

**Composição Química e
Qualidade Microbiológica de
Silagens Ácidas de Visceras de
Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.)
Preparadas com Diferentes
Proporções de Ácidos Fórmico
e Cítrico**



ISSN 1679-0456

Dezembro, 2015

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agropecuária Oeste
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 72

Composição Química e Qualidade Microbiológica de Silagens Ácidas de Vísceras de Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) Preparadas com Diferentes Proporções de Ácidos Fórmico e Cítrico

Hamilton Hisano
Ricardo Borghesi

Embrapa Agropecuária Oeste
Dourados, MS
2015

Embrapa Agropecuária Oeste

BR 163, km 253,6 – Trecho Dourados-Caarapó

79804-970 Dourados, MS

Caixa Postal 449

Fone: (67) 3416-9700

Fax: (67) 3416-9721

www.embrapa.br/

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Harley Nonato de Oliveira*

Secretária-Executiva: *Silvia Mara Belloni*

Membros: *Auro Akio Otsubo, Clarice Zanoni Fontes, Danilton Luiz Flumignan, Ivo de Sá Motta, Marciana Retore, Michely Tomazi, Oscar Fontão de Lima filho e Tarcila Souza de Castro Silva*

Membros suplentes: *Augusto César Pereira Goulart e Crébio José Ávila*

Supervisora editorial: *Eliete do Nascimento Ferreira*

Revisora de texto: *Eliete do Nascimento Ferreira*

Normalização bibliográfica: *Eli de Lourdes Vasconcelos*

Editoração eletrônica: *Eliete do Nascimento Ferreira*

Fotos da capa: *Hamilton Hisano*

1ª edição

On-line (2015)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei Nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agropecuária Oeste

Hisano, Hamilton

Composição química e qualidade microbiológica de silagens ácidas de vísceras de surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) preparadas com diferentes proporções de ácidos fórmico e cítrico / Hamilton Hisano, Ricardo Borghesi. – Dourados, MS : EmbrapaAgropecuária Oeste, 2015.

29 p. ; 16 cm. x 21 cm. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agropecuária Oeste, ISSN 1679-0456 ; 72)

1. Resíduo orgânico. 2. Ácido orgânico. 3. Impacto ambiental.
I. Borghesi, Ricardo. II. Embrapa Agropecuária Oeste. III. Título.
IV. Série.

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	12
Resultados e Discussão	14
Conclusões	23
Agradecimentos	23
Referências	25

Composição Química e Qualidade Microbiológica de Silagens Ácidas de Visceras de Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) Preparadas com Diferentes Proporções de Ácidos Fórmico e Cítrico

Hamilton Hisano¹
Ricardo Borghesi²

Resumo

Dependendo da espécie de peixe, as vísceras podem representar de 5% a 10% do seu peso total. Caso sejam descartadas de forma inadequada, podem gerar problemas de impacto ambiental. A bioconversão das vísceras na forma de silagem é uma estratégia de baixo custo e que pode agregar valor a este resíduo de difícil descarte, que posteriormente pode ser utilizado na alimentação animal. A presente pesquisa teve como objetivo elaborar a silagem ácida de vísceras de surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) com diferentes proporções de ácido fórmico e ácido cítrico e avaliar a composição química e a qualidade microbiológica dessas silagens. Para a confecção das silagens, ácido fórmico (AF) e ácido cítrico (AC) foram utilizados nas seguintes proporções: 1AF:0,75AC; 0,75AF:1AC; 1AF:1,25AC e 1,25AF:1AC, além do antioxidante (BHT) 0,02%. Após 30 dias, foi possível observar que as diferentes proporções dos ácidos promoveram a obtenção de material estável (pH abaixo de 4). Houve diferença ($P < 0,05$) entre as silagens para composição química. Os valores de proteína bruta, lipídeos e matéria mineral (base na matéria seca) variaram de 24,75% a 28,51%, 52,32% a 56,15% e 1,51% a 2%,

⁽¹⁾Zootecnista, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

⁽²⁾Zootecnista, doutor em Agronomia, pesquisador Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS.

respectivamente. O alto teor de lipídeo pode limitar a aplicação em rações para peixes. Quanto às análises microbiológicas, observou-se redução na contagem total de mesófilos aeróbios totais, aeróbios psicrotróficos, *Pseudomonas* spp. e *Staphylococcus* spp., principalmente, após o 15º e o 30º dias de preparo. Os resultados da pesquisa confirmaram que a silagem ácida de vísceras de surubim apresenta alto valor nutricional e que a utilização dos ácidos fórmico e cítrico nas proporções avaliadas garante sua qualidade microbiológica.

Palavras-chave: resíduo, ácidos orgânicos, impacto ambiental, coproduto.

Chemical Composition and Microbiological Quality of Sorubim (*Pseudoplatystoma* spp.) Viscera Acid Silages Prepared with Different Proportions of Formic Acid and Citric Acid

Abstract

*Depending on the fish species viscera can denote 5% to 10% of total weight. If discharged improperly can promote environmental problems. The bioconversion of viscera to silage is a low-cost strategy and can improve value to this residue of difficult disposal and after can be used in animal feeding. The present study aimed to prepare the acid silage of surubim viscera *Pseudoplatystoma* spp. with different proportions of formic acid and citric acid, and evaluate their chemical composition and microbiological quality. Formic acid (FA) and citric acid (CA) was used in the following proportions to prepare the silages: 1FA:0.75CA; 0.75 FA:1CA; 1 FA:1.25CA and 1.25 FA:1CA, plus antioxidant (BHT) 0.02%. After 30 days it was observed that the different proportions of acids promoted a stable material (pH below 4). There were differences ($P < 0.05$) among silages for chemical composition. The values of crude protein, lipids and mineral matter (dry matter basis) ranged from 24.75% to 28.51%, 52.32% to 56.15% and 1.51% to 2%, respectively. The high lipid content may limit the application in fish feed. As for microbiological analyzes, there was a reduction in the total count of total aerobic mesophilic, aerobic psychrotrophic, *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus* spp., especially after the 15th and 30th days of preparation. The results of this study confirmed that viscera silages showed high nutritional value and the use of*

formic and citric acids on evaluated quantities assure microbiological quality.

Index terms: residue, organic acids, environmental impact, by-product.

Introdução

De acordo com o Anuário Estatístico da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) de 2013, a aquicultura é o setor de produção de alimentos de origem animal que apresenta a maior taxa de crescimento (FAO..., 2013). Estatísticas publicadas pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), em 2013, estimam que a produção nacional de pescado pela aquicultura, em 2011, foi de 628.704,3 t, e para o Estado do Mato Grosso do Sul a produção, no mesmo ano, foi de 12.453,8 t (BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E AQUICULTURA, 2011).

Com base nos dados estatísticos acima apresentados e considerando que as vísceras representam de 5% a 10% do peso total do pescado, a produção de resíduos desse material no Estado de Mato Grosso do Sul pode alcançar, aproximadamente, 1.250 t por ano, e se descartado de forma inapropriada pode ocasionar severo impacto ambiental.

Com o incremento do nível tecnológico das indústrias de beneficiamento de pescado, que permite maior aproveitamento da matéria-prima, o uso de equipamentos para o processamento da carne mecanicamente separada (CMS) tem se intensificado; assim, as vísceras tornam-se o principal resíduo com potencial de aplicação para alimentação animal (HISANO et al., 2012). Dessa forma, o desenvolvimento de tecnologias que visem ao aproveitamento dos resíduos da cadeia produtiva do pescado é imprescindível, uma vez que este material apresenta grande potencial de energia para recuperação e considerável valor nutricional pela presença de alta quantidade de proteína, aminoácidos livres, pigmentos, vitaminas, minerais, flavorizantes e ácidos graxos essenciais (BORGHESI et al., 2013).

Uma alternativa viável para o resíduo sólido das indústrias beneficiadoras é a sua transformação em silagem de pescado, que é uma técnica de preservação da matéria orgânica prática, simples e de baixo custo e que pode ser aplicada em diversas escalas de produção. Porém, para que

esse material esteja disponível para ser utilizado como matéria-prima em outros processos, existe a necessidade da coleta seletiva nas diferentes etapas da produção e seu correto armazenamento, pois sua disposição e armazenamento inadequados limitam a possibilidade de elaboração de coprodutos (BORGHESI et al., 2013).

A bioconversão do resíduo na forma de silagem e a sua utilização como ingrediente proteico em rações para aquicultura e outras espécies de interesse comercial podem agregar valor ao material residual e proporcionar vantagens econômicas para as indústrias processadoras de pescado e de ração e minimizar o impacto ambiental. Além disso, contribuirá com a sustentabilidade da aquicultura, uma vez que diminuirá a pressão de captura de espécies sobre-explotadas, normalmente utilizadas para a fabricação de farinha e óleo de peixe, ou seja, ingredientes utilizados na alimentação animal. Nesse sentido, a silagem de pescado apresenta-se como sucedâneo proteico à farinha de peixe pelo conteúdo de proteína de qualidade, alta digestibilidade e baixo custo (FAGBENRO; JAUNCEY, 1995; HERAS et al., 1994).

Para preservação da silagem de pescado é necessário reduzir o pH com a adição de soluções ácidas. No caso das silagens ácidas, a escolha do acidificante é muito importante, e devem ser considerados os riscos para o meio ambiente e para a saúde humana, além dos custos e da acessibilidade, já que alguns dos ácidos utilizados no processo da ensilagem são controlados pela Polícia Federal (SUCASAS, 2011). Dentre os ácidos mais utilizados, destacam-se o ácido fórmico e o ácido propiônico, que garantem produto estável e livre de microrganismos patogênicos (MORALES-ULLOA; OETTERER, 1995).

No entanto, o ácido propiônico apresenta custo elevado, quando comparado a outros ácidos que também podem ser utilizados para produção de silagem. A substituição do propiônico pelo cítrico para produção de silagens de resíduo de pescado pode diminuir significativamente o seu custo de produção, uma vez que o preço do ácido cítrico equivale à metade do valor do ácido fórmico e quase 17 vezes

menor do que o propiônico (HISANO et al., 2012). Gao e Liao (1992) utilizaram diferentes proporções de ácido fórmico e ácido cítrico em silagens de descartes de salmão, e concluíram que a mistura desses ácidos em diferentes proporções resultou em silagem de boa qualidade. Também relataram que o aumento da proporção de ácido cítrico reduziu o custo do produto, assim como o seu período de preservação. O cálculo dos custos de produção da silagem ácida de vísceras de surubim, elaborada com ácido fórmico e ácido cítrico, considerando o preço dos ácidos, mão de obra, energia elétrica e depreciação dos equipamentos, foi de R\$ 0,38 kg⁻¹, o que torna o produto com preço acessível (HISANO; BORGHESI, 2011).

Além disso, a qualidade microbiológica da silagem é de fundamental importância para sua preservação e posterior utilização em rações para animais. Nesse sentido, Oliveira et al. (2006), ao utilizarem 3% de ácido fórmico para elaboração da silagem de filetagem de tilápia-do-nylo, observaram que o pH no 1º, 15º e 30º dia, foi de 3,63; 3,96 e 4,25, respectivamente, inibindo o crescimento de coliformes totais e fecais, além de fungos e leveduras. Os autores concluíram que a silagem ácida de resíduo da filetagem de tilápia mostrou-se viável como alimento não convencional para a alimentação animal. Por sua vez, Boscolo et al. (2010) utilizaram 5% de ácido acético para a confecção de silagem, a partir de resíduos de filetagem de tilápia-do-nylo, e concluíram que em período prorrogando de armazenamento (201 dias) esta concentração e tipo de ácido são suficientes para controlar a proliferação de salmonela e coliformes totais fecais.

O presente trabalho teve como objetivo analisar a composição química e a qualidade microbiológica de silagens ácidas de resíduos do processamento de surubim *Pseudoplatystoma* spp. elaboradas com diferentes proporções de ácido fórmico e ácido cítrico.

Material e Métodos

Produção das silagens

Os resíduos, compostos por vísceras de surubim *Pseudoplatystoma* spp., provenientes de frigorífico com inspeção federal (Mar & Terra, Itaporã, MS), foram transportados até o Laboratório de Piscicultura da Embrapa Agropecuária Oeste e mantido sob refrigeração (5 °C). Esses resíduos foram triturados em moedor de carne até obtenção de uma massa homogênea. Posteriormente, este material foi pesado e separado em 12 recipientes plásticos (10 L) com 800 g de amostra cada, nos quais foram adicionadas as diferentes proporções (volume/peso) de ácido fórmico 85% (AF) e ácido cítrico 99,5% (AC): 1AF:0,75AC; 0,75AF:1AC; 1AF:1,25AC e 1,25AF:1AC, além de antioxidante BHT 0,02% (HISANO et al., 2012). A mistura (material residual + solução ácida) foi homogeneizada com auxílio de espátula, totalizando quatro tratamentos e três repetições. Os recipientes com as diferentes silagens foram mantidos em temperatura ambiente, fechados com tampa plástica e a mistura foi revolvida a cada dois dias, até completar 30 dias.

pH e análise química das silagens

Para avaliação da estabilidade da silagem foram mensurados o pH, ajustado em torno de 4,0. As silagens experimentais foram mantidas em temperatura ambiente, que foi aferida diariamente ($24,4 \pm 1,5$). As medidas do pH das silagens foram monitoradas por meio de potenciômetro digital. Foram analisados a umidade (U), a proteína bruta (PB), o extrato etéreo (EE) e a matéria mineral (MM) no Laboratório de Solos da Embrapa Agropecuária Oeste, segundo metodologia (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2000). As análises foram efetuadas em triplicatas.

Análise microbiológica das silagens

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Engenharia da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados, MS, com o objetivo de quantificar a presença de mesófilos aeróbios totais, psicrotróficos, *Staphylococcus* spp. e *Pseudomonas* spp., que foram expressos em Unidades Formadoras de

Colônia (UFC/g). Essas análises foram determinadas no tempo zero (matéria original), 5, 15 e 30 dias após a adição das diferentes proporções de ácidos, em triplicatas.

As análises microbiológicas das silagens ácidas foram efetuadas a partir da adição de 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v) estéril a 25 g de silagem, sendo homogeneizadas por 60 segundos e diluídas em água peptonada 0,1% (p/v) estéril de 10^1 , 10^2 e 10^3 e plaqueadas, respectivamente.

Para contagem total de aeróbios mesófilos foi transferido 1 mL de sucessivas diluições nas placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar padrão para contagem (PCA), a aproximadamente 45 °C, com suave agitação para homogeneizar a amostra e o ágar. As placas permaneceram incubadas invertidas na condição de 35 °C por 48 horas. Selecionaram-se placas com contagens entre 25 e 250 colônias a fim de se calcular o número de aeróbios mesófilos.

Para contagem total de aeróbios psicotróficos foi espalhado com alça de Drigalsky, 0,1 mL de cada diluição apropriada, em placas de Petri contendo PCA. Em seguida procedeu-se a incubação das placas a 20 °C por 72 horas. Para o cálculo do número de aeróbios psicotróficos foram selecionadas placas com contagens entre 25 e 250 colônias.

Os *Staphylococcus* spp. foram analisados de acordo com a metodologia proposta por Brasil (2003), em placas de Petri com meio *Baird-Parker Agar* (BPA) adicionado de telurito de potássio e gema de ovo. Na superfície das placas foi adicionado 1 mL das diluições selecionadas e esparramadas com alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas.

Para *Pseudomonas* spp. foram semeados 0,1 mL de cada diluição selecionadas em placas de Petri contendo meio *Pseudomonas Isolation Agar* (PIA) adicionado de glicerol e incubados a 25 °C por 48 horas (SILVA et al., 2010).

Análise estatística

Os dados da composição química foram submetidos à análise de variância, e quando significativo foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey a 5% e os das análises microbiológicas foram analisados de forma descritiva.

Resultados e Discussão

pH das silagens

As diferentes proporções de ácido fórmico (AF) 85% e ácido cítrico (AC) 99,5%: 1AF:0,75AC; 0,75AF:1AC; 1AF:1,25AC e 1,25AF:1AC foram adequadas para estabilidade e preservação de silagem ácida de vísceras de surubim, durante os 30 dias, sendo que os menores níveis foram suficientes para manter o pH abaixo de 4,0–4,5 (Figura 1). O pH abaixo de 4,0–4,5 pode ser considerado ideal para o favorecimento da atividade de algumas enzimas, além de impedir a proliferação de microrganismos patogênicos e deteriorantes das silagens de pescado (FAGBENRO; BELLO-OLUJOSI, 1997; SEIBEL; SOARES, 2003).

Os resultados do presente estudo nos diferentes períodos estão de acordo com os obtidos por Fagbenro e Fasakin (1996), que produziram silagem ácida de vísceras de aves produzidas com 4,5% de ácido cítrico e 0,5% de ácido fórmico, e constataram que após 30 dias o ensilado manteve pH próximo a 4. Resultados semelhantes foram constatados por Oliveira et al. (2006), ao avaliarem a silagem de resíduos de filetagem de tilápia produzida com 3% de ácido fórmico, e relataram temperatura média de 21,5 °C e pH de 3,95 durante o período de ensilagem de 30 dias. Hisano et al. (2012), utilizando as mesmas proporções e quantidades de AF e AC para elaboração de silagem de vísceras *Pseudoplatystoma* spp., determinaram após 30 dias valores de pH médio de 3,72; 3,65; 3,60 e 3,50 para os tratamentos 1:0,75, 0,75:1; 1:1,25 e 1,25:1 de AF:AC, respectivamente, estando próximos aos resultados obtidos no presente estudo.

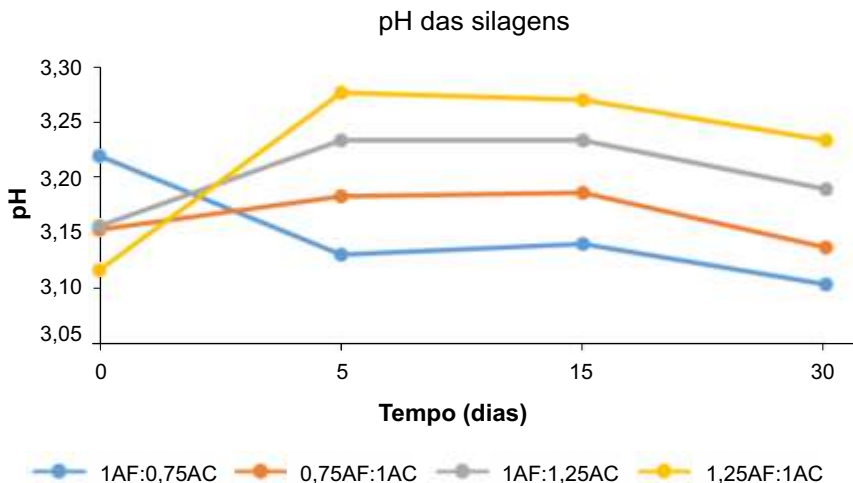


Figura 1. Variação do pH das silagens das silagens ácidas no ato do preparo e com 5, 15 e 30 dias após o preparo.

Nota: AF (ácido fórmico), AC (ácido cítrico).

Comercialmente na alimentação de aves, suínos e peixes, os ácidos orgânicos têm sido utilizados, com o objetivo de reduzir o pH estomacal e o número de bactérias patogênicas, além de melhorar a digestibilidade de alguns nutrientes e a atividade de enzimática (IZAD et al., 1990; VIELMA; LALL, 2006). Isso poderia ampliar os benefícios do uso da silagem de resíduos de pescado preparada com ácidos orgânicos (HISANO; BORGHESI, 2011).

Análise química das silagens

O conhecimento da composição química de um alimento é um dos primeiros passos no processo de avaliação do seu potencial para aplicação na alimentação animal (GLENCROSS et al., 2007). A análise da composição química das silagens demonstrou que este ingrediente apresenta potencial de aplicação na alimentação de peixes (Tabela 1). Houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos para U, PB, EE e MM, que no geral indicam alto teor proteico e de lipídeos, sendo que este último pode limitar a utilização de vísceras em rações.

Tabela 1. Composição química da silagem de vísceras de surubim (base na matéria seca)⁽¹⁾.

Tratamento	U (%)	PB (%)	EE (%)	MM (%)
1AF:0,75 AC	52,30 ^c ± 0,90	25,59 ^b ± 1,16	54,56 ^{ab} ± 0,24	1,57 ^{ab} ± 0,06
0,75AF:1 AC	59,03 ^b ± 0,91	28,51 ^a ± 0,10	52,32 ^b ± 0,74	1,51 ^b ± 0,25
1AF:1,25 AC	66,88 ^a ± 1,17	24,75 ^b ± 0,80	56,15 ^a ± 0,30	1,97 ^a ± 0,21
1,25AF:1 AC	67,71 ^a ± 0,96	27,71 ^a ± 0,29	54,86 ^{ab} ± 2,75	2,00 ^a ± 0,06

⁽¹⁾Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Nota: AF (ácido fórmico), AC (ácido cítrico), umidade (U), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM).

Os resultados da composição química das silagens mostraram altos teores de umidade e lipídeo (Tabela 1). De maneira geral, as diferenças nos parâmetros de composição química analisados, principalmente umidade, podem ter variado pelas diferenças das proporções e quantidades dos ácidos adicionados. Tal fato também pode ter sido influenciado na velocidade de hidrólise e, conseqüentemente, na liquefação do material. As vísceras correspondem ao principal local de deposição de gordura nos peixes (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994), fato que certamente influenciou na composição final dos ensilados obtidos. Em trabalho pioneiro com silagem de vísceras de bacalhau, Strom e Eggum (1981) ressaltaram essas características deste subproduto e sugerem a retirada de gordura para o preparo da silagem.

Os valores para proteína bruta encontrados para as silagens de vísceras de surubim no presente experimento foram equivalentes aos valores determinados por Hisano et al. (2012) para silagem com o mesmo subproduto e ácidos orgânicos (25,7%), e inferiores àqueles relatados para a silagem ácida de resíduos de tilápia (54,4%) por Borghesi (2004) e para a silagem ácida de vísceras de bacalhau (40,78%) obtidos por Strom e Eggum (1981). Por outro lado, foram superiores aos encontrados por Borghesi et al. (2013) e Lima et al. (2014) para silagens ácidas elaboradas

com vísceras de pirarucu (17,3%) e tambaqui (10,7%), respectivamente, reforçando a influência da matéria-prima utilizada para a elaboração das silagens na composição final do produto.

Altos valores para EE também foram determinados por Borghesi et al. (2013), Hisano et al. (2012), Lima et al. (2014) e Strom e Eggum (1981), os quais determinaram valores superiores de silagens ácidas produzidas com vísceras de tambaqui (77,3%), surubim (42,4%), pirarucu (68,9%) e bacalhau (53,28%), respectivamente. Borghesi (2004) observou valores de lipídeos (12,4%) em silagens ácidas elaboradas com resíduos de descarte de tilápias muito inferiores aos que foram identificados neste estudo (Tabela 1). Essas variações da composição final da silagem estão em sua maior parte relacionadas com o tipo de matéria-prima empregada, particularmente quanto ao teor de lipídeos, que é variável com a estação da captura, espécie, tipo de resíduo utilizado (vísceras) e sexo (BROWN; SUMMER, 1985; HAARD et al., 1985).

Os altos teores de lipídeos em coprodutos de pescado necessitam de cuidados especiais durante o armazenamento prolongado, uma vez que a oxidação lipídica pode interferir na qualidade desses ingredientes (LIMA et al., 2014). Dessa forma, o uso de antioxidantes é essencial para garantir a qualidade de silagens com alto teor lipídico.

Em relação aos baixos teores de matéria mineral analisados da silagem de vísceras do presente estudo, esta se difere das confeccionadas com outros resíduos por não apresentarem componentes sólidos e com alto conteúdo em minerais como escamas, cabeças, espinhas e nadadeiras (BORGHESI et al., 2013; LIMA et al., 2014)

Análise microbiológica das silagens

Os grupos de microrganismos avaliados neste trabalho são comumente utilizados como indicadores de qualidade de alimento para consumo humano. A contagem padrão de bactérias mesófilas detecta o número de bactérias aeróbias e/ou facultativa e mesófila e indica se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante o processo de tratamento

industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada (SILVA JÚNIOR, 1995). A contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos indica o grau de deterioração de alimentos refrigerados ou daqueles submetidos a tratamento térmico, assim como *Pseudomonas* spp. (FRANCO, 2003). Já *Staphylococcus* spp. são possíveis causadores de danos à saúde e de intoxicações alimentares (PORTO et al., 2000).

O resultado das contagens de unidades formadoras de colônia (UFC/g) de mesófilos aeróbios totais, psicrotróficos, *Staphylococcus* spp. e *Pseudomonas* spp. podem ser observados nas Figuras de 2 a 5. Na análise realizada no ato do preparo das silagens ácidas, verificou-se a contagem máxima em mesófilos aeróbios totais ($1,28 \times 10^2$ UFC/g) e *Staphylococcus* spp. ($1,22 \times 10^2$ UFC/g) no tratamento 1AF:0,75AC. Para psicrotróficos e *Pseudomonas* spp., a contagem máxima foi verificada no tratamento 1AF:1,25AC ($2,67 \times 10$ UFC/g) e tratamento 1,25AF:1AC ($1,11$ UFC/g), respectivamente.

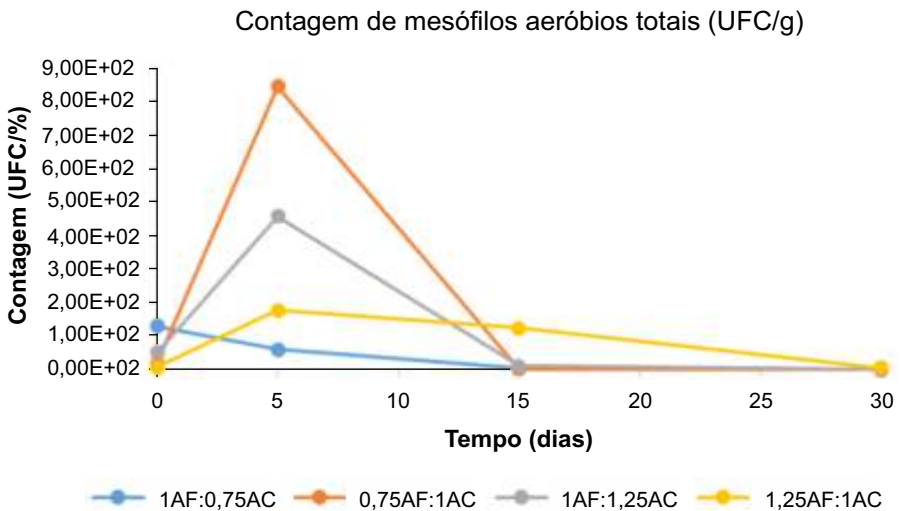


Figura 2. Contagem de mesófilos aeróbios totais (UFC/g) em meio PCA (ágar padrão para contagem) das silagens ácidas no ato do preparo e com 5, 15 e 30 dias após o preparo.

Nota: AF (ácido fórmico), AC (ácido cítrico).

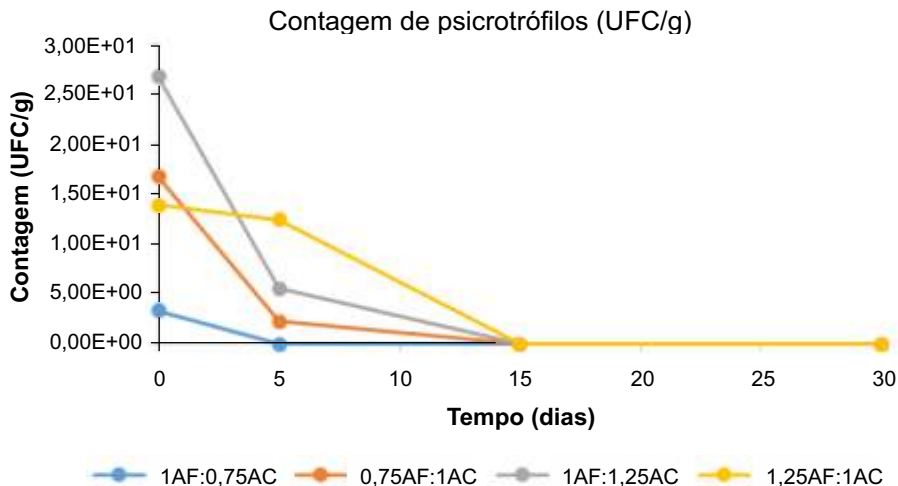


Figura 3. Contagem de psicrotrófilos (UFC/g) em meio PCA (âgar padrão para contagem) das silagens ácidas no ato do preparo e com 5, 15 e 30 dias após o preparo.

Nota: AF (ácido fórmico), AC (ácido cítrico).

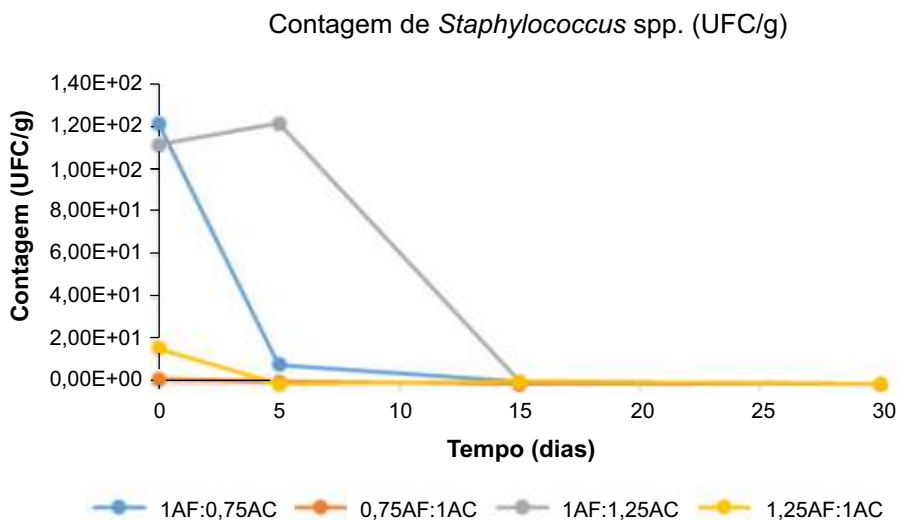


Figura 4. Contagem de *Staphylococcus* spp. (UFC/g) em meio Baird-Parker Agar (BPA) das silagens ácidas no ato do preparo e com 5, 15 e 30 dias após o preparo.

Nota: AF (ácido fórmico), AC (ácido cítrico).

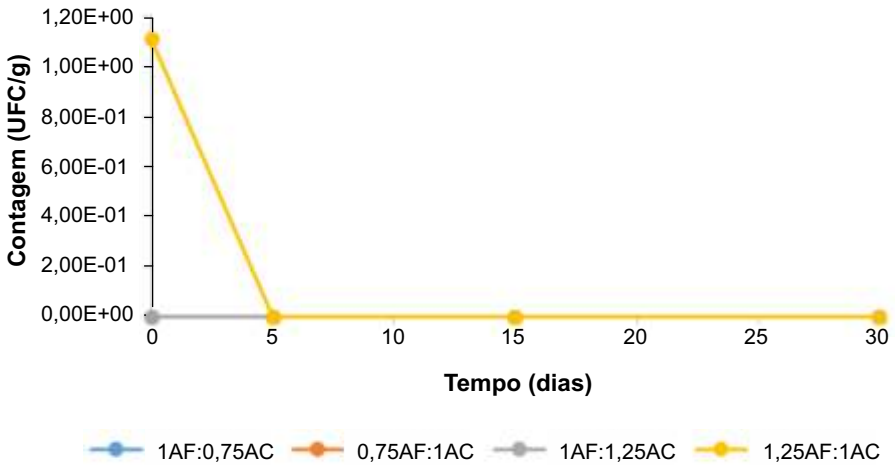
Contagem de *Pseudomonas* spp. (UFC/g)

Figura 5. Contagem de *Pseudomonas* spp. (UFC/g) em meio *Pseudomonas Isolation Agar* (PIA) das silagens ácidas no ato do preparo e com 5, 15 e 30 dias após o preparo.

Nota: AF (ácido fórmico), AC (ácido cítrico).

Observa-se que para *Pseudomonas* spp. a contagem ($1,11 \times 10^2$ UFC/g) em meio PIA foi baixa desde o início do preparo.

Após cinco dias do preparo das silagens ácidas uma nova análise microbiológica foi realizada para o acompanhamento da contagem de UFC/g, a fim de verificar a eficiência da combinação dos ácidos para redução da carga microbiana. Foi observado um gradativo aumento nas UFC/g em mesófilos aeróbios totais no tratamento 0,75AF:1AC ($8,44 \times 10^2$ UFC/g), que pode ter sido provocado por problemas na homogeneização.

Nas contagens de psicrotórficos foi observada redução das UFC/g no tratamento 1,25AF:1AC ($1,24 \times 10^2$ UFC/g), quando comparadas à mesma análise realizada no tempo inicial (zero). Isso indica a eficiência do ácido ao longo do período do processamento da silagem, que gradativamente reduziu a carga microbiana.

Já para *Staphylococcus* spp. também foi observada redução nas contagens, principalmente no tratamento 1. Verificou-se que a partir do quinto dia do preparo da silagem ácida, *Pseudomonas* spp. não foi mais encontrada.

Após 15 dias do preparo da silagem foi constatada redução em todos os microrganismos avaliados, com exceção dos mesófilos aeróbios totais no tratamento 1,25AF:1AC, que aumentou pontualmente. Neste tratamento foi encontrado o valor de $1,23 \times 10^2$ UFC/g.

Ao completar 15 dias de preservação, verificou-se ausência de psicrótróficos em todos os tratamentos. Entretanto, a presença de *Staphylococcus* spp. ainda foi constatada, porém em menor contagem de UFC/g, quando comparada com o tempo inicial e de 5 dias. Foi encontrado $1,11 \times 10$ UFC/g de *Staphylococcus* spp. nos tratamentos 1AF:0,75AC, 1AF:1,25AC e 1,25AF:1AC.

Ao término do período proposto para preservação da silagem ácida (30 dias), foi realizada a última análise microbiológica. Nesta, somente foi constatada a presença de mesófilos aeróbios totais, porém em baixa contagem de UFC/g, quando comparada com os demais períodos. Com 30 dias não foi mais constatada a presença de *Staphylococcus* spp.

Poucos estudos com a produção de silagem avaliaram a qualidade microbiológica, cujos parâmetros e indicadores de qualidade variam conforme a natureza da matéria-prima. No presente estudo, foram realizadas análises microbiológicas consideradas como referência de qualidade para a alimentação humana, o que aumenta o rigor sobre a qualidade do produto. Tais análises revelaram a importância da adição das diferentes proporções de ácido fórmico e ácido cítrico para preservação da silagem, ao reduzir a carga microbiana, principalmente após 15 e 30 dias de preparo e, assim, garantir a qualidade microbiológica da silagem de vísceras.

Alwan et al. (1993) confeccionaram silagem de resíduos de peixes marinhos utilizando 3,5% de ácido fórmico, que resultou em pH próximo de 3,5 e que reduziu efetivamente a contagem total de bactérias e de coliformes totais no final do período de preservação (21 dias). Os autores, ressaltam que o resultado efetivo da preservação do produto residual pode ser atribuído ao baixo pH e à conhecida atividade antimicrobiana do ácido fórmico.

Em estudo com a produção de silagem ácida de resíduos da filetagem da tilápia-do-nylo utilizando 3% de ácido fórmico, Oliveira et al. (2006) observaram crescimento no primeiro dia na contagem de bactérias mesófilas e de coliformes totais (35 °C), $1,2 \times 10^5$ UFC/ g e $2,4 \times 10^2$ UFC/g, respectivamente. Porém, após 15 e 30 dias, esses microrganismos foram considerados ausentes. No presente estudo, a contagem total de bactérias mesófilas ($1,28 \times 10^2$ UFC/g) no tempo inicial foi inferior ao descrito por Oliveira et al. (2006).

Boscolo et al. (2010) avaliaram a contagem total de salmonela, coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em silagem de resíduos da filetagem de tilápia-do-nylo produzidas com 5% de ácido acético e concluíram que as análises para estes microrganismos foram ausentes para salmonela e menor 0,3 UFC/g para as demais, após 7, 91 e 201 dias.

Apesar dos trabalhos acima citados apresentarem composição de resíduos e diferentes proporções e tipos de ácidos, torna-se evidente que o controle de pH abaixo de 4,0–4,5 é essencial para a qualidade microbiológica, evitando o crescimento de bactérias deteriorantes e que podem ocasionar algum dano à saúde e intoxicações alimentares.

Conclusões

A utilização dos ácidos fórmico e cítrico em todas as proporções avaliadas reduziu o pH da silagem de vísceras logo após a adição dos ácidos, além de proporcionar pH estável e abaixo de 4,0. A contagem total de mesófilos aeróbios totais, aeróbios psicrotróficos, *Pseudomonas* spp. e *Staphylococcus* spp reduziu durante o tempo, principalmente, após 15 e 30 dias de preparo. As análises químicas demonstraram o alto conteúdo em proteína, assim como alto teor de lipídeo, que pode limitar a aplicação em rações para peixes. Recomenda-se o uso da proporção de 0,75 de ácido fórmico e 1,0 de ácido cítrico para o preparo de silagens de vísceras de surubim para adequada preservação, qualidade nutricional e microbiológica, além de menor custo.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo suporte financeiro; ao frigorífico Mar & Terra, pela doação das vísceras de surubim, e ao doutor Gustavo Graciano Fonseca e ao discente Roberto Araújo Bezerra, da Universidade Federal da Grande Dourados, pelo auxílio nas análises microbiológicas.

Referências

ALWAN, S. R.; BUCKLEY, D. J.; O'CONNOR, T. P. Silage from fish waste: chemical and microbiological aspects. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 32, n. 1, p. 75-81, June 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17th ed. Washington, DC, 2000. 1141 p.

BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E AQUICULTURA 2011. Brasília, DF: Ministério da Pesca e Aquicultura, [2011]. 60 p. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/files/docs/Boletim_MPA_2011_pub.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2015.

BORGHESI, R. **Avaliação físico-química, nutricional e biológica das silagens ácida, biológica e enzimática elaboradas com descarte e resíduo do beneficiamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2004. 96 p. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BORGHESI, R.; LIMA, L. K. F. de; SUCASAS, L. F. de A.; MARTO, V. C. de O.; OETTERER, M. **Elaboração de silagens ácida e ácida co-seca de vísceras de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2013. 6 p. (Embrapa Pantanal. Circular técnica, 106). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT106.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

BOSCOLO, W. R.; SANTOS, A. M.; MARTINS, C. V. B.; FEIDEN, A.; BITTENCOURT, F.; SIGNOR, A. A. Avaliação microbiológica e bromatológica da silagem ácida obtida de resíduos da indústria de filetagem de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina**: ciências agrárias, v. 31, n. 2, p. 515-522, abr./jun. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 18 set. 2003. Seção I, p.21-32; 40-43; 51-67.

BROWN, N.; SUMMER, J. Fish silage. In: REILLY, A. (Ed.). **Spoilage of tropical fish and products development**: proceedings of a symposium. Rome: FAO, 1985. p. 404-413. (Fisheries report, 317).

CONTRERAS-GUZMÁN, E. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409 p.

FAGBENRO, O.; BELLO-OLUSOJI, O. A. Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage. **Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 489-493, Dec. 1997.

FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K. Water stability, nutrient leaching and nutritional properties of moist fermented fish silage diets. **Aquacultural Engineering**, v. 14, n. 2, p. 143-153, 1995.

FAGBENRO, O. A.; FASAKIN, E. A. Citric acid ensiled poultry viscera as protein supplement for catfish (*Clarias gariepinus*). **Bioresource Technology**, v. 58, n. 1, p. 13-16, Oct. 1996.

FAO STATISTICAL YEARBOOK 2013: world food and agriculture. Rome, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e.PDF>>. Acesso em: 15 jun. 2015.

FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

GAO, K. V. L. Y.; LIAO, P. H. Utilization of salmon farm mortalities: fish silage. **Bioresource Technology**, v. 41, n. 2, p. 123-127, 1992.

GLENCROSS, B. D.; BOOTH, M.; ALLAN, G. L. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 17–34, Feb. 2007.

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

HERAS, H.; HCLEOD, C. A.; ACKMAN, R. G. Atlantic dogfish silage vs. herring silage in diets for Atlantic salmon (*Salmon salar*): growth and sensory evaluation of fillets. **Aquaculture**, v. 125, n. 1/2, p. 93-103, Aug. 1994.

HISANO, H.; BORGHESI, R. **Elaboração de silagem ácida de vísceras de surubim (*Pseudoplatystoma* sp.)**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 4 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular técnica, 18).

HISANO, H.; ISHIKAWA, M. M.; PORTZ, L. Produção de silagem ácida a partir de vísceras de surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) e avaliação da digestibilidade para tilápia-do-nylo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 872-879, 2012.

IZAD, A. L.; TIDWELL, N. M.; THOMAS, R. A.; REIBER, M. A.; ADAMS, M. H.; COLBERG, M.; WALDROUP, P. W. Effect of buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chicken and on microflora of the intestine and carcass. **Poultry Science**, v. 69, n. 5, p. 818-826, May 1990.

LIMA, L. K. F. de; BORGHESI, R.; SUCASAS, L. F. de A.; MARTO, V. C. de O.; BARROS, T. L. de; PONSANO, E. H. G.; OETTERER, M. **Elaboração e composição química das silagens ácida e ácida co-seca de vísceras de pirarucu (*Arapaima gigas*)**. Corumbá: Embrapa Pantanal; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2014. 6 p. (Embrapa Pantanal. Circular técnica, 109; Embrapa Agropecuária Oeste, Circular técnica 32). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT109.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

MORALES-ULLOA, D. F.; OETTERER, M. Bioconversão de resíduos da indústria pesqueira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 3, p. 206-214, 1995.

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

PORTO, A. C. S.; TORRES, R. C. O.; ILHA, E. C.; LUIZ, M. T. B.; SANT'ANNA, E. S. Influência da composição da salmoura sobre os parâmetros físico sensoriais e microbiológicos de filés de peito de frango marinados por imersão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 141-150, jul./dez. 2000.

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

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 1995. 394 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. 624 p.

STROM, T.; EGGUM, B. O. Nutritional value of fish viscera silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 32, n. 2, p. 115-20, Feb. 1981.

SUCASAS, L. F. A. **Avaliação do resíduo do processamento de pescado para o desenvolvimento de coprodutos visando o incremento da sustentabilidade na cadeia produtiva**. 2011. 164 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

VIELMA, J.; LALL, S. P. Dietary formic acid enhances apparent digestibility of minerals in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 265-268, Dec. 2006.



Agropecuária Oeste

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**



CGPE 12866