

## PREPARAÇÃO DE ENSILADO BIOLÓGICO DE ARUANÃ (*OSTEOGLOSSUM BICIRRHOSUM* VANELLI, 1899, *OSTEOGLOSSIDAE*) POR FERMENTAÇÃO MICROBIANA

### PREPARATION OF BIOLOGICAL SILAGE OF ARUANÃ (*OSTEOGLOSSUM BICIRRHOSUM* VANELLI, 1899, *OSTEOGLOSSIDAE*) BY MICROBIAL FERMENTATION

BALBI TRISTÃO<sup>1</sup>, Maria Eugenia; LESSI<sup>2</sup>, Edson; YONEKURA<sup>3</sup>, Lina

<sup>1</sup> Professora de Bromatologia, do Curso de Farmácia da UFPR

<sup>2</sup> Pesquisador do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

<sup>3</sup> Pesquisadora Pesquisadora (FAPESP) no Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo

#### **Resumo:**

Para elaboração de uma fonte semi-convencional de proteínas de peixes pouco comercializáveis, foram utilizados filés de Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, *Osteoglossidae*) adquiridos recém capturados no porto do Educandos (Manaus, Amazonas) e transportados para o laboratório de Tecnologia de Alimentos do INPA onde foram triturados e homogeneizados, adicionados de 5% de uma mistura de microrganismos lácticos (*Streptococcus lactis*, CCT 2739 e *Lactobacillus plantarum*, CCT2568) para preparação de ensilados biológicos. Foram obtidas duas preparações de ensilados, uma sem fruta (Ensilado 1) e outra com fruta (Ensilado 2). Os preparados foram submetidos a hidrólise em temperatura ambiente em sacos plásticos lacrados por seis dias. A composição do músculo de Aruanã com 0,21% de lipídeos e 15,86% de proteínas, prestou-se para a elaboração de ensilados.

**Palavras chaves:** Ensilado, ensilado biológico, hidrolisado biológico

#### **Abstract:**

For preparation of a semi-conventional source of protein low marketable fish fillets were used Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum*, Vandelli, 1899, *Osteoglossidae*) recently captured at the port of Educandos (Manaus, Amazonas) and transported to the laboratory of Technology food INPA . They were then crushed and homogenized, plus 5% of a mixture of microorganisms lactic bacteria (*Streptococcus lactis*, CCT 2739 and *Lactobacillus plantarum*, CCT2568) for the preparation of biological silage. Two preparations were obtained, a silage without fruit (ensiled 1) and the other with fruit (ensiled 2). The preparations were subjected to hydrolysis at room temperature in sealed plastic bags for six days. The composition of Aruanã muscle with 0.21% fat and

15.86% protein, lent itself to the preparation of silage.

**Key words:** silage, biologic silage, hidrolized fish

## 1. INTRODUÇÃO

Entre as fontes semi-convencionais de proteínas estudadas para a produção de alimentos, encontram-se os produtos derivados de peixes, como a farinha, o concentrado protéico e o ensilado de peixe.

Ensilado de peixe pode ser definido como um produto de alto teor de umidade, obtido através da hidrólise de proteínas do músculo e/ou resíduos de peixe, preservados em condições ácidas (XIMENES, 1991).

Os ensilados de peixe tem sido utilizados para a alimentação de animais domésticos, como aves, porcos (VILLELA DE ANDRADE *et al*, 1992) e peixes (OTATI *et al*, 1990). O processo de obtenção apresenta vantagens, quando comparado com a produção de farinha e concentrado protéico de peixe, tais como : menor investimento e custos de produção (25); o ensilado não deteriora, retendo um odor fresco, mesmo após estocagem por semanas a temperaturas tropicais (LAPIE E BIGUERAS-BENITEZ, 1992); a escala de produção do ensilado de peixe pode variar sem que os custos sofram grande alteração (LAPIE E BIGUERAS-BENITEZ, 1992); a produção não requer equipamentos sofisticados nem pessoal especializado e o consumo de energia é mínimo (WINDSOR E BARLOW, 1984); a liberação de odores é bem reduzida na produção de ensilado (WINDSOR E BARLOW, 1984); o ensilado de peixe é praticamente isento de microrganismos patógenos, como Salmonelas, devido às condições de pH (LAPIE E BIGUERAS-BENITEZ, 1992).

Existem duas maneiras básicas de preparação de ensilados: pela adição de ácidos inorgânicos e /ou orgânicos, como clorídrico, propiônico – chamados de ensilados ácidos e pela utilização de microrganismos produtores de ácido lático, com uma fonte de carboidratos, obtendo assim o ensilado biológico (ARTHUR, 1991).

O emprego de métodos biológicos no processamento de recursos pesqueiros constitui a base para a obtenção de concentrados, hidrolisados protéicos, massas protéicas, ensilados e outros produtos destinados à alimentação humana ou animal (RODRIGUEZ E BELLO, 1990).

Para a obtenção de ensilados biológicos é importante a microflora presente no peixe a atividade proteolítica das enzimas de certas espécies, a presença de enzimas viscerais ou vegetais, a presença de glicídios, o grau de putrefação atingido antes da transformação, a ausência de ar, o estado de nutrição do peixe, a temperatura, o pH do meio e a duração do processo fermentativo (MACKIE, *et a.*, 1971). Todo o processo resulta em um produto de aspecto líquido-pastoso, castanho, de aroma ácido suave e sabor ligeiramente amargo (BERTULLO, 1992).

Para a preparação de ensilados biológicos torna-se necessário a adição de uma fonte de carboidratos e uma fonte de bactérias láticas em anaerobiose (ARTHUR, 1991).

O músculo do peixe é pobre em carboidratos, como todos os tecidos de origem animal. Se uma fermentação com altos níveis de população bacteriana é desejada, é necessária a adição de uma fonte de energia. Este suprimento pode ser através de mono ou dissacarídeos, que podem ser facilmente assimilados pela maioria das bactérias ácido láticas (TOME *et al*, 1996).

A hidrólise das proteínas do músculo consegue-se através da diminuição de pH, a partir da produção de ácido lático, otimizando desta maneira as condições para que as enzimas proteolíticas já existentes, como a bromelina, no processo de obtenção do ensilado, reduzam consideravelmente o tempo de liquefação do produto (TOMÉ *et al*, 1996).

A Amazônia é uma região com abundância e variedade de espécies de peixes, sendo viável a produção de ensilado. A espécie selecionada para este trabalho foi o Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae) devido ao seu baixo teor de gordura e pouca valorização deste peixe na região. Os objetivos deste trabalho foram: preparar duas formulações de ensilados biológicos através de culturas de bactérias ácido láticas puras e homofermentativas, com e sem adição de polpa de abacaxi; realizar o controle microbiológico do processo, desde as matérias – primas utilizadas até os produtos finais; e analizar as características físico químicas – como pH e acidez.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material:

2.1.1. Peixe: Foram utilizados para obtenção dos ensilados, filés de Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae), recém capturados, resfriados em gelo, adquiridos na feira de pescado “Panair”, no bairro Educandos na cidade de Manaus – AM.

2.1.2. Utilização de Culturas Láticas: Para promover a produção de ácido lático e diminuir o pH do meio fermentativo, foram utilizadas culturas de microrganismos láticos, provenientes da Fundação Tropical André Tosello – Campinas –SP: *Streptococcus lactis*, CCT 2739 e *Lactobacillus plantarum*, CCT2568).

2.1.3. Fonte de Enzimas: Na preparação do ensilado 2 foi utilizado polpa de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merril, Bromeliaceae). Na preparação do ENSILADO 1 não foi

utilizada fonte adicional de enzimas, além das presentes no próprio músculo.

## 2.2. Metodologia

2.2.1. Preparo do Ensilado: Os filés de Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae) foram lavados, triturados em liquidificador e polpa foi mantida sob refrigeração ( $\pm 18^{\circ}\text{C}$ ) até adição dos componentes das duas fórmulas para obtenção de dois ensilados. A proporção das duas espécies de bactérias lácticas mesófilas utilizadas foi de 1:1. Na Tabela 1 estão mencionadas as fórmulas das preparações de ensilados utilizadas neste experimento.

Tabela 1: Formulas utilizadas na preparação de ensilados biológicos de Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae).

ENSILADO 1 (E 1)	ENSILADO 2 (E 2)
Polpa de Aruanã	Polpa de Aruanã
15% de xarope de açúcar cristal*	15% de xarope de açúcar cristal
0,25% de sorbato de potássio	0,25% de sorbato de potássio
5% de inóculo	5% de inóculo
-	10% de polpa de abacaxi

\* 100 mL de xarope = 115,20 g de açúcar.

FONTE: OS AUTORES.

Estas duas misturas após a homogenização completa, foram armazenadas em sacos de polietileno reforçados de primeiro uso, lacrados, para poder realizar a hidrólise em condições de anaerobiose. O período de fermentação foi de seis dias, à temperatura ambiente de aproximadamente  $30^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). A cada 24 horas eram retiradas assepticamente alíquotas para a realização das análises.

Os ensilados obtidos, após a homogeneização, foram armazenados em sacos de polietileno reforçados de primeiro uso, em condições de anaerobiose, identificados com os respectivos números (E 1 e E 2). O período de fermentação foi de seis dias, mantidos a temperatura ambiente de  $30^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}$ ). A cada 24 horas eram retiradas assepticamente alíquotas para a realização das análises da composição químicas e físico químicas (pH e acidez).

2.2.2. Análises Laboratoriais: Foram efetuadas análises de composição química e nutricional na matéria prima, nos ensilados antes e depois de seis dias de hidrólise. As

determinações estão descritas a seguir:

a) Análises da Composição Química e Físico Química:

- Umidade: (AOAC, 1990);
- Proteínas: (AOAC, 1995), utilizando-se o fator 6,25 para conversão;
- Lipídeos, Minerais: (IAL, 1985);
- Carboidratos por diferença, obtendo-se a fração NiFEXT.
- pH: MEDIDOR DE Ph MODELO Micronal, utilizando 10 g de amostra diluída em 100 mL de água destilada (IAL, 1985).
- Índice de Acidez: titulação com NaOH 0,1N para determinação de Ácido Lático (IAL, 1985).
- Nitrogênio Não Protéico (NNP): precipitação de proteínas com Ácido Tricloroacético 10% (GAINES, 1977; TSHINYANGU E HENNEBERT, 1996; ROSENBERG, 1996). Os precipitados e sobrenadantes resultantes foram analisados quanto ao teor de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995).
- Bases Voláteis Totais (BVT): destilação e titulação seguindo metodologia proposta pelo (IAL, 1985)

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises da composição nutricional dos filés de Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae) conforme resultados da Tabela 2 mostraram que o músculo apresentou 15,86% ( $\pm 0,09$ ) de proteína. As proteínas de peixe possuem um alto valor biológico, pela composição e proporção de aminoácidos essenciais e pela sua digestibilidade. Consequentemente, o Aruanã constitui de matéria prima ideal para a preparação de ensilados.

TABELA 2: Composição Química e nutricional de filé de Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae) e Ensilados, em 100 g de amostra.

Amostra	Umidade%	Proteína %	Lipídeos %	Minerais %	Carboidratos %	Kcal
Aruanã	82,63 ( $\pm 0,22$ )	15,86 ( $\pm 0,09$ )	0,21 ( $\pm 0,002$ )	0,88 ( $\pm 0,001$ )	0,46 ( $\pm 0,08$ )	67,17
Ensilado 1 T <sub>0</sub> *	74,56 ( $\pm 0,33$ )	12,14 ( $\pm 0,30$ )	0,52 ( $\pm 0,016$ )	0,82 ( $\pm 0,001$ )	11,96 ( $\pm 0,16$ )	101,08
Ensilado 2 T <sub>0</sub>	81,18 ( $\pm 0,14$ )	12,80 ( $\pm 0,14$ )	0,69 ( $\pm 0,08$ )	0,82 ( $\pm 0,039$ )	4,13 ( $\pm 0,10$ )	73,93
Ensilado 1 T <sub>6</sub> **	75,61 ( $\pm 0,53$ )	12,08 ( $\pm 0,08$ )	0,51 ( $\pm 0,56$ )	0,69 ( $\pm 0,01$ )	11,11 ( $\pm 0,30$ )	97,35
Ensilado 2 T <sub>6</sub>	81,82 ( $\pm 0,27$ )	12,68 ( $\pm 0,25$ )	0,68 ( $\pm 0,63$ )	0,79 ( $\pm 0,03$ )	1,13 ( $\pm 0,29$ )	73,36

\*T<sub>0</sub>=Ensilado no início da fermentação

\*\*T<sub>6</sub>=Ensilado no final da fermentação

FONTE: OS AUTORES

Os ensilados biológicos são resultado de produtos de fermentação, produzindo desta forma um produto pastoso, cuja quantidade de umidade é semelhante ao da matéria prima que lhe deu origem. O ensilado preparado sem a adição de fruta, apresentou menor teor de água do que aquele acrescido de polpa de abacaxi, cujo teor variou de 74,56% ( $\pm 0,33$ ) no T<sub>0</sub> para 75,61% ( $\pm 0,53$ ) no T<sub>6</sub>. Os ensilados com polpa de abacaxi apresentaram mais de 81% de umidade.

Tendo em vista que na formulação de ensilado foram adicionados açúcar cristal para auxiliar no crescimento das bactérias láticas, o teor de proteínas dos ensilados após seis dias de fermentação variou de 12,14% ( $\pm 0,30$ ) no ensilado 1 para 12,08% ( $\pm 0,08$ ) e para o ensilado 2 os teores de proteína variaram de 12,80% ( $\pm 0,14$ ) para 12,68% ( $\pm 0,25$ ).

Em função disto, foram maiores também as percentagens de carboidratos, que atingiram 11,96% ( $\pm 0,16$ ) e 11,11% ( $\pm 0,30$ ) para o ensilado 1. A variação dos valores de carboidratos para o ensilado 2 forma na ordem de 4,13% ( $\pm 0,10$ ) para 1,13% ( $\pm 0,29$ ). Consequentemente o valor energético foi diferente em ambos ensilados, como se observa no tempo 0 dos ensilados 1 e 2, respectivamente 101,08 e 73,93, variando ao final da fermentação para 97,35 no ensilado 1 e 73,36 para o ensilado 2. Essa redução tanto nos teores de carboidratos como na redução calórica foi devido ao consumo do açúcar adicionado nas formulações pelas bactérias láticas durante o processo fermentativo.

ARTHUR (1991), trabalhando com resíduos de peixe magro, utilizados para preparação de rações para larvas de camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*, M.) após seis dias de fermentação obteve um produto com 64,75 % de umidade, 10,29 % de proteína, 1,95% de lipídeos, 8,63% de minerais, 14,53 % de carboidratos, num total de 116,83 Kcal. A autora utilizou de uma formulação de ensilado contendo mistura de frutas (papaia, banana e abacaxi), vegetais (repolho como fonte de bactérias láticas) farinha de trigo, vinagre e sal.

XIMENES (1991), utilizando ensilado elaborado com fermento vegetal e triturados de alevinos de tambaqui, obteve valores de composição nutricional do ensilado na ordem de 61,65% de umidade, 13,27% de proteína e 3,43 % de gordura, 6,85 % de minerais, 12,41 % de carboidrato e 114,46 Kcal por 100 g de produto.

OTTATI *et al* (1990), utilizando a fauna acompanhante do camarão, 15% de melado e 1% de inoculo (*Lactobacillus plantarum*), na elaboração de ensilados para alimentação de porcos, obtiveram os seguintes resultados de composição química final: 69,90 % de umidade, 17,76 % de proteínas, 1,56% de lipídeos, 5,74 % de minerais, 11,05% de carboidratos e 129,28 Kcal.

Como podemos observar, as diferenças na composição química dos ensilados podem ser atribuídas a utilização de diferentes matérias primas (pescados) e outros

componentes da fórmula (frutas, fontes de carboidratos). A composição de peixes e/ou resíduos variam segundo a espécie utilizada, época de captura, estágio de reprodução, entre outros fatores.

O pH inicial da matéria-prima, 6,45, reduziu quando foram realizadas as formulações devido a valores de pH mais baixos do inoculo e do suco de fruta. A variação de pH no ensilado 1 foi de 5,20 no início da fermentação, atingindo 3,60 após 24 horas, mantendo-se em torno de 3,80 ao longo dos seis dias. Comportamento semelhante ocorreu com o ensilado 2, cujos valores de pH variaram de 5,35 para 3,75 após 24 horas, garantindo a estabilidade dos produtos. O pH final ficou em torno de 3,90 para o ensilado 1 e 3,88 para o ensilado 2. (Figura 1).

ARTHUR (1991), obteve valor de ph ao redor de 3,60 após 4 dias de fermentação, por ter sido utilizado um fermento biológico cujo poder de fermentação era inferior ao inóculo de bactérias láticas por nós utilizado. Da mesma maneira, XIMENES (1991), utilizando-se também de fermento a base de vegetais, obteve o mesmo resultado de ph, com cerca de 72 horas de hidrólise.

LINDGREN E PLEJE (1983), utilizaram como inóculo uma mistura de *Pediococcus acidolacti* e *Lactobacillus plantarum* e obtiveram no ensilado valores de pH igual a 4,50 após 30 horas entre 20 - 30°C.

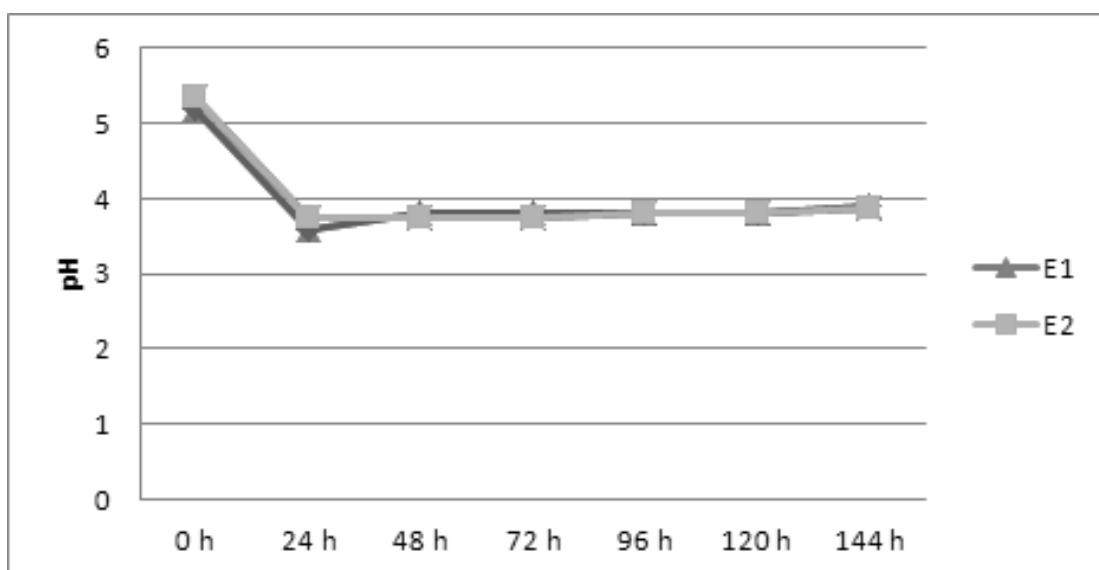


Figura 1: Variação de pH dos ensilados E1 e E2 durante seis dias de fermentação.

O pH é um dos índices de maior importância que deve ser controlado durante o processo fermentativo, já que as mudanças nos valores do mesmo são indicativos da eficiência da fermentação. Para obtenção de um ensiladoável, o pH deve ser igual ou menor que 4,0, já que nesta faixa observa-se uma diminuição e/ou inibição da atividade de certos microrganismos que possam levar à deterioração do produto (VAN WICK & HEYDENDRICH).

A acidez inicial, expressa em g% de ácido lático, foi de 0,34 g% no filé de Aruanã, 1,95 g% no inoculo, 0,51% no ensilado 1 e 0,67 g% no ensilado 2. Estes valores foram aumentando durante a fermentação e os resultados finais para o ENSILADO 1 foi de 1,90 g% e para o ensilado 2, foi de 3,40 g% (Figura 2), o que indica aumento de produção de ácido lático pelas bactérias inoculadas.

BELLO e colaboradores (1993), trabalhando com mistura de peixes eviscerados, 15% de melaço , 15% de frutas (papaia e abacaxi) e 1% de inoculo (*Lactobacillus plantarum*), observaram aumento dos valores de acidez em ácido lático de 0,92 g% após a elaboração do ensilado para 3,53 g% em 24 horas, 5,02 g% em 48 horas e 6,89 g% em 64 dias.

MARTINEZ e colaboradores (1996), trabalhando com peixes inteiros, 15% de melaço e 5% de inoculo, obtiveram nos ensilados após o preparo 0,8 g% de ácido lático no ensilado sem fruta e no ensilado contendo fruta, aumentando após 24 horas para 1,8 g% no ensilado sem fruta e 107 g% no ensilado com fruta, 3,6 g% e 4,8 g% nos ensilados sem e com fruta respectivamente após seis dias de hidrólise.

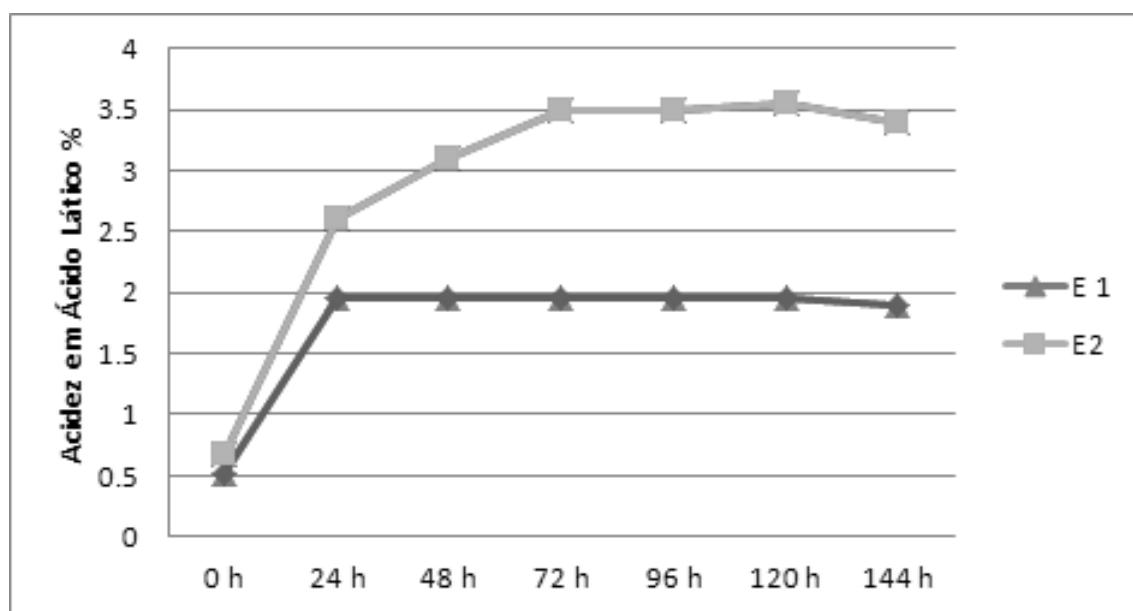


Figura 2: Variação da Acidez em Ácido Lático g% de acordo com o tempo de hidrólise (horas).

ARTHUR (1991), trabalhando com culturas lácticas provenientes de fontes vegetais (repolho, couve), observou valores de acidez em ácido lático mais baixos, de 0,49 g% após o preparo do ensilado para 1,3 g% em 24 horas, 1,5 g% após 7 dias de fermentação e 1,6 g% ao final de 15 dias de fermentação. XIMENES (1991), trabalhando também com o mesmo tipo de fermento biológico, obteve resultados semelhantes.

Esses resultados mostram a importância da utilização de cepas puras de bactérias láticas, já que a produção de ácido lático é maior, diminuindo desta forma o pH mais rapidamente, garantindo a conservação do ensilado em menor espaço de tempo.

Os resultados da hidrólise protéica a partir das determinações do Nitrogênio Não Proteíco (NNP) podem ser vistos na Figura 3. A determinação deste parâmetro, a cada 24 horas, mostrou um aumento progressivo da hidrólise das proteínas do peixe.

Observa-se que a hidrólise foi mais acentuada no ensilado contendo 10% de polpa de abacaxi (ensilado 2), graças à presença da enzima bromelina no fruto, que proporcionou uma velocidade de hidrólise maior que no ensilado 1.

Verifica-se maior grau de hidrólise (64,1% após 3 dias de fermentação para o ensilado 2 e para o ensilado 1 (o valor máximo (23,68%) foi obtido ao final de seis dias. No ensilado 1 a hidrólise continua aumentando, enquanto que no ensilado 2 ela diminui a partir do quarto dia de fermentação. Isto pode ter acontecido devido ao consumo de peptídeos e/ou aminoácidos liberados na hidrólise das proteínas do peixe pelas bactérias e na aceleração da hidrólise feita pelas enzimas presentes na polpa de fruta.

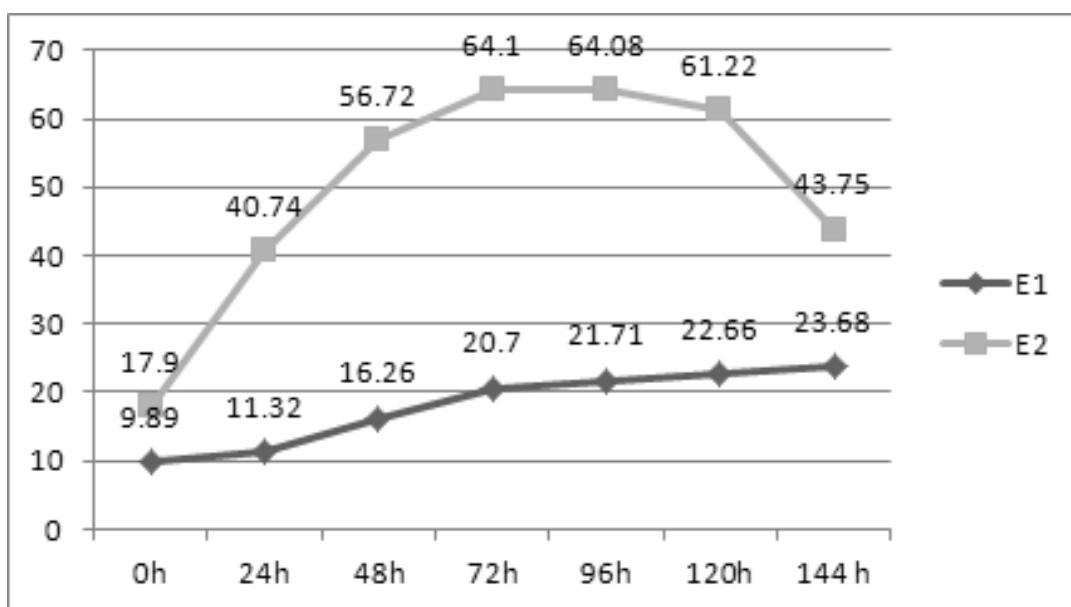


Figura 3: Valores de Nitrogênio Não Proteíco (NNP) dos Ensilados 1 e 2 durante seis dias de fermentação.

Bases Voláteis é um índice que pode ser utilizado para mensurar a quantidade de nitrogênio aminado e amônia, resultantes da degradação de aminoácidos. Na Figura 4 podemos observar os resultados obtidos.

Os valores de Bases mínimos obtidos no início foram de 9,13 mg/100g para o ensilado 1 e 9,85 mg/100g no ensilado 2, atingindo após seis dias de hidrólise 19,12 mg/100g e 33,39mg/100g para os ensilados 1 e 2 respectivamente. Isto demonstra que

a presença de enzimas proteolíticas na preparação de ensilados acelera e aumenta a “quebra” de proteínas, liberando maior quantidade de nitrogênio não protéico e amônia.

JAMES *et al* (1977), em um estudo comparativo de ensilados com bactérias láticas (*Lactobacillus plantarum*) e ácido fórmico, observaram que a composição química era similar, poucas variações quanto ao conteúdo de nitrogênio, porém havia uma maior quantidade de nitrogênio aminado.

LINDGREN & PLEJE (1983) observaram crescente quantidade de bases voláteis nitrogenadas em ensilados fermentados por bactérias láticas, de 20 mg/100g de produto para 90 mg/100 g, após 24 dias de hidrólise, à temperatura de 24 °C.

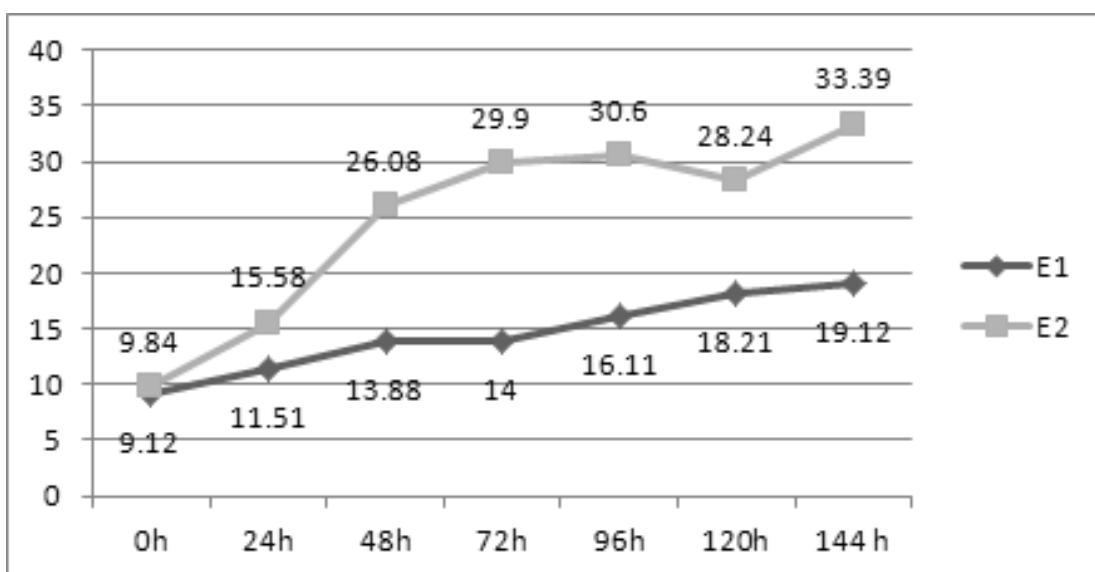


Figura 4: Resultados obtidos de Bases Voláteis Totais para os Ensilados 1 e 2, durante seis dias de Fermentação.

#### 4. CONCLUSÕES

Apoiados nos resultados obtidos, podemos concluir que a análise da composição química do músculo de peixe utilizado, Aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum* Vandelli, 1899, Osteoglossidae), confirmou sua classificação como peixe magro, contendo menos de 1,0 g de lipídeos em 100g de músculo fresco, assim como seu teor de proteína ser alto, atingindo 15,86g/100 g.

Ao utilizar polpa de abacaxi para acelerar a hidrólise das proteínas do músculo do peixe, houve aumento nos valores de nitrogênio não protéico (NNP) e bases voláteis totais (BVT), conforme esperado.

A utilização de cepas puras de bactérias ácido láticas mesófilas homofermentativas, (*Streptococcus lactis*, CCT 2739 e *Lactobacillus plantarum*, CCT2568), promoveu a fermentação do meio com rápida diminuição do pH e aumento

---

da acidez, podendo-se considerar 24 horas o tempo adequado de fermentação nas condições trabalhadas.

## 5. REFERÊNCIAS

ARTHUR, L.M.S.R. **Utilização de Ensilado Biológico de Pescado na Elaboração de uma Ração para Desenvolvimento de Pós-Larvas de Camarão de Água Doce *Macrobrachium rosenbergii***, M. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da U.F.R.R.J. Itaguaí, R.J., dezembro de 1991, 138 p.

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington:AOAC, 1990.

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington:AOAC, 1995.

BELLO, R.; CARDILLO, E.; MARTÍNEZ, R. Estudio sobre la elaboración de ensilado microbiano a partir de pescado eviscerado. In: Arch. Latinoamer. Nutr.43(3):221-227. 1993a.

BERTULLO, E. Desarollo Del ensilado de pescado em América Latina. In: Trabajos Presentados em La Segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros em América Latina. Roma, FAO, 1992. P.18-42.

GAINES, T.P. Determination of protein nitrogen in plants. J. AOAC Int., Gaithersburg, v.60, n.3, p.590-593., 1977.

IAL NORMAS ANALITICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e Físico Químicos para Análises de Alimentos**. 3 ed São Paulo, 1985.

JAMES, M.A.; IYER, K.M.; NAIR, M.R. Comparative study of fish silage prepared by microbial fermentation and formic acid ensilage. In: CONFERENCE ON THE HANDLING PROCESSING AND MARKETING OF TROPICAL FISH, London, 1976. **Proceedings**. London: Tropical Products Institute, 1977. p.273-75.

LAPIE, L.P.; BIGUERAS-BENITEZ, C.M. Feeding studies on Tilapia (*Oreochromis* sp) using fish silage. In: Papers ; FAO Fisheries Report (FAO) , no. 470(Suppl.); *Indo-Pacific Fishery Commission. Working Party on Fish Technology and Marketing*, Sess.

8, Yogjakarta (Indonesia), 24-27 Sep 1991 / FAO, Rome (Italy). Fishery Industries Div. , 1992, p. 165-177.

LINDGREN, S.; PLEJE, M. Silage fermentation of fish or fish waste products with lactic acid bacteria. In: J. Sci. Food Agric. 34: 1057-1067. 1983.

MACKIE, I.M; HARDY, R. and HOOS, G. Poisson fermenté et produits derives. In: Rapports de la FAO sur les peches. FIIP/100. Rome, 1971. 62p.

MARTÍNEZ V, R.; AGUILERA, N.; BELLO, R.A. Dinámica microbiana y cambios físico-químicos, en ensilados biológicos de pescado elaborados con cultivos laticos termofilos: *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* spp. *Thermophilus*. In: FAO, Informe de Pesca no. 538 Trabajos Presentados em la 3. Consulta de Expertos Sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina, Porlamar (Venezuela), 21-25 Mar 1994. Roma (Italia). 1996. p. 109-114.

OTTATTI, M.; GUTIÉRREZ, M.; BELLO, R. Estudio sobre la elaboración de ensilado microbiano a partir de pescado proveniente de especies subutilizadas. In: Arch. Latinoamer. Nutr. 40(3):408-425. 1990.

RODRÍGUEZ, T.; MONTILLA, J.; BELLO, R. Ensilado de pescado a partir de la fauna acompañamiento del camarón. I. Elaboración y evaluación biológica. Arch. Latinoamer. Nutr. 40(3): 426-438. 1990a.

ROSENBERG, I.M. *Protein analysis and purification: bentchtop techniques*. Boston: Birkhäuser, 1996. p.130-131.

TOME W, LEVY, A., BELLO, R.A. Control de la actividad proteolítica en ensilado de pescado [Control of proteolitic activity in fish silage]. (Spanish) In: Trabajos ; FAO, Informe de Pesca (FAO) , no. 538(Suppl.); Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en America Latina, 3, Porlamar (Venezuela), 21-25 Mar 1994 / FAO, Rome (Italy). Dirección de Industrias Pesqueras , 1996, p. 104-108.

TSHINYANGU, K.K.; HENNEBERT, G.L. Protein and chitin nitrogen contents and protein content in *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus*. *Food Chem.*, Oxford, v.57, n.2, p.223-227, 1996.

VALDIVIESO, R. M., AGUILERA, N. Y BELLO, R. Dinamica Microbiana y cambios físico

químicos en ensilados biológicos DE PESCADO ELABORADOS COM CULTIVOS LÁCTICOS TERMÓFILOS: *Lactobacillus Delbreuclii*, SSP.*Bulgaricus* y *Streptococcus salivarius*, SSP *Thermophilus*. In: Trabajos presentados em La tercer consulta de expertos sobre tecnologia de productos pesqueros em America Latina. FAO, Rome (Italy), 1996.

VAN WIK, H. E HEYDENRICH, C. The production of naturally fermented fish silage using various lactobacilli and different carbohydrate sources. Journal of the Science of Food and Agriculture Volume 36, Issue 11, pages 1093–1103, November 1985.

VILLELA DE ANDRADE, M.F., LESSI, E. FRANQUEIRA DA SILVA, J.M. . Obtención de ensilado de residuo de sardina (*Sardinella brasiliensis*, Steindashner, 1979) y su empleo en la formulación de raciones de mínimo costo para aves. In: Segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina, Montevideo, Uruguay, 11 a 15 de diciembre de 1989. FAO INFORME DE PESCA No 441 SUPLEMENTO. Roma.1992 p. 115-125

XIMENES CARNEIRO, A.R. **Elaboração e Uso de Ensilado Biológico de Pescado na Alimentação de Alevinos de Tambaqui, *Colossoma macropomum*(CUVIER, 1818).** Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. INPA/FUA, Manaus, 1991. 81 p.