apresentados os valores médios, com os respectivos desvios-padrão referentes ao ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID), quociente de eficiência alimentar (QEA), quociente de eficiência protéica líquida (NPR), quociente de eficiência protéica líquida relativa (RNPR), ingestão de proteína (IP) e ganho de peso/consumo de proteína (GP/CP), relativos ao ensaio C.

A análise de variância (teste F) (Tabela 22), mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (ganho de peso, ingestão de dieta, QEA, NPR, RNPR relativa, ingestão de proteína e ganho de peso/consumo de proteína), após 10 dias de experimento utilizando-se ratos Wistar.

No ganho de peso (Tabela 22) comparando-se os tratamentos entre si observa-se que os ratos em dieta (Cas + 5% SSO) apresentaram o maior ganho de peso ($p < 0,05$) diferindo portanto dos demais. Entretanto, com relação a dieta caseína, o ganho de peso dos ratos foi o estatisticamente menor ($p < 0,05$) quando comparada com as demais dietas analisadas.

Vale salientar que GREEN (1984), trabalhando com suínos e testando os efeitos de diferentes níveis de silagem de peixe na ração 5, 10 e 15%, constatou que, o ganho médio de peso diário, e conversão alimentar não foram similares em todos os tratamentos, observando que, em função da concentração em nutrientes da dieta os suínos não eram capazes de se adaptar, tanto do ponto de vista anatômico como fisiológico.

Entretanto STROM & EGGUM (1981), com o propósito de determinar a variação do ganho de peso dos ratos alimentados de dietas em níveis diferentes de silagens de peixe, com e sem óleo, verificaram que o ganho de peso diário e a conversão alimentar dos ratos melhoravam linearmente ($p < 0,05$), com a diminuição do nível de óleo na silagem, tendo verificado efeito negativo ($p > 0,05$) dos níveis de silagem com óleo sobre o consumo de ração.

Na ingestão de dieta os ratos do tratamento caseína foram significativamente superiores aos demais, enquanto no quociente de eficiência alimentar Cas + 5% SSO tiveram seus pesos aumentado, a nível de 5%.

STROM & EGGUM (1981) confirmam que o QEA é influenciado pelo teor protéico na ração, principalmente, pelo nível de silagem adicionado nas rações, sendo que os resultados encontrados para os quocientes de eficiência alimentar, para as dietas de Cas + SSO foram também semelhantes àqueles encontrados por (ESPE et alii, 1989), que encontraram valores na faixa de 0,38 a 0,42.

No (NPR) e no (RNPR) os tratamentos (Cas + 5% SSO) e (Cas + 5% SSO) foram significativamente superiores á nível de 5% durante os experimentos realizados, demonstrando que os animais dessas dietas apresentaram ótimo desempenho com NPR igual a 4,48 e RNPR igual 1,58. Esses valores relativamente altos também foram relatados por ESPE *et alii* (1989), os quais expressam valores na faixa de 3,75 a 4,22 para o NPR e 1,50 a 1,54 para o RNPR, demonstrando que a combinação de (Caseína + 5% SSO) confere maior eficiência protéica em relação as demais dietas experimentais.

Tabela 22. Valores médios do ganho de peso (GP), ingestão de dieta (ID), quociente de eficiência alimentar (QEA), quociente de eficiência protéica líquida (NPR), quociente de eficiência líquida da proteína relativa (RNPR), ingestão de proteína (IP) e ganho de peso/consumo de proteína (GP/CP) em ratos¹ Wistar, previamente adaptadas às dietas, de caseína, Cas + 5% SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SSO, Cas + 15% SSO com fontes protéicas (10,5 ± 0,09%) de proteína após 10 dias de experimento.

Dietas ²	Ganho de Peso (g)	Ingestão de dieta	QEA ³	NPR ⁴	RNPR ⁵	Ingestão de proteína (g)	Ganho de Peso/ consumo de proteína
Caseína	43,16 ± 6,98 ^b	154,57 ± 12,12 ^a	0,28 ± 0,03 ^c	2,81 ± 0,29 ^d		34,25 ± 4,30 ^a	1,36 ± 0,32 ^c
C 5% SCO	51,17 ± 5,27 ^{ab}	129,14 ± 16,11 ^b	0,40 ± 0,02 ^b	4,21 ± 0,25 ^{ab}	1,49 ± 0,11 ^a	24,60 ± 1,33 ^b	2,08 ± 0,22 ^b
C 5% SSO	59,00 ± 9,70 ^a	138,28 ± 20,29 ^{ab}	0,43 ± 0,01 ^a	4,48 ± 0,13 ^a	1,58 ± 0,06 ^a	23,70 ± 0,81 ^b	2,48 ± 0,40 ^a
C 10% SCO	53,52 ± 4,29 ^b	128,44 ± 6,88 ^b	0,38 ± 0,02 ^b	3,75 ± 0,21 ^c	1,33 ± 0,09 ^c	23,55 ± 1,52 ^b	1,98 ± 0,28 ^c
C 10% SSO	52,32 ± 4,48 ^{ab}	138,58 ± 7,71 ^{ab}	0,36 ± 0,02 ^b	3,72 ± 0,33 ^c	1,32 ± 0,14 ^c	23,54 ± 1,40 ^b	1,97 ± 0,28 ^c
C 15% SCO	50,82 ± 5,27 ^{ab}	140,02 ± 16,11 ^{ab}	0,37 ± 0,01 ^b	3,75 ± 0,25 ^c	1,33 ± 0,11 ^c	22,62 ± 1,33 ^b	1,95 ± 0,22 ^b
C 15% SSO	50,28 ± 2,41 ^{ab}	135,13 ± 6,16 ^b	0,37 ± 0,02 ^b	3,70 ± 0,20 ^{bc}	1,30 ± 0,08 ^b	22,54 ± 1,24 ^b	1,96 ± 0,18 ^b

1- Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando 44,02 ± 2,03g, após 5 dias de adaptação às dietas.

2- Dietas.

C. Caseína

C 5% SCO - Caseína + 5% de silagem com óleo

C 5% SSO - Caseína + 5% de silagem sem óleo

C 10% SCO - Caseína + 10% de silagem com óleo

C 10% SSO - Caseína + 10% de silagem sem óleo

C 15% SCO - Caseína + 15% de silagem com óleo

C 15% SSO - Caseína + 15% de silagem sem óleo

3- Quociente de eficiência

4- Quociente de eficiência líquida da proteína.

5- Quociente de eficiência líquida da proteína relativa

a,b,c,d. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$)

Os mesmos autores constataram que a combinação da silagem de peixe + caseína, a níveis crescentes na dieta até 5%, melhora o valor nutricional da dieta protéica como também o quociente de eficiência protéica líquida (NPR).

Na ingestão de proteína (g) observa-se que o tratamento com caseína foi significativamente superior aos demais.

No ganho de peso/consumo de proteína a dieta (Cas + 5% SSO) foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) diferindo portanto dos demais. Esse fato demonstrou que a combinação da caseína + silagem de peixe melhora o valor nutricional da dieta protéica com relação ao ganho de peso dos animais e conseqüentemente melhora o consumo de proteínas pelo animais, fato constatado por outros autores (ESPE *et alii*, 1989; OLLEY *et alii*, 1968 ; JACKSON *et alii*, 1984).

Na Tabela 23 estão dispostos os valores médios, com os respectivos desvios-padrão referentes ao nitrogênio ingerido (g), nitrogênio excretado nas fezes e urina e balanço nitrogenado aparente, referentes ao ensaio C.

A análise de variância (teste F), mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado (fecal e urinário) e balanço nitrogenado aparente.

Apesar de todas as medições na (Tabela 23) apresentarem diferenças significativas na análise de variância, fica difícil identificar uma ordem entre os tratamentos relativo ao balanço de nitrogênio. Entretanto, podemos acrescentar que no nitrogênio ingerido, a dieta (Cas + 10% SSO), foi maior a nível de 5% em relação às demais.

O nitrogênio fecal da caseína indicou que nos tratamentos (Caseína) (C + 15% SCO) e (C + 15% SSO) foram significativamente maiores ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos.

Tabela 23. Valores médios do nitrogênio ingerido, nitrogênio fecal e urinário e balanço nitrogenado aparente de ratos¹ Wistar, previamente adaptadas às dietas de caseína, C + 5% SCO, C + 5% SSO, C + 10% SCO, C + 10% SSO, C + 15% SCO, C + 15% SSO, como fontes proteicas ($10,5 \pm 0,09\%$ de proteína) após 10 de experimento com balanço de 5 dias.

Dietas	Nitrogênio Ingerido (g)	Nitrogênio Fecal (g)	Excretado Urinário (g)	Balanço Nitrogenado Aparente(g)
Caseína	1,75 c $\pm 0,25$	2,60 a $\pm 0,027$	0,505 b $\pm 0,054$	1,35 ab $\pm 0,22$
C + 5% SCO	1,87 bc $\pm 0,28$	0,174 c $\pm 0,025$	0,528 b $\pm 0,061$	1,16 ab $\pm 0,29$
C + 5% SSO	2,34 abc $\pm 0,51$	0,187 bc $\pm 0,027$	0,594 ab $\pm 0,083$	1,55 a $\pm 0,51$
C + 10% SCO	1,90 abc $\pm 0,17$	0,200 bc $\pm 0,021$	0,549 ab $\pm 0,054$	1,16 ab $\pm 0,21$
C + 10% SSO	2,24 abc $\pm 0,35$	0,222 abc $\pm 0,034$	0,650 a $\pm 0,073$	1,36 ab $\pm 0,33$
C + 15% SCO	1,98 abc $\pm 0,19$	0,233 ab $\pm 0,043$	0,593 ab $\pm 0,042$	1,15 ab $\pm 0,15$
C + 15% SSO	2,13 abc $\pm 0,22$	0,202 bc $\pm 0,027$	0,584 ab $\pm 0,060$	1,34 ab $\pm 0,24$

1. Valores médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando $44,27 \pm 2,09$ g, após 5 dias de adaptação às dietas

2. Caseína

Caseína + 5% de silagem com óleo

Caseína + 5% de silagem sem óleo

Caseína + 10% de silagem com óleo

Caseína + 10% de silagem sem óleo

Caseína + 15% de silagem com óleo

Caseína + 15% de silagem sem óleo

a.b. c. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente ($p > 0,05$).

O nitrogênio excretado na urina no tratamento (Cas + 10% SSO) foi significativamente superior ($p < 0,05$) comparado com os tratamentos (Caseína) e (Cas + 5% SCO), enquanto os balanços nitrogenados aparente nos tratamentos (Cas + 5% SSO) e (Cas + 10% SSO) foram significativamente superiores aos demais.

A este respeito OLLEY *et alii* (1968), trabalhando com ratos, obtiveram valores de balanço nitrogenado aparente na faixa de 1,53 a 1,58 g com adição de 5% a 7% de silagem de peixe na dieta. No nitrogênio ingerido, nitrogênio excretado fecal e urinário a análise de variância também detectou diferença nos tratamentos ao nível de 1%.

Na Tabela 24 estão os valores médios de digestibilidade (aparente e verdadeiro), valor biológico (aparente e verdadeiro) e utilização líquida da proteína (aparente e verdadeira), referentes ao ensaio C.

Na análise de variância (teste F) (Tabela 24), observa-se diferença não significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis (valor biológico (aparente e verdadeiro) e utilização líquida da proteína (NPU) (aparente e verdadeira) e diferença significativa ($p < 0,05$) para as variáveis digestibilidade aparente e verdadeira dos dados analisados.

Comparando-se os tratamentos entre si para digestibilidade (aparente e verdadeira) :os ratos dessa dieta (Cas + 5% SSO), apresentaram a maior digestibilidade ($p < 0,05$) diferindo portanto das demais.

Através da análise da Tabela 24, pode ser notado a ocorrência de perdas consideráveis de digestibilidade, possivelmente, devido a interação de lipídios

oxidados com as proteínas, e que sem dúvida, mostra que as perdas máximas ocorreram nas dietas onde foram alocadas as maiores porcentagens de caseína + silagem de tilápia com óleo, advindo portanto, máxima peroxidação dos lipídios.

No (VB) aparente e verdadeiro e no (NPU) aparente e verdadeiro conforme os resultados das análises apresentados na Tabela 24, verificou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos em função dos níveis 5, 10 e 15% de silagem de tilápia nas dietas.

Muito embora as médias do (VB) e do (NPU) apresentadas na Tabela 24 não tenham mostrado entre si uma diferença significativa ($p > 0,05$), verificou-se que houve tendência de menor consumo de dieta do tratamento (Cas + 15% SSO) quando comparado com o tratamento (Cas + 5% SSO) no NPU aparente, o que não ocorreu em relação ao verdadeiro.

Esses resultados demonstram que a combinação da (Cas + SSO) melhora o valor nutricional da dieta protéica, como também em relação à digestibilidade com valores sempre superiores a 90%, estando de acordo com aqueles já divulgados por outros autores (STROM & EGGUM, 1981; JACKSON *et alii*, 1984; RAA & GILDBERG, 1982), que encontraram valores na faixa de 89 a 90%.

STROM & EGGUM (1981) relatam um aumento na digestibilidade da silagem de pescado recém preparada, porém não há nenhum decréscimo na digestibilidade da silagem armazenada por mais de 60 dias quando armazenada a temperatura ambiente.

Os mesmos autores ao removerem o óleo da silagem de vísceras de bacalhau preparado com adição de ácido fórmico e propiônico 1:1, para uma

concentração final de 1,5% (p/v), observaram um aumento considerável no valor nutricional das dietas.

STROM & EGGUM (1981) afirmam que os produtos da oxidação dos lipídios são capazes de interagir com as proteínas, tornando-as indigeríveis à ação enzimática pepsínica, visto que, o processo oxidativo ocasiona uma redução na digestibilidade das dietas, sendo que estas interações promovem a formação de complexos irreversivelmente inaproveitáveis pelas enzimas proteolíticas que não são capazes de degradá-los.

Portanto, com a redução nos valores da digestibilidade nas dietas de (Cas + SCO), verificados no presente trabalho, foram evidenciadas também pela reação entre os aldeídos formados na oxidação dos lipídios, formação esta que ficou bastante nítida pelo crescimento dos valores de TBARS, com o grupo amino de aminoácidos e proteínas da silagem de tilápia, como também poderiam ser atribuídas à reação de Maillard, ou outro tipo de complexação.

Daí a tendência natural, a oxidação e a rancidez oxidativa que representam as principais causas da deterioração nas dietas (LEA, 1962), explicáveis pela presença de cadeias longas de hidrocarbonetos insaturados, sendo os lipídios elementos importantes envolvidos na oxidação, e as porções dos ácidos graxos insaturados, tais como oléico, linoléico e linolênico encontrados na silagem de tilápia (Tabela 14), como fatores de aumento da velocidade de oxidação geometricamente, com o grau de insaturação, fato observado quando da realização dos ensaios biológicos, principalmente com relação a digestibilidade.

Tabela 24. Valores médios de digestibilidade, valor biológico e utilização líquida de proteína aparentes e verdadeiros, em ratos¹ Wistar, previamente adaptadas às dietas, de caseína, Cas + 5% de SCO, Cas + 5% SSO, Cas + 10% SCO, Cas + 10% SSO, Cas + 15% SCO, Cas + 15% SSO, como fontes protéicas (10,5 ± 0,09% de proteína) após 10 dias de experimento com balanço de nitrogênio 5 dedias

Dietas ²	Digestibilidade		Valor Biológico		Utilização líquida da Proteína	
	aparente %	verdadeira %	aparente %	verdadeiro %	aparente %	verdadeiro %
Caseína	84,93 ± 2,20 ^c	85,40 ± 1,03 ^b	65,76 ± 3,70 ^a	66,22 ± 2,65 ^a	55,89 ± 4,27 ^a	66,03 ± 2,31 ^a
C 5% SCO	86,48 ± 2,18 ^{ab}	89,59 ± 1,10 ^b	66,28 ± 5,95 ^a	67,52 ± 5,26 ^a	61,84 ± 6,30 ^a	64,83 ± 5,36 ^a
C 5% SSO	92,71 ± 1,97 ^a	92,84 ± 1,27 ^a	69,60 ± 5,39 ^a	70,97 ± 6,73 ^a	64,21 ± 5,58 ^a	65,43 ± 5,34 ^a
C 10% SCO	87,40 ± 1,73 ^{ab}	89,70 ± 0,56 ^b	67,04 ± 5,39 ^a	66,45 ± 6,79 ^a	60,33 ± 5,58 ^a	63,27 ± 5,34 ^a
C 10% SSO	86,85 ± 0,97 ^{ab}	90,58 ± 0,79 ^b	65,43 ± 5,40 ^a	66,22 ± 5,83 ^a	62,78 ± 4,75 ^a	62,79 ± 5,40 ^a
C 15% SCO	85,29 ± 1,57 ^b	89,90 ± 0,93 ^b	65,86 ± 3,45 ^a	66,07 ± 3,02 ^a	60,12 ± 2,52 ^a	62,71 ± 3,10 ^a
C 15% SSO	85,51 ± 0,92 ^{ab}	89,64 ± 0,54 ^b	65,52 ± 5,83 ^a	65,34 ± 5,61 ^a	58,78 ± 5,52 ^a	61,81 ± 5,15 ^a

I. Valores Médios e desvios-padrão para grupos de 6 ratos pesando 44,02 ± 2,03g, após 5 dias de adaptação às dietas.

2. Dietas

Caseína

C 5% SCO - Caseína + 5% de silagem com óleo

C 5% SSO - Caseína + 5% de silagem sem óleo

C 10% SCO - Caseína + 10% de silagem com óleo

C 10% SSO - Caseína + 10% de silagem sem óleo

C 15% SCO - Caseína + 15% de silagem com óleo

C 15% SSO - Caseína + 15% de silagem sem óleo

a.b.c.d. Os valores médios na mesma coluna assinalados com letras iguais não apresentam diferença estatisticamente si significativa ($p > 0,05$).

6. CONCLUSÕES

1. A utilização da despesca da tilápia do Nilo para elaboração da silagem, é viável, adaptando-se bem à formulação 3% (p/p) de ácido fórmico até a completa liquefação da mistura, mostrando o produto composição centesimal, quase idêntica à matéria prima.

2. O método de obtenção da silagem, é bastante simples e versátil, constituindo-se numa fonte de aminoácidos essenciais, constatado pelo escore químico (EQ) a exceção do triptofano (EQ 0,96), sendo adequado para alimentação animal durante 30 dias após a formulação;

3. Nos valores de nitrogênio não-protéico e nitrogênio alfa-amínico, observou-se aumento gradual com o tempo de armazenagem da silagem de tilápia do Nilo, sendo acelerado no início e tornando-se estável após 30 dias, indicando que a autólise se reduz consideravelmente após o período inicial de tempo.

4. A magnitude da decomposição dos aminoácidos, foi maior na silagem armazenada durante 90 dias (silagem antiga) do que naquela com 30 dias, (silagem nova) particularmente dos aminoácidos essenciais leucina, isoleucina, lisina e triptofano, refletindo efeitos negativos sobre o ganho de peso médio diário, dos ratos quociente de eficiência alimentar e quociente de eficiência protéica líquida (NPR).

5. Em relação às bases voláteis totais, observou-se que a partir dos 90 dias, houve aumento significativo da produção de BVT sendo portanto um indicativo de maior degradação de aminoácidos e proteínas por enzimas microbianas, permitindo o avanço da deterioração significativa do produto afetando os

parâmetros de qualidade da silagem. Embora o valor das BVT tenha aumentado, ainda se manteve dentro dos limites normais, se comparado com os 140mg N / 100 g assinalados como limite máximo para silagem de peixe;

6. A viscosidade durante o processo de armazenagem diminuiu significativamente à medida que se realizava a autólise, sendo a redução mais intensa nos primeiros dias e ocorrendo até o 30^o dia de armazenamento, sendo que, à medida em que a viscosidade era reduzida, aumentava-se a solubilidade do produto tornando-o completamente liquefeito, favorecendo assim a mistura da silagem com outros ingredientes sólidos;

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

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

9. A utilização de uma silagem recentemente preparada (silagem nova 30 dias de armazenagem), apresentou maior valor nutricional em relação à (silagem antiga 90 dias de armazenagem), sendo o baixo valor nutricional dessa silagem, devido à decomposição dos aminoácidos essenciais leucina, isoleucina, lisina e triptofano, como também à ação de enzimas lipolíticas, e reações de rancidez oxidativa ocasionando interações de lipídios oxidados com proteínas, afetando a digestibilidade e a palatabilidade das dietas tendo por via de consequência menor ingestão de dieta e utilização da dieta por parte dos animais (ensaio A);

10. O nível ideal de complementação com a silagem para obtenção de maior valor nutricional em relação à ração de crescimento para suínos foi de 5%, pois esta complementação forneceu maior ganho de peso, balanço nitrogenado aparentes aos ratos utilizados neste ensaio ($p < 0,05$). No caso da ração testemunha de terminação para suínos a exceção do ganho de peso, que também aumentou com a complementação com 5% da silagem, não foi observada nenhuma outra melhora nutricional (ensaio B).

11. O ganho de peso diário e a conversão alimentar dos ratos melhoraram linearmente ($p < 0,05$) com a diminuição do teor de óleo na silagem, tendo-se verificado efeito negativo dos níveis de silagem com óleo sobre o consumo de ração da dieta de caseína ; nesse sentido mais uma vez foi verificada a adequação da complementação da dieta de caseína com 5% da silagem, para melhoria do valor nutricional (ensaio C).

12. Portanto, o processo de obtenção da silagem de tilápia do Nilo, é tecnicamente viável e, sugere-se que, a "silagem ácida com 30 dias de armazenagem" desengordura seja utilizada como complemento protéico ao nível de 5% em rações para suínos a base de milho e farelo de soja.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 12. ed. Washington, 1975.620p.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 13. ed. Washington, 1980. 650p.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis the Association of Official Analytical Chemists.** 14. ed. Arlington, 1984. 1141p.
4. AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (A.R.C.). **The nutrient requeriments of pigs.** Farnham Royal, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981. p. 307-310.
5. ALLEN, C.E.; FOEGEDING, E.A. Some lipids characteristics and interactions in muscle foods: a review. **Food Technol.** v. 35, n.5, p. 253-7, 1981.
6. AMAYA-FARFAN, J. **Química de proteínas aplicada a ciência e tecnologia dos alimentos.** Campinas, Ed. UNICAMP, 1980. 99p.
7. BACKHOFF, H.P. Some chemical changes in fish silage. **J. Food Technol.,** v. 11, p. 353-63, 1976.

8. BAYLEY, B.E.; CARTER, N.M.; SWAIN, L.A. Marine oils with special reference to those of Canada. **J. Fish. Res. Bd. Can.** v. **89**, p. 1-10, 1952.
9. BAKER, D.H.; KATZ, R.S.; EASTER, R.A. Lysine requirement of growing pigs at two dietary protein. **J. Anim. Sci.** v. **40**, n. 5, p. 851-6, 1975
10. BALOGUN, A.M.; OYEYEMI, I.E. Cost analysis of a small scale fish silage production from cannery wastes in Nigeria. **J. West Afr. Fish.**, v. **2**, p. 66-77, 1986.
11. BATISTA, I. Fish silage: preparation and uses. In: BRUNO, A. ed. **Nutrition in marine aquaculture..** Tunis, **FAO/UNDP/MEDRAP**, 1987. p. 227-248.
12. BATTERHAM, E.S.; GORMAN, T.B.S. Fish silage for growing pigs. In: FARRELL, D.J. ed. **Recent advances in animal nutrition.** Armidale, University of New England, 1980, p. III-5.
13. BECKER, H.C.; MILNER, R.T.; NAGEL, R.H. A method for the determination of nonprotein nitrogen in soybean meal. **Cereal Chem.** v. **17**, p. 447-57, 1940.
14. BECKMAN INSTRUMENTS. Spinco Division. **Amino acid analyzer instruction manual.** Palo Alto, 1977. 250p.
15. BENDER, A.E.; MILLER, D.S. A new brief method of estimating net protein value. **Biochem. J.** v. **53**, p. 7-8, 1953.

16. BERAQUET, N.J.; GALACHO, S.A.A. Composição, estabilidade e alterações na fração protéica e no óleo de ensilados de resíduos de peixe e de camarão. **Col. ITAL.** v. 13, p. 149-74, 1983.
17. BERTULO, E. Ensilado de pescado en la pesqueria artesanal. **In: FAO. Consulta de expertos sobre tecnologia de productos pesqueros en America Latina.** 2. Montevideo. Roma, FAO. 49p. 1989.
18. BLIGH, E. G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Cand. J. Biochem. Physiol.** v. 37, n. 8, p. 911-7, 1959.
19. BREMER, A.H.; OLLEY, J.; THROWER, J.S. **Course notes on fish handling and quality control.** Tunis, Tasmanian, Editora Hobart, 1978. 53p.
20. BUTTUKUS, A. The reaction of miosin with malonaldehyde. **J. Food Sci.** v. 32, n. 4, p. 432-35, 1967.
21. CASTER, W.O.; AHN, P.; HILL, E.G.; MOHRHAUER, H.; HOLMS, R.T. Determination of linoleate requirement of swine by a new method of estimating nutritional requirement. **J. Nutr.** v. 78, p. 147-52, 1962.
22. CHANEY, S.G. Principles of nutrition. II: Micronutrients. **In: DELVIN, T. ed, Textbook of biochemistry with clinical correlations.** New York, Hobart, 1986. p. 964-78.
23. CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. Aminoacids peptides and proteins. **In: FENNEMA, O.R. ed. Food Chemistry, 2.ed.,** New York, Mancel Dekker, 1986. 245p.

24. CHIMITS, P. La tilapia y su cultivo: una bibliografía preliminar. **Boletim de Pesca de la FAO**. v.8, n.1, p.1-35, 1955.
25. CNNPA COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Padrões Microbiológicos. Resol. no. 13/78. Brasília, 1978.
26. COELHO, L.S.S.; COSTA, P.M.A.; PEREIRA, J.A.A.; ROSTAGNO, H.S.; BARBOSA, H.P. Exigências de lisina para suínos de 15 a 30kg de peso vivo em rações de baixo nível protéico. **Rev. da Socie. Brasil. de Zootec**, v. 16, n. 1, p. 60-71, 1986.
27. COLE, D.J.A. Amino acid nutrition of the pig. In: HARESIGN, W. LEWIS, D. ed. **Recent advances in animal nutrition**. London, Butterworths, 1978. p. 59-62.
28. CONNELL, J.L.; HOWGATE, P.F. The amino acid composition of some British food fishes. **J. Sci. Food Agric**. v. 10, p. 241-248, 1959.
29. DE ANGELIS, R.C. **Fisiologia da nutrição**. 2. ed. São Paulo, EDART, 1979. 209p.
30. DE OLIVEIRA, A.C. Interação entre lipídios e proteínas em farinha de pescado oxidado. In Vieira, N. AGROS. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel PeLOTAS- R.S., 1977. p. 27-33.
31. DISNEY, J. G; HOFFMAN, A. Development of a fish silage/ carbohydrate animal feed for use in the tropics. **Tropical Sci**. v. 20, n. 2, p. 129-35, 1978.

32. DISNEY, J.G.; JAMES, D. Fish silage production and its use. Rome, FAO, 1980. 105p. (FAO Fish Rep. No. 230).
33. DISNEY, J.G.; TATTERSON, I.N.; OLLEY, J.; CLUCAS, I.J.; BARRANCO, A.; FRANCIS, B.J. Development of a fish silage/carbohydrate animal feed for use in the tropics. **Tropical Sci.** v. 20, n. 2, p. 129-44, 1979.
34. DUPONT, A. Amino acid content of Indonesian fresh water fish. **Biochem. Z.** v. 330, p. 174-6, 1958.
35. EASTER, R.A.; BAKER, D.H. Lysine and protein levels in corn soybean meal diets for growing - finishing swine. **J. Anim. Sci.** v. 50, n. 3, p. 467-71, 1980.
36. EINSET, E.; OLCOTT, H.; STANSBY, M.E. Oxidation deterioration in fish and fishery products. IV. Progress in studies concerning oxidation of extracted oils. **Comm. Fish. Rev.** v.19, n. 5a. p. 35-42, 1957.
37. ESPE, M.; RAA, J.; NJAA, L.R. Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. **J. Sci. Food Agric.** v. 49, n. 2. p. 259-70, 1989.
38. FAGBENRO, O.A.; JAUNCEY, K. Chemical and nutritional quality of dried fermented fish silages and their nutritive value for tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Animal Feed Sci. Technol.** v. 45, p. 167-76, 1994
39. FAO **Relatório de tecnologia e controle de qualidade de produtos de pesca.** Praia, Rep. de Cabo Verde, 27/11 a 11/12 de 1984. Roma 24 p. 1989.

- 40.FOEGEDING, E.A. Functional properties of tunkey salt-soluble proteins. **J. Food Sc.** v. **52**, n. 6. p 1495-9, 1987.
- 41.FRANKEL, E.N. Recent advances in the chemistry of rancidity of fats. In: SCHULTZ, H. W. (ed). **Recents advances in the chemistry of meat**. London, Royal Society Chemistry, 1983. Cap. 6, p. 86-118.
- 42.FREEMAN, H.C. ; HOOGLAND, P.L. Processing of cod and haddock viscera. I. Laboratory experiments. **J. Fish. Res. Bd. Can.** v. **13**, n. 6. p. 869-877, 1956.
- 43.FREITAS, J.F.F.; GURGEL, J.J.S. ; MACHADO, Z.L. Estudos de alguns parâmetros biométricos e da composição química, inclusive sua variação sazonal, da tilápia do Nilo, *Sarotherodon niloticus* (L.), do açude público "Paulo Sarasate" (Reriutaba, Ceará, Brasil), durante os anos de 1978 e 1979. **Bol. Tecn. DNOCS**, v. **37**, n. 1. p. 135-51, 1979.
- 44.FREITAS, J.V.F.; GURGEL, J.J.S.; SALES, R.O. Experimentos sobre salga e secagem do híbrido das tilápias (*Sarotherodon hornorum* X *Sarotherodon niloticus*). **Bol. Tecn. DNOCS**, v. **40**, n. 2, p. 109-23, 1982.
- 45.FUNNS, J.A.; WEISS, V.; KARELL, M. Effects of reaction conditions and reactant concentrations on polymerization of lysozyme reacted with peroxidizing lipids. **J. Agric. Food Chem.** v. **30**, n. 10, p. 1204-8, 1982.
- 46.GATLIN III, D.M. Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the goldfish, golden shiner and fathead minnow. **Aquaculture**, v. **60**, n. 2, p. 223-9, 1987.

- 55.GURGEL, J.J.S.; FREITAS, J.V.F. Sobre a composição de doze espécies de peixe de valor comercial de açudes do Nordeste brasileiro. **Bol. Tecn. DNOCS**. v. 30, n. 2, p. 49-57, 1972.
- 56.HAARD, N.F.; KARIEL, N.; HERZBERG, G.; FELTHAM, L.A.W.; WINTER, K., Stabilisation of protein and Oil in Fish Silage for use as a Ruminant Feed Supplement. **J. Sci. Food Agric**. v. 36, p. 229-41, 1985.
- 57.HALE, O.M.; SOUTHWELL, B.L. Diferences in swine performance and carcass characteristics because of dietary protein level, sex and breed. **J. Anim. Sci**. v. 26, p. 341-6, 1967.
- 58.HALL, G.M. **Silage from tropical fish**. Norttingham, 1985. 278p. Thesis (Ph.D.) - University of Norttingham.
- 59.HALL, G.M.; LEDWARD, D.A. Silage from tropical fish 3. Lipid behaviour. **J. Food Technol**. v.21, p. 45-54, 1986.
- 60.HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metals ions in human diseases: an overview. **Methods Enzymol**. v. 186, n. 1 p. 1-85, 1990.
- 61.HARDY, R.W.; SHEARER, K. D.; SPINELLI, J. The nutritional properties of co-dried fish silage in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) dry diets. **Aquaculture**. v. 38, p. 35-44, 1984.
- 62.HARDY, R.W.; SHEARER, K.D.; STONE, F.E.; WIEG, D.H. Fish silage in aquaculture diets. **J. World Maricult. Soc.** Soc. V.14, p. 695-703, 1983.

47. GILDBERG, A.; RAA, J. Properties of propionic acid/formic acid preserved silage of cod viscera. **J. Sci. Food Agric.** v. **28**, n. 3, p. 647-53, 1977.
48. GILDBERG, A.; RAA, J. Solubility and enzymatic solubilization of muscle and skin of capelin (*Mallotus villosus*) at different pH and temperature. **Comp. Biochem. Physiol.** v. **63B**, p. 309-11, 1979.
49. GIURCA, R.; LEVIN, R.E. Optimization of the actic acid fermentation of hidroyzed cod gurry with molasses. **J. Food Biochem.** v. **16**, p. 83-97, 1992.
50. GJEFSEN, T.; LYSO, A. Hydrogenated marine fat with high content of free fatty acids in feed mixtures for growing-finishing pigs. **Acta. Agric. Scand.** v. **29**, p. 65-73, 1979.
51. GRAY, J.I. Measurement of lipid oxidation. A review. **J. Am. Oil. Chem. Soc.** v. **55**, n. 7 p. 539-46, 1978.
52. GRAY, J.I. & PEARSON, A.M. Rancidity and warmed-over-flavor, **In:** PEARSON, A.M. & DUTSON, T.R. ed. New York, AVI, **Advances in meat research: restructured meat and poultry products.** 1987. v.3.
53. GREEN, S. **The use of fish silage in pig nutrition.** Nottingham, 1984. 230p. Thesis (Ph.D.) UNiversity of Nottingham.
54. GREEN, S.; WISEMAN, J.; COLE, D.J.A. Examination of stability, and its effect on nutritive value, of fish silage in diets for growing pigs. **Animal Feed Sci. Technol.** v. **21**, n. 1, p. 43-56, 1988.

- 63.HARPER, H.A. **Manual de química fisiológica**. 4. ed. São Paulo, Atheneu, 1977. 400p.
- 64.HARRIGAN, W.F.; McCANCE, M.E. Determination of the number of viable organism in a sample. A. Colony count methods I. Pour plate method. In: JAMES, D.G. (ed). **Laboratory methods in food and dairy microbiology**. London Academic Press, 1976. p.25-54.
- 65.HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Prac.** v. **22**, p. 475-6, 1973.
- 66.HURLEY, L.S.; COSENS, G.; THERIAULT, L.L. Teratogenic effect of magnesium deficiency in rats. **J. Nutrit.** v. **106**, p. 1254-60, 1976.
- 67.IGENE, J.O.; PEARSON, A.M. Role of phospholipids and triglycerids in warmed-over-flavor development in meat model system. **J. Food Sci.** v. **44**, n. 12 p. 1285-8, 1979.
- 68.ITOH, H.; KISHI, T.; CHIBATA, I. Comparative effects of casein and amino acid mixture simulating casein on growth and food intake in rats. **J. Nutr.** v. **103**, p 1709-15, 1973.
- 69.JACKSON, A.J.; KERR, A.K.; COWEY, C.B. Fish silage as a dietary ingredient for salmon. I. Nutritional and storage characteristics. **Aquaculture.** v. **38**, p. 211-20, 1984.
- 70.JAYAWARDENA, K.M.; GUNERAIN, Q.; VILLADSEN, A.; POULTER, R.G. Studies on the preparation of fish silage. III. Dried silage products. **Bull. Fish. Res. Stn. Sri Lanka.** v. **30**, p. 33-6, 1980.

71. JOHNSEN, F. **Fish viscera silage as a feed for ruminants.** Norway, 1981.
Thesis (Ph.D). Agriculture UNiversity of Norway,
72. JOHNSEN, F.; SKREDE, A. Evaluation of fish viscera silage as a feed resource. **Acta. Agric. Scand.** v. 31, p. 21-8, 1981
73. JONES, N.R. The free amino acid of fish. II. Fresh skeletal muscle from lemon sole (*Pleuronectes microcephalus*). **J. Sci. Food Agric.** v. 10, p. 282-8, 1959.
74. JUNK, W.J. Temporary fat storage, an adaptation of some fish species to the water level fluctuations and related environmental changes of the Amazon river. **Amazoniana.** v.9, p. 315-51, 1985.
75. JURGENS, M.H.; HUDMAN, D.B.; ADAMS, C.H.; PEO, Jr., E.R. Influence of a dietary supplement of lysine fed at two levels of protein on growth, feed efficiency and carcass characteristics of swine. **J. Anim. Sci.** v. 26, n. 2 p. 323-7, 1967.
76. KANNER, J.; KAREL, M. Changes in lysozyme due to reactions with peroxidizing methyl linoleate in a dehydrated model system. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 3, p. 468-72, 1976.
77. KHALIL, M.E.; MOUSTAFA, E.K.; OSMAN, H.O.A. Composition of boliti (*Tilapia nilotica*) muscle proteins. **Food Chem.** v. 5, p. 175-84, 1980.
78. KLAY, R.F. Lysine and nitrogen utilization by pigs at four protein levels. **J. Anim. Sci.**, 23(3):881-4, 1964.

- 79.KOMPIANG, I.P.; YUSHADI, S.; CRESSWELL, D.C. Microbial fish silage: chemical composition, fermentation characteristics and nutritional value. In: DISNEY, J.G.; JAMES, D. ed. **Fish silage production and its use**. Rome, FAO, 1980. p. 38-43 (FAO Fish Rep. 230)
- 80.KOMPIANG, I.P.; ARIFUDIN, R.; RAA, J. Nutritional value of ensilaged by-catch fish from Indonesian skrimp trawlers. In: CONNELL, J.J. ed. **Advances in fish Science and technology** Farnham, Fishing News Books, 1981. p. 52-9.
- 81.KRAMER, A.; TWIGG, B.A. **Quality control for the the food industry: fundamentals**. Westport, AVI, 1970, p. 556-8.
- 82.LABUZA, T.P Kinetics of lipid oxidation in foods. **Crit. Rev. Food Technol.** v. 2, p. 355-8, 1971.
- 83.LAJOLO, F. M.; ZUCAS, S.M.; DOMINGUES, J.B. Estudo bromatológico de concentrados protéicos obtidos a partir da *Sardinella aurita* e da *Tilápia melanopleura* I. Ensaio das proteínas. **Arch. Latinoam. Nutrit.** v.25, p. 67-78, 1975.
- 84.LANTZ, A.W. Special products from freshwater fish. **Bull. Fish. Res. Bd. Can.** v. 151, p. 45-8, 1966.
- 85.LEA, C.H. Lipids and their oxidation. In SCHULTZ, H.W. DAY, E.A.; SINNHUBER, R.O. ed. Westport, AVI, 1962. p. 5-12.
- 86.LEE, C.J.; McBEE Jr., J.L.; HORVATH, D.L. Dietary protein level an swine carcass traits. **J. Anim. Sci.** v. 26, n. 3, p. 490-4, 1962.

- 87.LESSI, E.; XIMENES CARNEIRO, A.R.; LUPIN, H.M. Obtencion de ensilado biologico de pescado. In: HARDY, D.E. ed. Consulta de expertos sobre tecnologia de productos pesqueros en America Latina, 2. Montevideo. Roma, FAO, 1989. 8pp.
- 88.LINDGREN, S.; PLEJE, M. Silage fermentation on fish waste products with lactic acid bacteria. **J. Sci. Food Agric.**v. **34**, p. 1057-67, 1983.
- 89.LOGANI, M.K.; DAVIS, S. Lipid oxidation: biological effects and antioxidants: a review. *Lipids*. v. **15**, n. 6, p. 485-95, 1980.
90. LOVSHIN, L.L.; SILVA, A.B.; FERNANDES, J.A. **The intensive culture of the all mall hybrid of "Tilapia hornorum (male) x T. nilotica (female) in northeast Brazil.** s.l.p. F.A.O. 1974. (CARPAS/6/74 SE(22)).
- 91.LUCAS, I.A.M.; MILES, K.L. Comparison of protein concentrations in diets given unchanged to pigs from 18 to 93 kg live weight. **Animal Product**. v. **12**, p. 403-12, 1970.
- 92.MACKIE, I.M.; HADY, R.; HOBBS, G. **Fermented fish products.** Rome, FAO, 1971. 54p. (FAO. Fish Rep., 100).
- 93.MAI, J.; SHETTY, J.K.; KAN, T.M.;KINSELLA, J.E. Protein and amino acid composition of select freshwater fish. **J. Agric. Food Chem.** v. **28**, p. 884-5, 1980.
- 94.MAIA, E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; AMAYA-FARFAN, J. Proximate, fatty acid and amino acid composition of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. *Food Chem.* v. **12**, p. 275-86, 1983.

- 95.MANDELLI, M.Q. A preservação ácida no aproveitamento econômico do pescado e dos resíduos de sua industrialização. **Equipisca J.** v. 44, p. 47-52, 1972.
- 96.MARCH, B.E.; BIELY, J.; TARR, H.L.A. Nutrient composition and evolution of British Columbia whole herring meal. **J. Fish. Res. Bd. Can.** v. 20, p. 229-33, 1963
- 97.McALESSÉ, D.; FORBES, R.M. The requirement and tissue distribution of magnesium in the rat as influenced by environmental temperature and dietary calcium. **The J. Nutrit.** v. 73, p. 94-106, 1961.
- 98.McBRIDEM, J.R.; IDLER, D.R. ; MACLEOD, R.A. The liquefaction of British Columbia Herring by ensilage, proteolytic enzymes and acid hidrolisis. **Fish. Res. Bd. Can.** v. 18, n, 1, p. 94-7, 1961.
- 99.McWARD, G.W.; BECKER, D.E.; NORTON, H.W.; TERRIL, S.W.; JENSEN, A.H. The lysine requirement of weanling swine at two levels of dietary protein. **J. Anim. Sci.** v. 18, n. 3, p. 1059-66, 1959.
- 100.MEDINA, S.; BLANCO, M.; NIND, A.; LARRU, F.; LOBILLO, E. Determinación espectrofotométrica de hierro, manganes, cobre, molibdeno, cobalto y fosforo total en la hueva de la merluza (*Merluccius merluccius* L.) **Anales bromatol.** v. 8, n. 2, p. 313-5, 1956.
- 101.MENDES, M.H.M.; LAJOLO, F.M. Evolução das bases voláteis totais e de trimetilamina em pescados e seu uso como indicador de qualidade. **Rev. Farm. Bioquim.** Universidade de São Paulo v. 13, n. 2, p. 303-22, 1975

102. MEINKE, W.M.; MATTIL, K.F. Autolysis as a factor in the production of protein isolates from whole fish. **J. Food Sci.** v. **38**, p. 864-7, 1973.
103. MORGA, A.A. **Avaliação do índice de frescor da pescada foguete (*Macrodon ancylodon*) conservada em gelo.** Campinas, Universidade Estadual de Campinas. 1975. 80p. Tese (Mestrado) Faculdade de Tecnologia de Alimentos.
104. MOTTRAM, D. Lipid oxidation and flavor in meat and meat products. **Food Sc. Technol. Today** v.1, n. 3, p. 159-62, 1987.
105. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. National Research Council. Institute of Laboratory Animal Resources. ILAR. Laboratory Animal Management: Rodents. Separata do **ILAR News**, Washington, **20(3):L1-L5**, 1980.
106. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of laboratory animals.** 2. ed. v. **10** NCR, Washington D.C., 1988.
107. NARAYAN, K.A.; KUMMEROW, F.A. Factors influencing the formation of complexes between oxidized lipids and proteins. **J. Am. Oil Chem. Soc.** v. **40**, n. 8, p. 339-42, 1963.
108. NEILENDS, J.B.; SIRNY, R.J.; SOHLJELL, I.; STROM, F.M.; ELVEHJEM, C.A. The nutritive value of canned foods, II. Amino acid content of fish and meat products. **J. Nutr.** v. **39**, p. 187-94, 1949.
109. NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORPORATION. **ICN diet catalog.** Cleveland, NBC, 1977/78. p. 18-24.

110. O'BRIEN, P.J. The effects of hydrogen peroxid or lipid peroxid on cytochrome C. **Biochemical J.** v. 101, n. 2, p. 12-28, 1966.
111. OETTERER DE ANDRADE, M. **Produção de silagem a partir da biomassa de pescado:** levantamento bibliográfico sobre os diferentes tipos de silagem que podem ser obtidos com pescado; silagem química, enzimática e microbiana. Piracicaba, Depto. Ciênc. Tecnol. Agroind. da ESALQ/USP, 1992. 25p.
112. OETTERER DE ANDRADE, M. **O processo de fermentação do pescado (Anchovamento):** Curso de especialização em Tecnologia de Produtos Pesqueiros, Fortaleza - UFC / LABOMAR / Depto. Eng de Pesca, 1991. 35p.
113. OETTERER DE ANDRADE, M. Pescado fermentado. In: AQUARONE, E.; LIMA DE ALMEIDA, U.; BORZANI, W. coord. **Alimentos e bebidas por fermentação.** São Paulo. Edgard Blucher, 1983. p. 177-202 (Biotecnologia, v.5).
114. OLCOTT, H.S. Marine products. In: SCHULTZ, H.W.ed. Symposium of foods: lipids and their oxidation. Westport, AVI 1962. p. 354-59.
115. OLLEY, J.; FORD, J.E.; WILLIAMS, A.P. Nutritional value of fish visceral meals. **J. Sci. Food Agric.** v. 19, p. 282-5, 1968.
116. PEARSON, A.M.; GRAY, J.I.; ARLENE, M.; HORENSTEIN, N.A. Safety implication of oxidized lipids in muscle foods. **Food Technol.** v. 37, n. 7, p. 121-5, 1983.

117. PETERSEN, H. Acid preserved of fish and fish offal. **FAO Fish. Bull.** v. 6, n. 1, p. 18-22, 1953.
118. PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental.** 11 ed. Nobel rev. ampl. Piracicaba, 1985. p. 56-76.
119. POTTER, N.N. Fish viscera silage. **Food Sci.** 2 ed. New York, AVI. 1973. 706p.
120. POULTER, R.G.; JAYAWARDENA, K.M.; GANEGODA, P.; RANAWEERA, K.N.P. Studies on fish silage in Sri Lanka - A summary. In: GILDBERG, A. ed. **Fish silage production and its use.** Sri Lanka, Editora, 1980 (FAO Fisheries Report, n.230). p. 64-6.
121. PROTAS, J.F. Custo médio de produção de suínos para abate, Concórdia, EMBRAPA - CNPSA, 1984, 9 p. (Comunicado Técnico, 82).
122. RAA, J.; GILDBERG, A. Autolysis and proteolytic activity of cod viscera. **J. Food Technol.** v. 11, p. 619-28, 1976.
123. RAA, J.; GILDBERG, A. Fish Silage; a review. **CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** v. 16, n. 4, p. 383-419, 1982.
124. REECE, P. Control and reduction of free fatty acid concentration in oil recovery from fish silage prepared from sprat. **J. Sci. Food Agric.** v. 31, p. 147-55, 1980.

- 125.SATHE, S.K.; DESHPANDER, S.S.; SALUNKHE, D.K. Dry beans of Phaseolus. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.** v. 21, p. 41-93, 1984.
- 126.SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição.** fator de saúde e desenvolvimento. p. 19 e 243. Ed. UNICAMP/ALMED, Campinas, São Paulo, 1987.
- 127.SHAHIDI, F.; HONG, C. Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. **J. Food Biochem.** v.21, n. 2, p. 145-9, 1991.
- 128.SHARDA, D.P.; MAHAN, D,C,; WILSON, R.F. Limiting amino acid in low protein corn soybean meal diets for growing-finishing swine. **J. Anim. Sci.** v. 42, n. 5, p. 1175-81, 1976.
- 129.SIEBERT, G. Enzymes of marine fish muscle and their role in fish spoilage. In: HEEN, E.; KREUZER, R. ed. **Fish in nutrition.** London, Fishing News Books, 1961. p 80-7.
- 130.SINNHUBER, R.O.; YU, T.C., 2-Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. II. The quantitative determination of malonaldehyde. **Food Technol.** v. 12, p. 9-12, 1958.
- 131.SLAVIN,W. **Atomic Absorption Spectroscopy.** New York, Interscience, 1968. 308p.

132. SMITH, K.J. Soybean meal: production, composition and utilization. **Feedstuffs** Jan. 17th, 22, 1977.
133. SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G., **Statistical methods**. 6 ed. Ames, Iowa State College Press, 1967. p 45-69.
134. SPACKMANN, D. H.; SETEIN, W. H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Cereal Chem.** v. 30, n. 7, p. 1190-1206, 1958.
135. SPIES, J. R. Determination of triptophan in proteins. **Anali. Chem.** v. 39, p. 1412-6, 1967.
136. STONE, F.E.; HARDY, R.W. Nutritional value of acid stabilised silage and liquified fish protein. **J. Sci. Food Agric.** v. 37. p. 797-802, 1986.
137. STROM, T.; EGGUM, B.O., Nutritional value of fish viscera silage. **J. Sci. Food Agric.** v. 32, p. 115-7, 1981.
138. THE PERKIN-ELMER. **Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry using the HGA Graphite Furnace**. Connecticut, Perkin-Elmer Cp. 1981. 180p.
139. TATTERSON, I.N.; WINDSOR, M.L. Fish Silage. **J. Sci. Food Agric.** v. 25, p. 369-79, 1974.
140. THATCHER, F.S.; CLARK, D.S. **Microrganisms in foods**. London, Academic Press, 1965. v. 3, chap. 3.

141. TIBBETS, G.W.; SEERLEY, R.W.; McCAMPBELL, H.C.; VEZEY, S.A.
An evaluation of an ensiled waste fish product in swine diets. **J. Animal Sc.** v. **52**, p. 93-100, 1981.
142. VAN WYK, G.N.; FRANCK, F.; POTGIETER, B.J.; WESSELS, J.P.H.; ATKINSON, A. Utilization of fish silage. A study of its intake by porkers. **Agroanimalia**. v. **9**, p. 13, 1977.
143. VAN WYK, H.J.; HEYDENEYCH, C.M.S. The production of naturally fermented fish silage using various lactobacilli and different carbohydrate sources. **J. Sci. Food Agric.** v. **36**, p. 1093-1103, 1985.
144. VERMEERSCH, G.; VANSCHONBROEK, F. The quantification of the effect of increasing levels of various fats on body weight gain, efficiency of food conversion and food intake of growing chickens. **Br. Poult. Sci.** v. **9**, p. 13-8, 1968.
145. XIMENES CARNEIRO, A.R.X. Elaboração e uso de ensilado biológico de pescado na alimentação de alevinos de tambaqui, (*Colossoma macropomum*) (Cuvier, 1818). Manaus, 1991. 81 p. Tese (Mestrado) - INPA. FUA
146. WAGNER, G.R.; CLARK, A.J.; HAYS, V.W.; SPEER, V.C. Effect of protein energy relationship on the performance and carcass quality of growing swine. **J. Anim. Sci.** v. **22**, n. 1, p. 202-8, 1963.

147. WANG F.L.; WANG, R.; KHAIRALLAH, E.A.; SCHWARTZ, R. A
magnesium depletion during gestation and lactation in rats. **J. Nutrit.** v.
101, p. 1201-10, 1971.
148. WEE, K.L. KERDCHUEN, N.; EDWARDS, P. Use of water grown tilapia
silage as feed for *Clarias batrachus* L. **J. Aquacult. Trop.** v. **1**, p. 127-37,
1986.
149. WIGNALL, J.; TATTERSON, I.N. Fish silage. Process. **Biochem.** v. **11**, p.
17-22, 1976.
150. WOLZACK, A. The comparison of in vivo and in vitro estimates of protein
digestibility of native and thermally processed vegetable proteins.
Qualitas Plantarum: plant foods for human nutrition. v. **31**, p. 31-43,
1981.

ANEXO 1.

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

Espécie/Ano	1989	1990	1991	Total
Apaiari (<i>Astronatus ocellatus</i>)	405.690	418.369	346.605	1.170.664
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	6.256	9.325	1.367	16.948
Curimatã pacu (<i>Prochilodus cearensis</i>)	2.114	5.562	2.003	9.679
Pescada Cacunda (<i>Plagioscion surinamensis</i>)	103.769	54.448	70.223	228.440
Pescada do Piauí (<i>Plagioscion squamosissimus</i>)	2.284.269	2.199.226	1.498.071	5.981.566
Piau verdadeiro (<i>Leporinus elongatus</i>)	8.497	2.493	2.551	13.541
Tambaquí (<i>Colossoma macropomum</i>)	1.391	1.835	6.510	9.736
Tilápia do Congo (<i>Tilapia rendalli</i>)	336.806	326.555	362.367	1.025.728
Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis (O.) niloticus</i>)	4.378.376	3.519.486	3.168.827	11.066.689
Tucunaré comum (<i>Cichla ocellaris</i>)	1.225.662	1.366.097	1.344.310	3.936.069
Tucunaré Pinima (<i>Cichla temensis</i>)	512.112	826.605	513.374	1.862.091
Camarão (<i>Macrobrachium carcinus</i>)	1.211.341	1.129.496	881.749	3.222.586

Fonte: GURGEL & FREITAS (1972).

ANEXO 2.

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

Espécie	Matéria seca	Proteína	Gordura	Cinzas
	%	%	%	%
Apaiari <i>(Astronatus ocellatus)</i>	22 - 27,8	16 - 22,3	0,6 - 8,7	1,3 - 6,0
Pescada do Piauí <i>(Plagioscion squamosissimus)</i>	18 - 26,1	15 - 20,2	0,2 - 6,2	1,1 - 2,6
Curimatã Comum <i>(Prochilodus cearensis)</i>	23 - 40,4	16 - 21,4	4,1 - 26,1	1,1 - 3,6
Piau Comum <i>(Leporinus elongatus)</i>	23 - 32,0	16 - 18,9	6,5 - 11,6	1,4 - 3,0
Piau verdadeiro <i>(Leporinus elongatus)</i>	22 - 42,2	17 - 21,8	2,1 - 20,0	1,4 - 3,0
Tilápia <i>(Oreochromis (O.) niloticus)</i>	20 - 29,8	18 - 21,0	0,9 - 7,10	1,2 - 2,9
Traíra <i>(Hoplias malabaricus)</i>	20 - 33,9	18 - 24,0	0,9 - 4,8	1,3 - 2,8
Tucunaré comum <i>(Cichla ocellaris)</i>	21 - 27,7	18 - 27,9	0,2 - 2,2	1,7 - 3,6
Cangatí <i>(Trachycoristes geleatus)</i>	21 - 34,4	12 - 18,9	5,3 - 20,4	1,3 - 5,0
Carpa <i>(Cyprinus carpio)</i>	38 - 45,7	13 - 18,0	21,9 - 26,4	1,1 - 2,7
Sardinha <i>(Triportheus angulatus)</i>	19 - 27,9	16 - 19,1	1,6 - 7,6	1,4 - 2,4
Tilápia do Congo <i>(Tilapia rendalli)</i>	20 - 36,4	15 - 17,8	6,5 - 25,0	1,2 - 2,1

Fonte: GURGEL & FREITAS (1972)

ANEXO 3.

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

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

Fonte: MAI *et alii* (1980)

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

dp - desvio padrão.

ANEXO 4.

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

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

Fonte: SHARDA *et alii*, (1976).