

## SILAGEM ÁCIDA DE RESÍDUOS DO ENLATAMENTO DE SARDINHA sob DUAS CONDIÇÕES TÉRMICAS: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

Maria Fernanda Oliveira da Silva<sup>1</sup>, Maria Beatriz Abreu Gloria, Dariane Beatriz Schoffen Enke, Débora Machado Fracalossi.

### RESUMO

A silagem de pescado é uma alternativa proteica na fabricação de rações para aquicultura. A temperatura afeta a hidrólise de proteínas e, portanto, pode afetar a composição e a qualidade da silagem. Para testar esta hipótese, comparou-se a silagem ácida de resíduos do enlatamento de sardinhas produzida no verão ( $21,87 \pm 0,99$  °C) com a produzida no inverno ( $16,93 \pm 0,70$  °C). Após moagem dos resíduos de sardinha, foi adicionado ácido acético a 10% (volume:peso) e a mistura foi homogeneizada e armazenada. Após 30 dias, foram obtidas três frações diferentes: líquida, pastosa e sólida. Em todas as frações, a matéria mineral foi maior na silagem de verão, enquanto a proteína bruta foi maior na silagem de inverno para frações sólidas e pastosas. As concentrações de aminoácidos foram significativamente maiores na fração pastosa da silagem de inverno e o teor de cálcio foi maior na fração sólida da silagem de inverno. A qualidade da silagem de resíduos de sardinha, avaliada através da proliferação de microrganismos indesejáveis, não foi afetada pela preparação no verão ou no inverno. No entanto, a silagem produzida no verão mostra maior concentração de aminas biogênicas, indicando maior deterioração da matéria-prima. Ocorreu hidrólise de proteínas na silagem preparada nas duas condições térmicas; no entanto, foi maior na silagem de verão. O aumento da solubilidade de proteínas demonstra a eficácia da silagem ácida para aumentar a disponibilidade de proteínas e seu bom potencial para uso em rações para animais.

**Palavras-chave:** nutrição; subproduto; pescado; hidrolisado; substituição.

### ABSTRACT

Fish silage is a potential alternative protein for aquafeeds. Temperature affects protein hydrolysis and therefore could affect silage composition and quality. To test this hypothesis, acid silage of sardine canning waste prepared in the summer ( $21.87 \pm 0.99$  °C) was compared to that produced in the winter ( $16.93 \pm 0.70$  °C). After grinding sardine waste, 10% acetic acid (v:w) was added and the mixture was homogenized and stored. After 30 days, three different fractions were obtained: liquid, pasty and solid. In all fractions, ash was higher in summer silage while crude protein was higher in winter silage for solid and pasty fractions. Amino-acid concentrations were significantly higher in pasty fraction of winter silage and calcium content was higher in solid fraction of winter silage. Quality of sardine waste silage, evaluated through the proliferation of undesirable microorganisms, was not affected by preparation in the summer or winter. However, silage produced in summer shows higher concentration of biogenic amines, indicating further deterioration of the raw material. Protein hydrolysis occurred in silage prepared under both thermal conditions; however, it was higher in summer silage. The increase in protein solubility demonstrates the

---

<sup>1</sup> Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Florianópolis, SC 88034-001, Brasil

effectiveness of acid silage to increase protein availability and its good potential for use in aquafeeds.

**Key-words:** feedstuffs, protein hydrolysis, fisheries by-product

## INTRODUÇÃO

O Estado de Santa Catarina é destaque na produção aquícola e pesqueira, desta forma, um grande volume de resíduos de processamento de peixes é gerado pela indústria e seu descarte inadequado pode ser altamente prejudicial ao meio ambiente, sendo necessário procurar usos alternativos para esses resíduos. A sardinha é um importante recurso pesqueiro nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. No estado de Santa Catarina, as principais espécies de sardinha capturadas são *Sardinella brasiliensis*, *Harengula clupeiola* e *Ophistonema oglinum*, que totalizaram 23,0 t em 2010 (UNIVALI / CTTMar, 2011). Antes do processo de enlatamento, a cabeça, nadadeira e as vísceras da sardinha são removidas e os resíduos gerados têm um grande potencial para serem utilizados como matéria-prima na produção de silagem, uma vez que é um resíduo padrão.

A silagem ácida é um uso alternativo interessante dos resíduos de processamento de peixes. É um produto líquido produzido pela acidificação de peixes inteiros ou partes de peixes hidrolisados por enzimas já presentes no peixe. As enzimas decompõem as proteínas do tecido em unidades solúveis menores, e o ácido ajuda a acelerar sua atividade, evitando a deterioração bacteriana (OETTERER, 1994; FAO, 2001). O produto final é uma fonte de proteínas e minerais de alta qualidade para alimentação animal. Durante o processamento e armazenamento de ingredientes proteicos pode ocorrer a deterioração da proteína, seja de forma enzimática endógena ou bacteriana. Os aminoácidos podem sofrer desaminação, formando amônia e compostos contendo carbonos ou sofrer descarboxilação, formando aminas biogênicas e gás carbônico (LASZLO et al., 1986). As aminas biogênicas são boas indicadoras da qualidade da matéria-prima pois são metabólitos de origem bacteriana e resistentes ao tratamento térmico (GLORIA, 2006). Portanto, esses compostos devem ser monitorados para não constituir um risco potencial em silagens de peixes. Outro determinante da qualidade é a temperatura na qual a silagem é realizada, pois afeta a hidrólise de proteínas (OETTERER, 1994). Além disso, as temperaturas

prevalentes nas diferentes estações do ano também podem alterar a composição do tecido do peixe (OGAWA e MAIA, 1999). Desta forma, é importante garantir que o produto final tenha boa qualidade, além de propriedades nutricionais adequadas. Além disso, o excesso de fósforo em qualquer alimento para animais é uma questão importante na aquicultura, pois pode levar à eutrofização do ambiente devido ao aumento da excreção de fósforo nas fezes de peixes. Portanto, a separação das frações da silagem para reduzir a matéria mineral pode ser uma alternativa interessante, considerando que o teor ósseo dos resíduos de peixe pode aumentar o teor de matéria mineral na silagem.

A silagem de resíduos de peixe responde às preocupações ambientais causadas pela falta de descarte adequado da indústria de peixes e oferece vantagens econômicas (OLIVEIRA et al, 2006; BORGHESI et al., 2007; FERRAZ de ARRUDA et al., 2007). Além disso, a produção de silagem é viável em pequena escala e com baixo custo, mostrando viabilidade para uso em alimentos para aquicultura (KOMPIANG, 1981; BEERLI et al, 2004; OLIVEIRA et al, 2006). No entanto, não há informações disponíveis sobre a composição de diferentes frações da silagem de peixes. Além disso, são necessários estudos para garantir a composição nutricional e a segurança da silagem de peixes, no que diz respeito às aminas biogênicas e ao conteúdo microbiológico. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar a qualidade nutricional e de segurança de diferentes frações (líquidas, pastosas e sólidas) de silagens ácidas produzidas com resíduos do enlatamento de sardinha no verão e inverno.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado em duas condições térmicas: a) verão durante o mês de março e b) inverno durante o mês de agosto. Os resíduos de sardinha foram adquiridos nas indústrias de processamento de peixes localizadas em Itajaí, Santa Catarina, Brasil.

### **Produção da silagem**

Trinta quilogramas de resíduos de sardinha compostos por cabeças, vísceras e nadadeiras, foram pesados e moídos em um moedor de carne elétrico e depois divididos em três lotes de 10 kg e armazenados em tambores de plástico de 40 L com

tampas. Após trituração dos resíduos, foram adicionados 10% de ácido acético (volume:peso) e 2% de BHT. A mistura foi homogeneizada manualmente uma vez ao dia durante os primeiros cinco dias, para proporcionar contato uniforme do ácido com a matéria-prima (SEIBEL e SOARES-SOUZA, 2003) e armazenada por 30 dias. O pH e a temperatura da silagem foram monitorados diariamente com um potenciômetro e um termômetro de mercúrio, respectivamente. Após 30 dias, o produto final foi separado em três frações: líquida, pastosa e sólida. A fração sólida foi obtida pressionando a silagem, utilizando uma prensa manual, enquanto as frações pastosa e líquida foram obtidas por centrifugação (5000 g por 25 min) do produto restante. O rendimento das respectivas frações foi calculado.

### **Análises laboratoriais**

#### *Análises da matéria-prima*

As análises de composição proximal foram realizadas de acordo com AOAC (1999): proteína bruta (microKjeldhal; fator de conversão 6,25; método 945,01), extrato etéreo (Soxhlet; método 920,39C), matéria seca (gravimétrica a 105 °C, método 950,01), matéria mineral (incineração em um forno mufla; método 942.05). As análises de qualidade (aminas microbiológicas e biogênicas) foram realizadas no início e no final do processo de ensilagem. As análises microbiológicas realizadas foram: *Staphylococcus* coagulase positivo, coliformes e *Salmonella* spp. As amins biogênicas foram analisadas após extração com ácido tricloroacético a 5% e separação por derivação pós-coluna de fase reversa em pares de íons por HPLC com o-ftalaldeído e detecção fluorimétrica (Gloria e Vale, 1997). As amins determinadas foram: agmatina (AGM), cadaverina (CAD), espermidina (SPD), espermina (SPM), feniletilamina (PHM), histamina (HIM), putrescina (PUT), tiramina (TYM) e triptamina (TRM).

#### *Análises do Produto Final*

Durante o processo de ensilagem, o grau de hidrólise de proteínas foi monitorado através da determinação do nitrogênio solúvel, obtido por precipitação das proteínas de 1 g da amostra com 10 mL de água destilada e 10 mL de ácido tricloroacético a 40% (Haard et al. 1985). Após repouso por 30 min, o nitrogênio

solúvel no filtrado foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl (método 945.01; AOAC, 1999). Análises microbiológicas e de aminas biogênicas também foram realizadas no produto final.

#### *Análises das frações*

As análises de composição proximal (matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral) foram realizadas nas três frações, da mesma forma que na descrição da análise da matéria-prima. O perfil mineral foi analisado na fração sólida, após extração por calcinação e digestão ácida por absorção atômica (ANFAR, 2009). Na fração pastosa, além do perfil mineral, o perfil de aminoácidos também foi determinado após a hidrólise da proteína com HCl 6 N por 24 h a 110 ° C. Os aminoácidos liberados reagiram com fenilisotilcianato (PITC) e foram separados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) na fase reversa e detectados por UV a 254 nm. A quantificação foi realizada por calibração interna multinível usando o ácido aminobutírico como padrão interno (HAGEN et al., 1989).

#### **Análise Estatística**

Os dados mostraram normalidade e homoscedasticidade e foram submetidos ao teste t de Student ( $\alpha = 0,05$ ) para determinar diferenças na composição nutricional das silagens produzidas no verão e no inverno, bem como entre as diferentes frações da silagem. O software estatístico utilizado foi o Statistica®, versão 7.0.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No verão, a temperatura média do sistema foi de  $21,87 \pm 0,99$  ° C, enquanto no inverno, a temperatura média registrada foi de  $16,93 \pm 0,70$  ° C. O valor inicial de pH da matéria-prima do verão foi de 6,45 e diminuiu para  $4,22 \pm 0,14$ , após a adição de ácido acético; enquanto que no inverno, o pH inicial foi de 6,60 e, após acidificação, de  $4,11 \pm 0,05$ . Nas duas estações, o início da liquefação foi durante o terceiro e o quarto dias e aumentou gradualmente até o trigésimo dia. O produto final foi líquido e pastoso, devido à hidrólise proteica contínua devido a enzimas proteolíticas presentes no resíduo de sardinha, principalmente no intestino. A composição nutricional dos resíduos de sardinha utilizados como matéria-prima é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição nutricional das matérias-primas nas diferentes estações.

Composição	g/100 g matéria seca	
	Verão	Inverno
Matéria seca	28,28 ± 0,53 <sup>a</sup>	26,20 ± 0,97 <sup>b</sup>
Proteína bruta	53,90 ± 2,06 <sup>b</sup>	58,95 ± 2,12 <sup>a</sup>
Extrato etéreo	22,41 ± 0,57 <sup>a</sup>	15,17 ± 1,97 <sup>b</sup>
Matéria mineral	22,90 ± 2,21 <sup>a</sup>	14,94 ± 1,16 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Médias dentro de uma linha seguidas por letras diferentes, são significativamente diferentes (P <0,05)

O teor de proteína dos resíduos coletados no inverno foi significativamente maior em comparação ao coletado no verão, enquanto os níveis de extrato etéreo, matéria mineral e matéria seca foram menores. Segundo OGAWA e MAIA (1999), a composição dos peixes varia de acordo com a época do ano, alterações metabólicas durante o crescimento animal, maturação sexual e também devido a alterações na composição da dieta, salinidade e temperatura da água. Além disso, no caso de resíduos do enlatamento de sardinha, o tamanho do peixe pode afetar o tamanho do intestino, da cabeça ou da nadadeira, bem como a proporção das partes residuais: um número elevado de cabeças e nadadeiras contribui para a diminuição do teor de proteínas e o aumento do teor mineral de vísceras, enquanto maior quantidades tendem a aumentar o valor da proteína.

Algumas aminas biogênicas ocorrem naturalmente no tecido de peixes. Em condições normais, o músculo contém altos níveis de espermina e espermidina e baixos níveis de histamina e putrescina (MIETZ e KARMA, 1977; BARDOCZ, 1995; GLORIA e IZQUIERDO-PULIDO, 1999). Neste estudo, com exceção da tiramina, todos os teores de poliaminas (espermina e espermidina) e aminas biogênicas foram maiores no verão (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentração das aminas biogênicas nas matérias-primas e silagens nas diferentes estações.

Aminas	Concentração (mg/100 g)			
	Matéria-prima		Silagem	
	Verão	Inverno	Verão	Inverno
Putrescina	nd	nd	3,96 ± 0,68 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,26 <sup>b</sup>
Cadaverina	32,16	13,93	15,74 ± 0,73 <sup>a</sup>	6,13 ± 1,06 <sup>b</sup>
Histamina	18,94	3,13	30,36 ± 4,03 <sup>a</sup>	4,96 ± 0,99 <sup>b</sup>
Tiramina	16,42	19,14	20,64 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,94 <sup>b</sup>
Agmatina	39,69	18,52	15,64 ± 1,16 <sup>a</sup>	5,10 ± 0,18 <sup>b</sup>
Espermidina	0,98	1,22	8,20 ± 2,53 <sup>a</sup>	4,19 ± 0,59 <sup>a</sup>
Feniletilamina	0,28	0,24	2,97 ± 0,66 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,10 <sup>b</sup>

Espermina	0,99	nd	0,84 ± 0,08 <sup>a</sup>	nd <sup>b</sup>
Triptamina	nd	nd	4,02 ± 0,71 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,27 <sup>b</sup>

nd = não detectada (<0.04 mg/100 g). <sup>a,b</sup> Médias dentro de uma linha seguidas por letras diferentes, são significativamente diferentes (P <0,05)

Muitos fatores podem afetar o conteúdo de aminas biogênicas nos peixes, incluindo: genética, ambiente, gênero, estágio fisiológico e tipo de tecido (DAWOOD et al., 1988; MIDDLEBROOKS et al., 1988; ABABOUCHE et al., 1991; VECIANA-NOGUÉS et al., 1997 e EEROLA et al., 1998). O local de captura, água, temperatura, manuseio pós-colheita, refrigeração, congelamento e sistema de armazenamento também podem influenciar o conteúdo de aminas biogênicas (PRICE et al., 1991; ARNOLD, 1978; FDA, 1996; GLORIA e IZQUIERDO-PULIDO, 1999).

No produto final da silagem, os teores de putrescina, histamina, espermidina, triptamina e feniletilamina aumentaram nas duas estações, enquanto cadaverina, agmatina e espermina diminuíram no verão e no inverno, quando comparados à composição da matéria-prima. A tiramina aumentou na silagem de verão, mas diminuiu a silagem de inverno. Estudos indicam uma diminuição na espermina e espermidina, mas um aumento no conteúdo de putrescina e histamina durante o armazenamento e deterioração de espécies como sardinha, atum, truta arco-íris, salmão e alguns peixes de água doce (MIETZ e KARMA, 1977; DAWOOD et al., 1988; GLÓRIA e IZQUIERDO-PULIDO, 1999). A formação e acumulação de cadaverina, tiramina, triptamina e feniletilamina depende da temperatura, pH, oxigênio, presença de nutrientes e aditivos (ABABOUCHE et al., 1991; MIDDLEBROOKS et al., 1988; WEI et al., 1990; RODRÍGUEZ- JEREZ et al., 1994 e VECIANO-NOGUÉS et al., 1997).

A importância das aminas biogênicas como indicativo de frescor / deterioração da matéria-prima e como critério de qualidade foi reforçada em estudos com salmão do Atlântico, *Salmo salar* (OPSTVEDT et al., 2000), "camarão azul", *Litopenaeus stylirostris* (TAPIA-SALAZAR et al., 2004) e truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (FAIRGRIEVE et al., 1994). Não houve diferença no desempenho do salmão do Atlântico alimentado com dietas a base de farinha de peixe fresco com ou sem suplementação de aminas biogênicas. No entanto, os autores concluíram que o impacto negativo causado pela má qualidade da farinha de peixe não se deve a aminas biogênicas, mas a outros motivos como redução da palatabilidade ou disponibilidade de aminoácidos (OPSTVEDT et al., 2000). Além disso, "camarão azul"

alimentado com dietas contendo farinha de peixe deteriorada apresentou piores taxas de produção, em comparação com aquelas alimentadas com farinha de peixe fresco suplementada com aminas biogênicas (TAPIA-SALAZAR et al., 2004). Por outro lado, Fairgrieve et al. (1994) observaram uma redução no consumo de ração e distensão intestinal em trutas arco-íris alimentadas com dietas suplementadas com histamina (2000 mg / kg).

Não foram detectadas diferenças na análise microbiológica de amostras de resíduos brutos coletados no verão ou no inverno, bem como entre os produtos finais das silagens de verão ou de inverno (Tabela 3). Esses resultados sugerem que os resíduos de sardinha tinham boa qualidade. De fato, todas as amostras de matérias-primas apresentaram baixos níveis basais. Além disso, é evidente a eficácia do agente acidificante (ácido acético) como um meio de impedir a proliferação de microrganismos. Da mesma forma, Oliveira et al. (2006) não encontraram organismos coliformes na silagem de resíduos de tilápia (3% de ácido fórmico) em amostras obtidas no 1º, 15º e 30º dias de silagem ácida; no entanto, a composição microbiológica da matéria-prima antes da acidificação não foi analisada nesse estudo.

Tabela 3 – Análise microbiológica das matérias-primas e silagens nas diferentes estações.

Análise	Contagem de microrganismos (UFC <sup>1</sup> /g)			
	Matéria-prima <sup>2</sup>		Silagem <sup>3</sup>	
	Verão	Inverno	Verão	Inverno
Coliformes termotolerantes (45 °C)	< 1.0 x10 <sup>1</sup>	< 1.0 x10 <sup>1</sup>	< 1.0 x10 <sup>1</sup>	< 1.0 x10 <sup>1</sup>
<i>Staphylococcus</i> Coagulase positiva	< 1.0 x10 <sup>2</sup>	< 1.0 x10 <sup>2</sup>	< 1.0 x10 <sup>2</sup>	< 1.0 x10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i> spp	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g

<sup>1</sup> Unidades formadoras de colônia. <sup>2</sup> Análise realizada em duplicata. <sup>3</sup> Análise realizada em triplicata.

O rendimento da fração do processo de ensilagem foi calculado como a razão entre a quantidade da fração no produto e a quantidade de matéria-prima utilizada (Tabela 4). No entanto, apenas a fração líquida diferiu entre as estações, sendo maior no verão

Tabela 4 – Rendimento das frações obtidas a partir das silagens.

Frações	Rendimento (%)	
	Verão	Inverno
Líquida	11,13 ± 1,28 <sup>a</sup>	5,71 ± 0,87 <sup>b</sup>

Sólida	9,63 ± 0,67 <sup>a</sup>	11,49 ± 4,37 <sup>a</sup>
Pastosa	79,24 ± 1,24 <sup>a</sup>	82,80 ± 3,88 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Médias dentro de uma linha seguidas por letras diferentes, são significativamente diferentes (P <0,05)

A separação do produto final em frações permite melhor aproveitamento pela indústria, uma vez que as propriedades nutricionais variam em cada fração (Tabela 5). Os principais grupos de nutrientes encontrados na fração líquida, nas duas estações, foram proteína e extrato etéreo; no verão, o teor de matéria mineral foi significativamente maior, enquanto na silagem de inverno o teor de extrato etéreo foi maior. Durante a liquefação, a proteína é hidrolisada por enzimas para diminuir produtos de peso molecular, como peptídeos e aminoácidos livres (HERTRAMPF e PIEDAD - PASCUAL, 2000). Consequentemente, o aumento da fração proteica solúvel, que é a razão nitrogênio não proteico: nitrogênio total, serve como índice de solubilização da silagem (BERAQUET e GALACHO, 1983). A fração líquida obtida no verão continha 27,84% de proteína solúvel (o que corresponde a 52,48% de proteína total nessa fração), enquanto a obtida no inverno continha 27,82% de proteína solúvel, correspondendo a 51,30% de proteína total. Ambas as frações líquidas de diferentes épocas contêm quantidade considerável de proteína e podem ser incorporadas na fração pastosa ou usadas como aditivo para aumentar a atratividade e a palatabilidade dos alimentos. Nas frações sólidas, o teor de matéria mineral foi significativamente maior no verão, enquanto as proteínas foram maiores no inverno. A separação da fração sólida pode reduzir o teor de matéria mineral do produto final, o que pode ser interessante quando é necessário um suplemento de proteína. Por outro lado, a fração rica em minerais pode ser usada como fertilizante (OETTERER, 1994) ou como suplemento alimentar mineral para galinhas poedeiras ou ruminantes.

A fração pastosa apresentou diferenças significativas entre as estações do ano para todos os grupos de nutrientes, exceto para os teores de proteínas solúveis. A proteína bruta (PB) foi maior no inverno, enquanto o cinza e o extrato etéreo foram maiores no verão, seguindo a mesma tendência encontrada nas matérias-primas. Os teores de PB foram superiores aos reportados para silagem de tilápia, 59,27% de PB (FERRAZ de ARRUDA et al., 2006); silagem de papa terra (*Geophagus surinamensis*), 33% de PB (ABIMORAD et al., 2009); silagem de peixes de água doce, 44,38% de PB (VIDOTTI et al., 2003); e farinha de sardinha com 50,57% de PB

(BOELTER et al., 2011). No entanto, o conteúdo de proteína da fração pastosa do presente trabalho foi menor do que o relatado para a silagem de resíduos de peixes marinhos com 69,91% de PB (VIDOTTI et al., 2003). O teor de matéria mineral das frações pastosas foi menor do que o relatado por Boelter et al. (2011) e Ferraz de Arruda et al. (2006) (27,20% e 19,23%, respectivamente), mas nesses estudos a silagem não foi separada em frações. No presente estudo, o extrato etéreo não foi eficientemente separada em uma fração, estando presente nas três frações, provavelmente devido à sua emulsificação. No entanto, o teor de extrato etéreo das frações pastosas foi semelhante ao registrado para silagem de tilápia (18,40%) por Ferraz de Arruda et al. (2006).

Tabela 5 – Composição das frações (líquida, sólida, pastosa) das silagens produzidas em diferentes estações.

Nutriente	g/100g (%) matéria seca					
	Líquida		Sólida		Pastosa	
	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno
Matéria seca	24,80 ± 0,96 <sup>a</sup>	18,61 ± 0,82 <sup>b</sup>	32,34 ± 0,30 <sup>a</sup>	35,59 ± 3,33 <sup>a</sup>	32,35 ± 1,00 <sup>a</sup>	30,53 ± 0,30 <sup>b</sup>
Proteína bruta	53,05 ± 1,21 <sup>a</sup>	54,23 ± 1,73 <sup>a</sup>	35,85 ± 1,72 <sup>b</sup>	45,24 ± 1,38 <sup>a</sup>	55,79 ± 3,11 <sup>b</sup>	63,75 ± 4,78 <sup>a</sup>
Proteína solúvel	27,84 ± 1,43 <sup>a</sup>	27,82 ± 0,31 <sup>a</sup>	-	-	27,64 ± 2,63 <sup>a</sup>	26,76 ± 1,58 <sup>a</sup>
Extrato etéreo	23,13 ± 1,67 <sup>b</sup>	39,86 ± 2,18 <sup>a</sup>	13,25 ± 0,47 <sup>a</sup>	9,30 ± 1,70 <sup>a</sup>	23,22 ± 3,9 <sup>a</sup>	14,86 ± 1,97 <sup>b</sup>
Matéria mineral	15,48 ± 3,34 <sup>a</sup>	5,18 ± 2,72 <sup>b</sup>	49,08 ± 1,13 <sup>a</sup>	43,92 ± 3,76 <sup>b</sup>	17,34 ± 1,10 <sup>a</sup>	11,44 ± 1,16 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Médias dentro de uma fração, seguidas por letras diferentes, são significativamente diferentes (P <0.05).

Apesar da pequena mudança na composição da fração pastosa quando comparada à matéria-prima (Tabela 1 e Tabela 5), foi observado o aumento da solubilidade da proteína ao longo do processo de ensilagem. O conteúdo inicial de proteína solúvel na matéria-prima do verão foi de 11,30% (20,96% de PB), enquanto no inverno foi de 13% (22,05% de PB). No verão, houve um rápido aumento de proteína solúvel até o quinto dia do procedimento, uma mudança gradual até o 25º dia e um aumento nos últimos dias, provavelmente devido ao aumento da temperatura ambiente. No inverno, a proteína solúvel aumentou gradualmente. A hidrólise de proteínas aumenta com o tempo de armazenamento (BERAQUET e GALACHO, 1983) e também é favorecida em temperaturas mais altas (OETTERER, 1994), o que

pode explicar por que a proteína solúvel da fração líquida na silagem de verão (27,64%) foi significativamente maior do que na silagem de inverno (26,76%). A silagem obtida a partir de resíduos gerais de peixe, a 20 ° C e após 14 dias, mostrou 38% de proteína solúvel em relação à PB total (BERAQUET e GALACHO, 1983). O conteúdo de proteína solúvel obtido no presente estudo foi inferior ao encontrado para 'espadilhas' (*Sprattus sprattus*) e resíduo total de matéria-prima de bacalhau (TATTERSON e WINDSOR, 1974). Após 10 dias de armazenamento a 23 ° C, a proteína solúvel constituiu aproximadamente 75% de PB total para ambas as silagens ácidas. Possivelmente, essa diferença ocorreu devido à matéria-prima utilizada naquele estudo, que era peixe inteiro (maior atividade enzimática) e não na forma de resíduos, como no presente estudo

A maioria dos aminoácidos foi encontrada em concentrações mais altas na fração pastosa da silagem de inverno (Tabela 6). A fração pastosa obtida na silagem de verão apresentou excelente perfil de aminoácidos, mesmo com menor teor de proteína quando comparada à fração obtida no inverno. Além disso, o teor de histidina e metionina foi maior nas silagens do que na farinha de peixe inteiro. Exceto pela arginina, o conteúdo de aminoácidos relatados aqui foi maior do que o relatado para a silagem de sardinha (*Opisthonema oglinum*) (BOELTER et al., 2011). Níveis mais elevados de aminoácidos do que os aqui apresentados foram encontrados na silagem de resíduos de peixes marinhos (69,91% CP), exceto isoleucina e metionina (VIDOTTI et al., 2003). Tais variações são esperadas considerando a variação entre as matérias-primas utilizadas na preparação das silagens.

O perfil mineral na fração sólida não variou significativamente entre as silagens de verão e inverno (Tabela 7), exceto o teor de cálcio, que foi significativamente maior nas silagens de inverno. Por outro lado, os teores de cálcio, fósforo, cobre, manganês e zinco foram significativamente maiores na fração pastosa da silagem de inverno, enquanto o teor de ferro foi maior na silagem de verão. Em geral, cálcio, fósforo, manganês, selênio e zinco foram mais concentrados na fração sólida em comparação com suas concentrações na fração pastosa. A maioria dos minerais foi encontrada em concentrações mais baixas na fração de silagem pastosa, quando comparada ao farelo de processamento de peixe. Enfatiza-se que o fósforo, embora seja um mineral

essencial, quando em excesso na dieta, pode causar eutrofização do ambiente (WEISMANN et al. 1988).

Tabela 6 – Perfil dos aminoácidos essenciais da fração pastosa das silagens de verão e inverno em comparação com a farinha de peixe (dos resíduos de processamento de peixes e peixes inteiros) e os exigências nutricionais de aminoácidos da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)

Aminoácidos (% ingrediente)	Verão	Inverno	Farinha de peixe (resíduo) <sup>1</sup>	Farinha de peixe inteiro (herring) <sup>2</sup>	Exigências nutricionais <sup>2</sup> (% dieta)
					Truta arco-íris
Arginina	2,72 ± 0,10 <sup>a</sup>	2,74 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,38	3,73	1,50
Fenilalanina	2,19 ± 0,38 <sup>b</sup>	2,41 ± 0,53 <sup>a</sup>	2,24	2,68	0,90
Fenilalanina +tirosina	3,29 ± 0,35 <sup>a</sup>	3,30 ± 0,24 <sup>a</sup>	3,74	3,73	1,80
Histidina	1,60 ± 0,46 <sup>b</sup>	1,76 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,08	1,53	0,80
Isoleucina	2,17 ± 0,86 <sup>b</sup>	2,72 ± 0,10 <sup>a</sup>	2,24	3,64	1,10
Leucina	3,24 ± 0,20 <sup>b</sup>	3,31 ± 0,52 <sup>a</sup>	3,89	4,69	1,50
Lisina	3,57 ± 0,49 <sup>a</sup>	3,64 ± 0,28 <sup>a</sup>	3,40	7,30	2,40
Metionina	2,59 ± 0,30 <sup>b</sup>	2,80 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,35	2,20	0,70
Metionina+cistina	2,88 ± 0,25 <sup>b</sup>	3,20 ± 0,61 <sup>a</sup>	2,28	3,00	1,10
Treonina	1,76 ± 0,14 <sup>b</sup>	2,15 ± 0,44 <sup>a</sup>	2,30	2,49	1,10
Valina	2,42 ± 0,09 <sup>b</sup>	2,83 ± 0,64 <sup>a</sup>	2,82	3,26	1,20
Proteína bruta	55,79	63,75	54,58	72,00	38,00 <sup>3</sup>

<sup>a, b</sup> As médias dentro de uma linha, seguidas por letras diferentes, são significativamente diferentes (P <0,05). <sup>1</sup> Adaptado de Rostagno et al. (2011). <sup>2</sup> Adaptado de NRC (2011). <sup>3</sup> Proteína digestível

Tabela 7 – Perfil mineral das frações pastosas e sólidas das silagens produzidas no verão e inverno, farinhas de resíduo de peixes e farinhas de peixes inteiros.

Minerais	Sólida		Pastosa		Farinha de peixe (resíduo) <sup>1</sup>	Farinha de peixe inteiro (herring) <sup>2</sup>
	Verão	Inverno	Verão	Inverno		
<i>Macrominerais (%)</i>						
Cálcio	7,83 ± 0,13 <sup>b</sup>	8,95 ± 0,23 <sup>a</sup>	3,21 ± 0,16 <sup>b</sup>	4,80 ± 0,14 <sup>a</sup>	5,88	2,20
Magnésio	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,16	0,14
Potássio	0,45 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,60	1,08
Sódio	0,38 ± 0,14 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,30 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,68	0,59
Fósforo	5,74 ± 0,24 <sup>a</sup>	6,38 ± 0,52 <sup>a</sup>	2,36 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,63 ± 0,09 <sup>a</sup>	3,81	1,67
<i>Microminerais (mg / kg)</i>						
Cobre	1,43 ± 0,62 <sup>a</sup>	3,57 ± 0,44 <sup>a</sup>	3,62 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,70 ± 0,21 <sup>a</sup>	12,0	5,60
Ferro	151,55 ± 2,90 <sup>a</sup>	149,45 ± 5,30 <sup>a</sup>	181,6 ± 0,42 <sup>a</sup>	124,3 ± 0,52 <sup>b</sup>	444,1	114,0
Manganês	64,30 ± 2,15 <sup>a</sup>	71,36 ± 12,16 <sup>a</sup>	4,58 ± 0,06 <sup>b</sup>	12,50 ± 0,35 <sup>a</sup>	41,4	4,80
Selênio	36,13 ± 7,35 <sup>a</sup>	27,21 ± 0,30 <sup>a</sup>	14,47 ± 0,37 <sup>a</sup>	14,96 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,79	1,95
Zinco	264,5 ± 19,09 <sup>a</sup>	304,5 ± 50,20 <sup>a</sup>	41,00 ± 0,71 <sup>b</sup>	80,00 ± 0,19 <sup>a</sup>	84,3	125,0
Matéria mineral (%)	49,08	43,92	17,34	11,44	22,74	10,40

<sup>a, b</sup> As médias dentro de uma fração, seguidas por letras diferentes, são significativamente diferentes (P <0,05). <sup>1</sup> Adaptado de Rostagno et al. (2011). <sup>2</sup> Adaptado de NRC (2011).

## CONCLUSÕES

As frações pastosas das silagens produzidas tanto no verão (21,87 ± 0,99 °C) quanto no inverno (16,93 ± 0,70 °C) apresentam composição nutricional adequada para uso como ingredientes proteicos na aquicultura. No entanto, a silagem de inverno

produz uma fração pastosa com maior teor de proteínas e aminoácidos, mas menos extrato etéreo e matéria mineral. A qualidade da silagem de resíduos do enlatamento de sardinha, avaliada através da proliferação de microorganismos indesejáveis, não é afetada pela preparação no verão ou no inverno. No entanto, a silagem produzida no verão mostra maior concentração de amins biogênicas, indicando maior deterioração da matéria-prima. A silagem preparada no verão mostra um maior grau de hidrólise de proteínas, mas a silagem de inverno ainda apresenta uma hidrólise de proteínas adequada.

## REFERÊNCIAS

- Ababouch L, Afilal, ME, Benabdeljelil, H, Busta, FF. Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine (*Sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25–28 °C) and in ice. *Int J Food Sci Tech*. 1991; 26: 297–306.
- Abimorad EG, Strada WL, Schalch SHC, Garcia F, Castellani D, Manzatto MR. Fish silage in farm-made feed for Nile tilapia. *Pesqui Agropecu Bras*. 2009; 44(5):519–525.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th ed. Washington, DC; 1999.
- ANFAR, Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal - Métodos Analíticos*. São Paulo; 2009. 141–144.
- Arnold SH, Brown WD. Histamine toxicity from fish products. *Adv Food Res*. 1978;24:114–154.
- Bardocz S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends Food Sci Tech*. 1995;6:341–346.
- Beraquet NJ, Galacho SAA. Composição, estabilidade e alterações na fração proteica e no óleo de ensilado de resíduos de peixe de camarão. *ITAL*. 1983;13:149–174.
- Beerli EL, Beerli KMC, Logato, PVR. Acid silage of trout waste (*Oncorhynchus mykiss*), using muriatic acid. *Ciênc Agrotec*. 2004;28:195–198.
- Boelter JF, Pereira ACSC, Prado JPS, Capistrano Sobrinho D, Motta ALV, Cavalheiro JMO. Caracterização química e perfil aminoacídico da farinha de silagem de resíduos de sardinha. *Ver Biol Farm*. 2011;5(1):86–92.
- Borghesi R, Arruda LF, Oetterer M. A silagem de pescado na alimentação de organismos aquáticos. *Bol Cent Pesqui Process Aliment*. 2007;25(2):329–339.

Dapkevicius MLNE, Nout RMJ, Rombouts FM, Houben JH, Wymenga W. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *Int J Food Microbiol.* 2000; 57(1-2):107-114.

Dawood AA. The occurrence of non-volatile amines in chilled-stored rainbow trout (*Salmo irideus*). *Food Chem.* 1988;27:33–45.

Eerola HS, Roig Sagués AX, Hirvi TK. Biogenic amines in Finnish dry sausages. *J Food Safety.* 1998;18:127-138.

Fairgrieve WT, Myers MS, Hardy RW, Dong FM. Gastric abnormalities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amine supplemented diets or chicken gizzard erosion-positive fish meal. *Aquaculture.* 1994;127:219–232.

FAO (2001). FAO corporate document repository. Torry Advisory Note no. 64. I.N. Tatterson; M.L. Windsor. Fish silage.

FDA, Food and Drug Administration. Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guide. Office of Seafood, Washington, DC 1996. 244p.

Ferraz de Arruda L, Borghesi R, Brum A, D'Arce MR, Oetterer M. Nutritional aspects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) silage. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2006;26(4):749–753.

Ferraz de arruda L, Borghesi, R Oetterer, M. Use of fish waste as silage - A review. *Braz Arch Biol Techn.* 2007;50(5):879–886.

Gloria MBA.; Izquierdo-Pulido, M. Levels and significance of biogenic amines in Brazilian beers. *J Food Comp Anal.* 1999;12:129–136.

Gloria, MBA. Bioactive Amines. In: HUI, YH. Ed. *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*, volume 1. Taylor & Francis. Cap 13 p1-34. 2006.

Haard NF, Kariel N, Herzberg G, Feltham LAW, Winter K. Stabilization of protein and oil in fish silage for use as a ruminant feed supplement. *J Sci Food Agric.* 1985;36:229–241.

Hagen SR, Frost B, Augustin J. Precolum phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of aminoacids in food. *J AOAC Int.* 1989;2(6):912–916.

Hertrampf JW, Piedad-Pascual F. *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds.* Kluwer, Dordrecht. 2000; 574p.

Kompiang IP. Fish silage: its prospect and future in Indonesia. *Indones Agric Res Dev J.* 1981;3:9–12.

Laszlo, H., BASSO, LM, COELHO, CM de L. *Química de Alimentos: Alteração dos Compostos Orgânicos.* São Paulo. Nobel, 1986. 98p.

Middlebrooks BL, Toom PM, Douglas WL, Harrison RE, McDowell S. Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel. *J Food Sci.* 1988;53:1024–1029.

Mietz JL, Karmas E. Chemical quality index of canned tuna as determined by HPLC. *J Food Sci.* 1977;42:155–158.

MPA, Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura - Brasil 2010. Governo Federal. 2012.

NRC, National Research Council. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academy Press, Washington, DC. 2011.

Oetterer M. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. *Alim Nutr.* 1994;5:119–134.

Ogawa M, Maia, EL. Manual de Pesca. São Paulo: Varela. 1999. 332p.

Oliveira MM, Pimenta MESH, Camargo ACS, Fiorini JE, Pimenta CJ 2006. Silage of tilapia (*Oreochromis niloticus*) filetage residues with formic acid – Bromatological, phisico–chemical and microbiological analyses. *Ciênc Agrotec.* 2006;30(6):1218–1223.

Opstvedt J, Mundheim H, Nygard E, Aase H, Pike IH. Reduced growth and feed consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed fish meal made from tale fish is not due to increased content of biogenic amines. *Aquaculture.* 2000;188:323–337.

Price RJ, Melvin EF, Bell JW. Postmortem changes in chilled round, bled, and dressed albacore. *J Food Sci.* 1991;56:318–321.

Rodríguez-Jerez JJ, Lopez-Sabater EI, Hernandez-Herrero MM, Mora-Ventura MT. Histamine, putrescine and cadaverine formation in Spanish semipreserved anchovies as affected by time/temperature. *J Food Sci.* 1994;59(5):993–997.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, et al. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3rd ed. Viçosa:Minas Gerais; 2011.

Seibel, N.F.; Souza-Soares, L.A. 2003. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. *Braz J Food Technol.* 2003;6(2):333–337.

Tapia-Salazar M, Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Pikeb IH, Smith TK, Harris A, et al. Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* fed practical diets. *Aquaculture.* 2004; 242:437–453.

Tatterson IN, Windsor ML. Fish silage. *J Sci Food Agric.* 1974;25:369–379.

UNIVALI/CTTMar. Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina – Ano 2010. Universidade do Vale do Itajaí, Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Itajaí, SC. 2011;10(1):59p.

Vale SR, Glória MBA. Determination of biogenic amines in cheese. J AOAC Int. 1997;80:1006–1012.

Veciana-Nogués MT. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines and organoleptic changes. J Agric Food Chem. 1997;45:2036–2041.

Vidotti RM, Viegas EMM, Carneiro DJ. Amino acid composition of processed fish silage using different raw material. Anim Feed Sci Tech. 2003;105:199–204.

Weismann D, Scheid H, Pfeffer E. Water pollution with phosphorus of dietary origin by intensively fed rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture. 1988;69:263–270.

Wei CI, Chen CM, Koburger JA, Otwell WS, Marshall MR. Bacterial growth and histamine production on vacuum packaged tuna. J Food Sci. 1990;55(1):59–63.