



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS
PESQUEIROS



**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SILAGEM DE
VÍSCERAS DE PEIXE COMO INGREDIENTE EM
RAÇÕES PARA TAMBAQUI**

THIAGO MACEDO SANTANA

Manaus - AM
Fevereiro - 2023

THIAGO MACEDO SANTANA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SILAGEM DE
VÍSCERAS DE PEIXE COMO INGREDIENTE EM
RAÇÕES PARA TAMBAQUI**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas, para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros.

Área de concentração: Produção animal

Linha de pesquisa: Nutrição e produção de monogástricos e ruminantes

Orientadora: Lígia Uribe Gonçalves, Dra.

Coorientadora: Gabriela Tomas Jerônimo, Dra.

Manaus - AM

Fevereiro - 2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S232p Santana, Thiago Macedo
Produção e caracterização de silagem de vísceras de peixe como ingrediente em rações para tambaqui / Thiago Macedo Santana . 2023
87 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Lígia Uribe Gonçalves
Coorientadora: Gabriela Tomas Jerônimo
Tese (Doutorado em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Bioconversão. 2. Eficiência alimentar. 3. Hidrólise proteica . 4. Ingrediente energético. 5. Resíduo de peixe. I. Gonçalves, Lígia Uribe. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

THIAGO MACEDO SANTANA

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SILAGEM DE VÍSCERAS DE PEIXES COMO INGREDIENTES EM RAÇÕES PARA TAMBAQUI

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração em Produção Animal.

Aprovado em 17 de fevereiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA



Dra. Ligia Uribe Gonçalves - Presidente
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia


Dr. Adriano Teixeira de Oliveira
INPA-CIIC

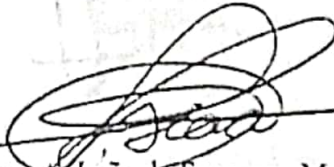
Dr. Adriano Teixeira de Oliveira - Membro
Instituto Federal do Amazonas



Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas - Membro
Universidade de São Paulo



Dra. Thyssia Bomfim Araújo da Silva - Membro
Instituto Federal do Amazonas



Dr. Flávio Augusto Leão da Fonseca - Membro
Instituto Federal do Amazonas

**A minha amada família,
pelo apoio, companheirismo e incentivo
A minha querida avó paterna,
Antônia Santos de Santana (*in memoriam*)
*DEDICO***

AGRADECIMENTOS

À Deus, o grande regente do universo que tem me guiado e proporcionado forças e entendimento para vencer os obstáculos e concluir esta etapa tão sonhada.

À minha amada família, em especial aos meus pais, Josemar Santana e Terezinha Santana, às minhas irmãs, Josiane Lopes e Keren Santana, ao meu cunhado Daniel Lopes e meus sobrinhos Túlio Lorenzo e Théo Teodoro, pelo incentivo, apoio, compreensão, amor, durante todos esses anos. Amo vocês! Não tenho palavras para agradecer.

À minha avó paterna Antônia Santana (*in memoriam*), obrigado por tanto carinho, incentivo e investimento, “vó Tônia” sei que está orgulhosa com essa conquista.

À minha orientadora Prof. Dra. Ligia Uribe Gonçalves, a quem admiro muito, obrigado pela orientação magnífica, por toda paciência e conhecimentos transmitidos. Obrigado pelas oportunidades, amizade, carinho e confiança.

À minha co-orientadora Prof. Dra. Gabriela Tomas Jerônimo, por todo auxílio, conhecimento e amizade que tem compartilhado todos esses anos.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM), por oportunizar os cursos de graduação, mestrado e, agora, o doutorado, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPGCARP) e a todos professores que têm encaminhado minha vida neste percurso.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) por proporcionar a estrutura para execução do projeto, em especial aos funcionários da estação experimental de Aquicultura, por toda colaboração, Dona Maria Inês, Dona Suzana, Dona Fatinha, Sr. Gabriel, Sr. Alexandre, Sr. Raimundo por todo auxílio e pelo carinho que nos dão.

Aos amigos do Projeto GIGAS: André Nobre, Armando Prestes, Bia Sena, César Oishi, Cláudia Epifânio, Dantas (diretor), Driely Monteiro, Seu Guto (Dr. Flávio Augusto), Jéssica Barbosa, Juliana Tomomi e Yugo Pastrana por toda ajuda, força, amizades, convivência e momentos de descontração, com vocês foi tudo mais fácil.

Ao Sr. Ronaldo Santana, por nos possibilitar usar sua extrusora.

Aos amigos da minha comunidade de fé Alridimar, Cleyson e David, por todo companheirismo, orações e palavras de incentivo.

À CAPES (Processo 88882.452471/2019-01) pela concessão da bolsa, e a FAPEAM (processo 062.01298/2018), pelo suporte financeiro concedido para a realização do projeto de pesquisa.

Muito obrigado!

“As coisas só se tornam impossíveis quando não nos damos a oportunidade de acreditar”

Eduardo Frederico

“Aprendi que as oportunidades nunca são perdidas; alguém vai aproveitar as que você perdeu”

William Shakespeare

RESUMO

A aquicultura está em contínuo crescimento e há previsão de aumento de demanda por produtos aquícolas pelas próximas décadas. Juntamente com a ampliação da produção de pescado, há a geração de grande volume de resíduos. Esses resíduos aquícolas possuem alto valor biológico e podem ser processados em novos produtos, com potencial para utilização em dietas para animais de interesse zootécnico e de companhia. A realização dessa tese teve como objetivo destinar as vísceras de tambaqui para produção de silagem como um novo ingrediente para ração que agregue valor para a cadeia produtiva desta espécie. O **capítulo I**, apresenta uma revisão de literatura sobre o panorama mundial da produção de pescado e aquicultura, contextualização da utilização dos resíduos de pescado sob a forma de silagem e suas aplicações como ingrediente na alimentação animal. No **capítulo II**, o objetivo foi testar silagens ácida e fermentadas a partir de vísceras de peixe para determinar o seu valor nutritivo e o coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes e energia para juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*. As silagens apresentaram em média 55% de matéria seca, 62,9% de lipídeos e 12% de proteína bruta. A leucina e a lisina predominaram como aminoácidos essenciais. As silagens apresentaram teores entre 5,4 a 17,8 mg de ácido eicosapentaenóico (EPA) por grama de lipídeos e 1,7 a 8,9 mg de ácido docosahexaenóico (DHA) por grama de lipídeos. O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi superior a 82% para energia bruta em todas as formulações. Os CDAs para proteína foram similares entre as silagens fermentadas, com nível máximo de 92% para a silagem de farelo de trigo. A bioconversão de vísceras de peixe em silagem a torna um ingrediente energético para rações aquáticas bem digerido por juvenis de tambaqui. A silagem fermentada de vísceras de tambaqui com melão foi escolhida para etapa seguinte, por possuir característica física (pastosa) que facilitou sua inclusão na mistura da formulação e no processo de extrusão das dietas experimentais. No **capítulo III**, foi avaliado a inclusão de diferentes níveis da silagem fermentada de vísceras de tambaqui com melão (SV), na dieta para juvenis de tambaqui. Os péletes com maiores inclusões de silagem apresentaram menor taxa de expansão e fluabilidade. Os peixes apresentaram crescimento similar entre os grupos experimentais, alcançando 500% em relação ao peso final. A conversão alimentar aparente média foi de 1,43, a taxa de eficiência proteica de 2,28% e taxa de crescimento relativo de 1,79%/dia. Os peixes alimentados com 20% SV apresentaram aumento no nível de colesterol plasmático, porém dentro do adequado para tambaqui saudáveis. A

inclusão de silagem de víscera em dietas para juvenis de tambaqui reduziu a atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT), confirmando o funcionamento hepático normal. As dietas experimentais tiveram o custo de produção variando de R\$ 4,65 a R\$ 4,68, porém a diferença não influenciou nos índices econômicos. É possível incluir 20% de silagem fermentada de víscera de tambaqui com melaço em dietas de juvenis de tambaqui sem prejuízo no seu crescimento e saúde.

ABSTRACT

Aquaculture is on the rise, and the demand for aquaculture products is expected to increase over the coming decades. Along with the increase in fish farming, there is the generation of a large volume of fish waste. Fish waste present a high biological value, and can be processed into new products, with potential for use in aquafeed and petfood. The main aim of this thesis was to use tambaqui viscera in the silage production as a new feed ingredient that adds value to its production chain. **In chapter I**, a literature review was carried out on the world panorama of fishery and aquaculture production, we presented a contextualization of the use of fish waste in silage form and its applications as an ingredient in animal feed. **In chapter II**, the aim was to produce acidic and fermented silages from fish viscera to determine its nutritional value and the apparent digestibility coefficient of nutrients and energy for juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. The silages presented an average of 55% of dry matter, 62.9% of lipids and 12% of crude protein. Leucine and lysine predominated as essential amino acids. Fish viscera silages showed levels between 5.4 to 17.8 mg of eicosapentaenoic acid per gram of lipids and 1.7 to 8.9 mg of docosahexaenoic acid per gram of lipids. The apparent digestibility coefficient (ADC) was highest than 82% for gross energy for all silage formulations. The ADCs for protein were similar among fermented silages, with a maximum level of 92% for wheat middlings silage. The bioconversion of fish viscera into silage makes it an energetic ingredient for aquafeeds, which is well digested by tambaqui juveniles. The fermented silage of viscera with molasses was chosen to evaluate the growth performance of tambaqui because it has physical characteristics (pasty) that facilitate its inclusion in mixtures of omnivorous fish diets, prior to extrusion. **Chapter III** evaluated the inclusion of different levels of silage fermented of tambaqui viscera with molasses (VS) in diets for juvenile tambaqui. Pellets with higher silage inclusions showed lower expansion and buoyancy rates. The fish presented similar growth between the experimental groups, reaching 500% in relation to the final weight. The average apparent feed conversion was 1.43, the protein efficiency rate was 2.28% and a relative growth rate was 1.79%/day. Fish fed with 20% SV showed an increase in plasmatic cholesterol level, however within the range suitable for healthy tambaqui. The inclusion of viscera silage in diets for tambaqui juveniles reduced the activity of the alanine aminotransferase enzyme, confirming its normal liver function. The experimental diets presented production costs ranging from R\$ 4.65 to R\$ 4.68, however the difference did not

influence the economic efficiency indicators. It is possible to include 20% of viscera silage fermented with molasses in tambaqui juvenile diets without impairing their growth and health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier, 1816).	22
Figura 2. Fluxograma da produção de silagem de víscera fermentada e ácida. SV Melão - silagem fermentada de melão; SV Trigo - silagem fermentada de farelo de trigo; SV Crureira - silagem fermentada de crureira de mandioca; SV Ácido - silagem ácida.	37
Figura 3. Temperatura e pH da silagem de vísceras armazenada por 7 dias: (A) SV Melão; (B) SV Trigo; (C) SV Cassava; (D) SV ácida.	41
Figura 4. Progresso em dias do processo de ensilagem de víscera de peixe no período de sete dias. D0 dia inicial da ensilagem e D7 o sétimo dia de ensilagem.....	57
Figura 5. Sputter Coater – equipamento metalizador de ouro; b) Stubs com péletes para serem metalizados com ouro; c) Péletes metalizados com ouro.	61
Figura 6. Tanques utilizados para avaliação do desempenho zootécnico de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	61
Figura 7. a - Juvenil de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) com corte no abdômen para coleta das vísceras; b - vísceras após a coleta; c - vísceras separadas para pesagem.	63
Figura 8. Colheita de sangue de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	644
Figura 9. Micrografias em corte transversal dos péletes das dietas com inclusão de silagem de víscera. a - 0% SV; b - 5% SV; c - 10% SV; d - 15% SV e 20% SV. 1000 µm.	68
Figura 10. Concentração de colesterol de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem pelo período de 13 semanas.	69
Figura 11. Atividade da enzima alanina transaminase - ALT de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem pelo período de 13 semanas.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Silagens de resíduos de pescado na alimentação animal.....	18
Tabela 2. Ganho de Peso (GP) e Conversão Alimentar (CA) de peixes alimentados com dietas com inclusão de silagens de resíduos de pescado.	20
Tabela 3. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para proteína bruta (PB) de silagens de resíduos de pescado em dietas para peixes.	20
Tabela 4. Formulação e composição centesimal da dieta referência do ensaio de digestibilidade in vivo.	399
Tabela 5. Composição centesimal de vísceras e silagens de peixes após sete dias de armazenamento (% matéria seca).	43
Tabela 6. Aminoácidos de vísceras e silagens viscerais de peixes após sete dias de armazenamento (mg/g de Proteína Bruta).	43
Tabela 7. Ácidos graxos de vísceras de peixe e silagens de vísceras após sete dias de armazenamento (mg/g de lipídeos).....	44
Tabela 8. Coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes e energia de silagens de vísceras para juvenis de tambaqui (% matéria seca)	45
Tabela 9. Formulações e composição nutricional das dietas com níveis crescentes de inclusão de silagem de melaço.	58
Tabela 10. Níveis de inclusão de silagem de víscera de tambaqui e ajuste da hidratação.	59
Tabela 11. Custo de produção das dietas experimentais com diferentes inclusões de silagem de víscera de peixe.	66
Tabela 12. Qualidade física dos péletes (média \pm desvio padrão) das dietas experimentais contendo níveis crescentes de silagem.	71
Tabela 13. Desempenho zootécnico e índices biométricos (média \pm desvio padrão) de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> alimentados com dieta contendo níveis crescentes de silagem durante 13 semanas.	71
Tabela 14. Composição centesimal (média \pm desvio padrão) de músculo de juvenis de tambaqui, alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem (% da matéria seca), durante 13 semanas.	72
Tabela 15. Parâmetros hematológicos e bioquímicos do plasma (média \pm desvio padrão) de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem durante 13 semanas.....	73
Tabela 16. Custo de produção e índices econômicos de tambaqui alimentados com níveis crescentes de inclusão de silagem.	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGM – Ácidos graxos monoinsaturados
AGP – Ácidos graxos poli-insaturados.
AGS – Ácidos graxos saturados
ALT – Alanina aminotransferase
AOAC – Association of official analytical chemists
AST – Aspartato aminotransferase
BHT – Butil hidroxi tolueno
CA – Conversão alimentar
CDA – Coeficiente de digestibilidade aparente
CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais
CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média
COE – Custo Operacional Efeito
CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COT – Custo Operacional Total
COTEI – Coordenação de Tecnologia e Inovação
DHA – Ácido docosahexaenóico
DIC – Delineamento inteiramente casualizado
DR – Dieta referência
DT – Dieta teste
EB – Energia bruta
EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EE – Eficiência econômica
EPA – Ácido eicosapentaenóico
FAME – Éster metílico de ácido graxo
FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations
FB – Fibra bruta
FID – Detector de ionização de chama
GP – Ganho de peso
HCl – Ácido clorídrico
HCM – Hemoglobina corpuscular média
ICE – Índice de conversão econômica
ILE – Índice de lucro econômico
INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Kg – Quilograma
LIP – Lipídeos bruto
MM – Matéria mineral
MS – Matéria seca
NRC – Nutrient Requirements of Fish
PB – Proteína bruta
pH – Potencial hidrogeniônico
RB – Receita bruta
RE – Rentabilidade econômica
UM – Umidade
VCM – Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Silagem de resíduos de pescado	15
2.2 Silagem de resíduos de pescado na alimentação de animal.....	17
2.3 Silagem de resíduos de pescado na alimentação de peixes	18
2.4 Tabaqui	21
3. OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4. REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO II.....	34
5. Abstract.....	34
6. INTRODUCTION	34
7. MATERIALS AND METHODS	35
7.1 Production of Fish Viscera Silage	36
7.2 Composition of Amino Acids.....	37
7.3 Composition of Fatty Acids.....	37
7.4 Determination of the Apparent Digestibility Coefficient (ADC).....	38
7.5 STATISTICAL ANALYSES	40
8. RESULTS	40
9. DISCUSSION.....	46
10. CONCLUSIONS	48
11. REFERENCES	49
CAPÍTULO III	54
12. Resumo	54
13. INTRODUÇÃO	55
14. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
14.1 Obtenção das vísceras e produção da silagem.....	57
14.2 Produção das dietas experimentais	57
14.3 Qualidade física dos péletes	59
14.4 Microestrutura dos péletes.....	60
14.5 Experimento de desempenho zootécnico	61
14.6 Índices biométricos.....	62
14.7 Composição centesimal do filé.....	63
14.8 Parâmetros de saúde	63
14.9 Custo de produção das dietas experimentais	64
14.10 Análise estatística	67
15. RESULTADOS	67
15.1 Qualidade física dos péletes	67
15.2 Desempenho zootécnico, índices biométricos e composição centesimal ..	68
15.3 Parâmetros de saúde	68
15.4 Custo de produção das dietas experimentais	70
16. DISCUSSÃO	75
16.1 Desempenho zootécnico, índices biométricos e composição centesimal ..	76
16.2 Parâmetros de saúde	77

16.3	Custo de produção das dietas experimentais	78
17.	CONCLUSÃO	79
18.	REFERÊNCIAS	79
19.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma importante atividade na produção de proteína animal. A aquicultura mundial continuou a crescer em 2020 produziu 87,5 milhões de toneladas de peixes, diferentemente, a pesca apresentou declínio de 1,6% na captura de peixes, em relação ao ano de 2019 (FAO, 2022). No Brasil a piscicultura produziu 841 mil toneladas de peixe em 2021, movimentou valores em torno de 8 bilhões de reais, quando somados os valores de exportação e importação, a produção brasileira é feita por mais de 1 milhão de produtores de peixes, gerando mais de três milhões de empregos diretos e indiretos (PeixeBR, 2022).

O consumo médio mundial de pescado é de 20,5 kg *per capita/ano*, com projeção de aumento para 21,5 kg até 2030 e com crescimento previsto de 18% (correspondente a 24,2 kg de pescado *per capita*) para a América Latina, segundo dados do relatório da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2020). No Brasil, o consumo médio de peixes da piscicultura está em torno de 5 kg *per capita/ano* (PeixeBR, 2022), em contraste com a região Amazônica que é aproximadamente 150 kg *per capita/ano* (FAO, 2018).

Concomitantemente ao aumento do consumo de pescado, há a geração de grande quantidade de resíduos, tais como: restos de músculos, cabeça, pele, ossos, escamas e vísceras (Oliveira et al., 2017). Esses resíduos, quando descartados de forma incorreta, estão associados a poluição da água dos rios, ao mau odor, riscos sanitários (atração de insetos, ratos, urubus), bem como no prejuízo do turismo e vida local, sendo um agravante da poluição ambiental (Pacheco et al., 2019). Por outro lado, os resíduos de pescado são fontes ricas de proteína de alto valor biológico e aminoácidos essenciais, lipídeos, ácidos graxos essenciais, colágeno, vitaminas e minerais (Rossetto et al., 2021). Esses resíduos orgânicos, quando processados em novos produtos, apresentam potencial para utilização como ingredientes na alimentação para animais de interesse zootécnico e de companhia (Sales e Oliveira, 2015; Magalhães et al., 2019).

A farinha e o óleo de peixe são reconhecidos como matérias-primas “premium” na indústria de rações para organismos aquáticos e *pet food* (cães e gatos), uma vez que apresentam quantidades suficientes de aminoácidos e ácidos graxos essenciais (Olsen et al., 2012). Com o aumento da demanda e escassez no mercado, observa-se constante

aumento nos valores comerciais para farinha e óleo de peixe (Antunes, 2019). Além disso, a utilização desses ingredientes produzidos a partir do extrativismo não proporciona a sustentabilidade da aquicultura (FAO, 2018). O crescimento da aquicultura mundial é uma realidade, porém deve ser acompanhado com a sustentabilidade de todo processo produtivo (Stevens et al., 2018). Assim, esse estudo foi conduzido para buscar uma solução para o descarte de vísceras de peixes oriundas do processamento, e produzir uma alternativa de ingrediente para formulação de rações para peixes neotropicais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Silagem de resíduos de pescado

O processo de produção da silagem foi desenvolvido pelo professor Artturi Ilmari Virtanen, da Universidade de Helsinque na Finlândia, em 1920, inicialmente para conservação de forragens. Na Suécia, em 1936 o professor Edin utilizou o mesmo método patenteado por Vitarnen para produzir a primeira silagem de pescado (Disney e James, 1980).

Após a década de 40, a silagem de pescado foi difundida em muitos países pelo mundo. A Dinamarca chegou a produzir 46 mil toneladas anualmente, enquanto a Polônia produzia 7 mil toneladas por ano, e a Noruega também produzia silagem de pescado em escala comercial (Johnsen, 1981; Raa e Gildberg, 1982; Sales, 1995). Nos países asiáticos a produção de silagem foi utilizada para aproveitamento de peixes de menor valor econômico, com intuito de reduzir os problemas ambientais (Van Wyk e Heydeneych, 1985).

No Brasil somente no final da década de 80 houve a preocupação com o aproveitamento de pescado de baixo valor comercial, quando foi aplicado a metodologia de conservação do pescado por meio da produção de silagem (Ogawa e Maia, 1999). Nesse momento, peixes impróprios para o consumo humano e resíduos do processamento do pescado foram conservados em forma de silagem, pois a produção de resíduos estava acima de 60% do total produzido em determinadas plantas frigoríficas de pescado (Vidotti et al., 2002; Beerli et al., 2004; Carvalho et al., 2006).

A silagem de pescado é o resultado da solubilização das proteínas a partir da hidrólise química, biológica ou enzimática. São encontrados vários estudos na literatura que comprovam sua qualidade nutricional e vida de prateleira, porém sua aplicabilidade na indústria não tem sido observada, principalmente, devido a sua apresentação na forma semi pastosa, com alto teor de umidade o que resulta em produto com grande volume o

que dificulta a logística (Lessi et al., 1989; Ximenes Carneiro, 1991; Oetterer, 2009; Valério, 1994; Vidotti et al., 2001; Arruda et al., 2007; Olsen e Toppe, 2017). A silagem elaborada com resíduos ou com descarte da comercialização do pescado possui processamento simples de produção, não requer muita energia, equipamentos e mão de obra especializada, podem ser elaboradas em pequena escala, não exala odores desagradáveis, não atrai insetos devido o odor ácido e nem apresenta contaminação microbiológica (Ogawa e Maia, 1999).

Existem duas metodologias básicas para a obtenção de silagem: o método de fermentação ou biológico, no qual são adicionadas bactérias lácticas, produtoras do ácido láctico e o método químico ou ácido em que os ácidos orgânicos e/ou inorgânicos são adicionados aos resíduos de pescado (Lupín, 1983). Os dois processos se iniciam com a redução do pH da massa ensilada, nas silagens ácidas pela adição dos ácidos orgânicos e e/ou inorgânico e nas silagens fermentadas pela produção de ácido láctico através da glicólise de uma fonte de carboidrato adicionado a formulação. A acidificação do meio acaba casando o rompimento das paredes do lisossoma, que liberam as enzimas contidas, iniciando-se a hidrólise das proteínas à polipeptídeos e aminoácidos livres (Hisano et al., 2012).

Tanto as silagens ácidas quanto as biológicas podem ser utilizadas depois de sete dias do início da sua produção, isto é, assim que ocorre a estabilização do pH para valores inferiores a quatro (Backhoff, 1976). O meio ácido evita a contaminação por bactérias, além de propiciar a ação das enzimas naturalmente presentes no pescado. Na literatura é recomendada a utilização da silagem após 30 dias do seu preparo, porém durante esse período, cerca de 75 a 85% das proteínas foram hidrolisadas, o que pode resultar em redução da qualidade da silagem como ingrediente em rações para peixes (Vidotti et al., 2011).

A qualidade nutricional da silagem de peixe está relacionada com sua alta digestibilidade e seu grau de hidrólise, pois se ocorrer autólise em excesso o produto fica prejudicado (Arruda et al., 2001; Assano, 2004). Os peixes absorvem com mais facilidade os peptídeos de cadeia curta (di e tripeptídeos) do que os peptídeos de cadeia longa e proteínas íntegras e isso é alcançado limitando a hidrólise das proteínas (Honorato et al., 2012). Os peptídeos de cadeia curta e aminoácidos livres presentes na silagem aumentam a percepção do alimento pelos peixes (Mullen et al., 2017), já que estes são as principais substâncias detectadas pelo sistema quimiorreceptor (botões gustativos e o epitélio

olfatório) que estimulam a ingestão ou a rejeição dos alimentos pelos peixes (Alves, 2019).

Essa composição da silagem, quando usada na formulação de dieta, pode aumentar a aceitabilidade das rações artificiais para larvas e juvenis de peixes, resultando em aumento do consumo das dietas que possuem ingredientes de baixa palatabilidade, com conseqüente aumento na taxa de crescimento (Davies et al., 2020).

A silagem de resíduos de pescado apresenta algumas limitações, como alto teor de lipídeos, que podem sofrer processo oxidativo e alterar as suas características físicas (cor, textura, valor nutricional) e produção de substâncias tóxicas. Os principais fatores que causam a oxidação lipídica são a exposição ao oxigênio, fonte de luz, calor e grau de insaturação dos ácidos graxos (Dauksas et al., 2005). Para evitar essa oxidação lipídica, adiciona-se substâncias antioxidantes, como BHT (Butil hidroxi tolueno) que possui melhor interação com lipídeos de origem animal, além de não interferir no processo de ensilagem (Bobbio e Bobbio, 2001).

Para tambaqui, foi caracterizado a produção de silagem ácida de resíduo de sua filetagem (espinhas, nadadeiras, vísceras e poucas escamas) ensilada por quatro dias que alcançou pH 4, com aspecto pastoso-líquido, coloração marrom claro e aroma ácido. O teor proteico foi de 44%, 39,9% de lipídios, 7,6% de cinzas e 5.383,4 Kcal de EB/Kg, com concentrações decrescentes dos aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutâmico, glicina, arginina, alanina e lisina (Silva, 2015). Já para silagem fermentada com resíduos (vísceras, nadadeiras, escamas e brânquias), utilizando inóculo *Lactobacillus plantarum* (2,5%, 5% e 7,5 v/p), ensiladas por 35 dias, nas características organolépticas todos os tratamentos apresentaram coloração no tom de cor marrom, cheiro levemente acidificado/Frutal, o pH (4,5) alcançou menor valor no terceiro dia de ensilagem. Na composição centesimal não apresentou diferença entre os tratamentos (79,9% umidade; 9,3% proteína bruta; 7,9% lipídeos; 3,9% matéria mineral; 1.204,4 Kcal/Kg de EB), ao final do processo de ensilagem o rendimento foi de 20,7% após a secagem (Guimarães et al., 2021).

2.2 Silagem de resíduos de pescado na alimentação de animal

Nas criações animais, a alimentação pode compor de 60% a 80% do custo de produção animal (Delmaschio, 2018). Os ingredientes que são fonte de proteína são os que representam maior parcela dentre os custos de produção das dietas (Rocha, 2019). Uma possibilidade de redução dos custos é a utilização de subprodutos sem valor de

mercado que podem ser transformados em fonte de energia e proteína, como os resíduos do processamento de pescado (Rossetto e Signor, 2021). A silagem de pescado possui simples processamento de produção e baixo custo de investimento para produção (Silva, 2015).

A silagem de pescado tem sido avaliada na nutrição de diversos animais monogástricos (Tabela 1), porém sua inclusão tem se limitado à 5% para que não influencie no odor e sabor da carne de aves e suínos (Enke et al., 2010).

Tabela 2. Silagens de resíduos de pescado na alimentação animal.

Silagem	Matéria-prima	PB* (%)	Inclusão (%)	Espécie avaliada	Referência
Ácida	resíduo de tambaqui	30,8	46	<i>Canis resíd familiaris</i>	Reinicke et al., 2019
Ácida	resíduos de pirarucu	40,1	3	<i>Gallus resídu domesticus</i>	Batalha et al., 2017
Ácida	resíduo de tilápia	48,0	30	<i>Rana catesbeiana</i>	Oliveira et al., 2008
Fermentada	resíduo de tilápia	16,9	6	<i>Sus scrofa domesticus</i>	Godoy et a., 2008
Fermentada	resíduo de sardinha	60,8	12	<i>Gallus resídu domesticus</i>	Shabani et al., 2018

*PB – Proteína Bruta;

2.3 Silagem de resíduos de pescado na alimentação de peixes

A silagem de pescado é um produto que tem sido avaliado com alta aceitabilidade pelos peixes de água doce, pois apresentam composição similar a matéria-prima (Lupín, 1983) (Tabela 2). Como para juvenis tambaqui, que foram alimentados com dieta a base de silagem fermentada, as dietas apresentaram alta aceitabilidade pelos peixes e aumentou o nível de cálcio e fósforo na composição corporal dos peixes, possivelmente o maior teor de minerais é devido a presença de escamas e ossos na carcaça que foi utilizada para elaboração da silagem (Ximenes Carneiro, 1991).

Juvenis de tambaqui (27,4 g) alimentados com dietas contendo silagem fermentada de resíduos da filetagem de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), em substituição (0%, 12%, 24% e 36%) a filetagem de piramutaba cozida, apresentaram melhor conversão alimentar (2,1) quando alimentados com dieta peletizada com 36% de inclusão de silagem (Padilla-Pérez et al., 2001). Dieta extrusada apresenta melhor digestibilidade e conseqüentemente menor conversão alimentar (Furuya et al., 1998),

assim uma possível dieta extrusada com inclusão de silagem pode melhorar os índices de desempenho em peixes.

Para avaliação do desempenho zootécnico em peixes, é necessário que as dietas possuam o mesmo nível de proteína e energia. A inclusão de diferentes níveis de silagem (0% a 20%) em uma dieta comercial, gerou dietas com diferentes percentuais de proteína e energia. Porém, os peixes que se alimentaram dessas dietas não apresentaram alteração no peso final, comprimento total, índice hepatossomático e lipossomático, dos peixes (Costa et al., 2022).

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) é uma variável utilizada para determinar o valor biológico de um alimento (Rodrigues, 1994). O experimento de digestibilidade “in vivo” quantifica a fração do nutriente ou da energia absorvida do alimento que não é excretada nas fezes (NRC, 2011). A digestibilidade de um ingrediente depende de dois principais fatores, da sua composição química e da capacidade do animal em digerir os seus nutrientes e energia (McGoogan e Reigh, 1996). Com o valor de CDA é possível determinar a fração digestível de cada nutriente e energia de um ingrediente, possibilitando a formulação mais precisa da dieta.

A silagem de pescado apresenta alta digestibilidade, principalmente pela origem da matéria-prima utilizada, que possui qualidade nutricional e aminoácidos essenciais aos peixes (Ferraz de Arruda et al. 2006). Pesquisas com várias espécies de peixes demonstraram que o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína da silagem de pescado pode variar de 74,71 a 96,70% (Tabela 3). Esses altos valores de digestibilidade são condizentes com os melhores resultados de desempenho zootécnico para peixes alimentados com dietas que possuíam silagem de pescado como ingrediente sem prejuízo na saúde dos peixes (Vidotti et al., 2002; Assano, 2004; Oliveira, 2006; Enke et al., 2013).

Assim, dietas produzidas com silagem de pescado, quando somadas às adequações no manejo alimentar são estratégias que podem ser adotadas como forma de otimizar a eficiência alimentar e reduzir o descarte de resíduos nitrogenados e fosfatados para o ambiente (Cyrino et al., 2010).

Tabela 2. Ganho de Peso (GP) e Conversão Alimentar (CA) de peixes alimentados com dietas com inclusão de silagens de resíduos de pescado.

Tipo de silagem	Espécie estudada	Inclusão (%)	Peso Inicial (g)	Dias de ensaio	GP (g)	CA	Referência
Fermentada de resíduos <i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	30	20,96	65	29,90	1,85	Carvalho et al., 2006
Ácida de resíduos da filetagem de tilápias	<i>Oreochromis niloticus</i>	20	0,5	180	565	1,52	Pimenta et al., 2008
Ácida de <i>Sardinella brasiliensis</i> fresca	<i>Micropterus salmoides</i>	15	22	66	14,64	1,47	Arruda et al., 2009
Ácida de resíduos da filetagem de tilápias	<i>Astyanax bimaculatus</i>	20	0,087	32	2,12	2,12	Boscolo et al., 2012
Fermentada de vísceras de <i>Piaractus brachypomus</i>	<i>Osteoglossum bicirrhossum</i>	10	6,6	14	1,63	1,50	Paz et al., 2016
Ácida de vísceras de <i>katsuwonus pelamis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	20	15,64	30	23,06	1,28	Banze et al., 2017

Tabela 3. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para proteína bruta (PB) de silagens de resíduos de pescado em dietas para peixes.

Matéria-Prima	Tipo de silagem	Espécie estudada	PB* (%)	CDA – PB** (%)	Referência
Diferentes peixes marinhos	Ácida	<i>Labeo rohita</i>	56,5	85,11	Hossain et al., 1997
<i>Sardinella brasiliensis</i> fresca	Ácida	<i>Oreochromis niloticus</i>	61,1	95,10	Goddard e Al-Yahyai, 2001
<i>Oreochromis niloticus</i>	Ácida	<i>Piaractus mesopotamicus</i>	13,5	74,71	Vidotti et al., 2002
<i>Oreochromis niloticus</i>	Biológica	<i>Piaractus mesopotamicus</i>	18,3	83,43	Vidotti et al., 2002
Resíduos de <i>Oreochromis niloticus</i>	Ácida	<i>Oreochromis niloticus</i>	54,1	92,01	Borghesi, 2004
Resíduos de <i>Oreochromis niloticus</i>	Biológica	<i>Oreochromis niloticus</i>	33,0	89,09	Borghesi, 2004
Filetagem de <i>Oreochromis niloticus</i>	Ácida	<i>Oreochromis niloticus</i>	48,3	96,70	Pimenta et al., 2008
Vísceras de <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	Ácida	<i>Oreochromis niloticus</i>	25,7	93,90	Hisano et al., 2012
Vísceras de <i>Thunnus alalunga</i>	Ácida	<i>Rhamdia quelen</i>	66,9	88,12	Banze et al., 2017

*PB – Proteína Bruta; **CDA – PB – Coeficiente de Digestibilidade Aparente da Proteína Bruta.

Para peixes, a inclusão da silagem de pescado na formulação de dietas pode dificultar o processo de extrusão (Irungu et al., 2018), devido ao seu alto teor de umidade e gordura. A tecnologia empregada em extrusoras dupla rosca permite a inclusão de altos níveis de silagem de pescado úmida no pré-condicionar com produção de péletes flutuantes. Para extrusora monorosca, é recomendado desengordurar parcialmente as silagens e utilizar baixos níveis de inclusão na mistura para que o processo de extrusão não seja prejudicado. O alto investimento em maquinários e/ou a dificuldade em incluir, misturar e extrusar rações com silagem de pescado, provavelmente, refletem o baixo interesse da indústria nesse ingrediente. Esses também são os motivos que justificam a produção de dietas peletizadas com inclusão de silagem na maioria dos estudos publicados na literatura. Porém, uma forma de facilitar o processo de extrusão é utilizar baixos níveis de inclusão de silagem, para que atuem como atrativos e palatabilizantes para peixes (Banze, 2015).

2.4 Tambaqui *Colossoma macropomum*

O tambaqui (Figura 1), pertence à ordem Characiformes, família Serrasalminidae, nativa da bacia amazônica, sua distribuição ocorre no Brasil, Bolívia, Colômbia, Peru e Venezuela, além de apresenta-se com alto valor comercial, sendo apreciada pela população brasileira (Hilsdorf, et al., 2022). É amplamente aceito em outras regiões do país, em virtude do seu excelente sabor, consistência e coloração branca da carne (Campos et al., 2015).

O tambaqui é considerado o segundo maior peixe de escamas da América do Sul, podendo alcançar mais de um metro de comprimento e peso superior a 30 kg, desenvolveu características adaptativas como prolapso labial, que consiste no aumento do lábio inferior, permitindo ao animal captar a água da camada mais superficial, a qual possui maiores concentrações de oxigênio (Gomes et al., 2010; Froese e Pauly, 2009).



Figura 1. Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1816.

A produção do tambaqui na piscicultura já está bem consolidada pois apresenta oferta de juvenis na maior parte do ano, adapta-se a diferentes sistemas de produção, tem facilidade para aceitar rações processadas e ainda a capacidade de aproveitar a produtividade primária do viveiro como alimento, pois possui numerosos rastros branquiais que permitem a filtração eficiente do fitoplâncton (Vidal Júnior et al., 1998; Gomes e Silva, 2009).

Nos últimos oito anos a produção da piscicultura vem crescendo em média anual de 5,6%, alcançando um total de 841 mil toneladas em 2021 (Peixe BR, 2022), e deste total 31,2% são de peixes nativos, liderados pelo tambaqui. No norte do país, o peixe mais consumido é o tambaqui, sendo a espécie nativa mais produzida no Brasil (Padovani et al., 2022). A produção de tambaqui no estado do Amazonas é caracterizada como pequenas produções, em sistema semi-intensivo, com baixa densidade de estocagem (7 toneladas/hectare.) e alto custo com alimentação, que corresponde em média 87,5% dos custos totais (Lima et al., 2020). O consumo de tambaqui ainda não possui uma padronização de cortes, grande parte do tambaqui adulto (2 - 5 Kg) tem sido comercializada na forma peixe fresco eviscerado, com baixo nível de processamento (Pedroza Filho et al., 2014). Nesse processo, as vísceras são descartadas.

As vísceras correspondem de 10 a 15% do peso vivo do tambaqui com peso entre 1,0 a 3,5kg (Fernandes et al., 2010; de Lima et al., 2018; Cirne et al., 2019), podendo variar devido a idade, tamanho do peixe e, especialmente, em relação ao teor de energético da ração, que influenciará no acúmulo de gordura visceral (de Lima et al.,

2018). Dessa forma, as vísceras de tambaqui podem conter teor de gordura variando de 26,6% a 29,1% (Marcos et al., 2020).

A cidade de Manaus é a capital do Brasil que mais consome tambaqui, com um consumo *per capita* de 26 quilos de tambaqui, totalizando 60 mil toneladas por ano (Araújo, 2020). Assim, são descartadas, pelo menos, nove mil toneladas por ano de vísceras de tambaqui na cidade de Manaus. Desta forma, essa pesquisa foi executada com intuito de destinar o resíduo do processamento usual do tambaqui, através da técnica de bioconversão das vísceras de tambaqui em silagem de pescado, e recomendação de inclusão da silagem na forma “*in natura*” nas rações para que não fosse necessário a secagem e, conseqüentemente, aumento da viabilidade de produção de dietas para a aquicultura.

O capítulo II denominado “Fish viscera silage: production, characterization and digestibility of nutrients and energy for tambaqui juveniles”, foi realizado com objetivo de avaliar a forma de ensilagem das vísceras de tambaqui mais adequada, além de caracterizar quimicamente as silagens produzidas, e determinar o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes e energia bruta para juvenis de tambaqui. Esse artigo foi aceito para publicação no periódico Fishes.

O capítulo III denominado “Inclusão de silagem de vísceras de peixe em dietas para juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*: qualidade física de péletes, desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e índices econômicos”, teve por objetivo avaliar a inclusão de diferentes níveis de silagem de vísceras de peixe, na qualidade física dos péletes, desempenho zootécnico, parâmetros de saúde, e índices econômicos. Esse artigo será submetido para publicação na revista Aquaculture.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Produzir e caracterizar silagens de vísceras de tambaqui *Colossoma macropomum* e utilizar como ingredientes em dietas para peixes amazônicos.

3.2 Objetivos específicos

- Testar duas metodologias de produção de silagem de pescado com as vísceras de tambaqui e caracterizar nutricionalmente as silagens de vísceras de tambaqui;
- Determinar a digestibilidade dos nutrientes e energia da silagem de vísceras de tambaqui em juvenis de tambaqui;
- Avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui alimentados com dietas formuladas com níveis crescentes de inclusão de silagem de vísceras de tambaqui;
- Avaliar os parâmetros de saúde dos peixes alimentados com dietas formuladas com inclusão de silagem de vísceras de tambaqui;
- Verificar os índices econômicos das dietas contendo silagem de vísceras de tambaqui.

4. REFERÊNCIAS

- Alves, D. R. S. 2019. Atrato-Palatabilidade para Juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Ph.D. Thesis, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, Brazil.
- Antunes, B. D. A. P. (2019). Avaliação da farinha de *Hermetia illucens* como substituto da farinha de peixe em dietas para corvina (*Argyrosomus regius*): Crescimento, digestibilidade, composição corporal e aceitação do produto final pelo consumidor. Dissertação (Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição) - Universidade do Porto. Porto - Portugal.
- Araújo, H. D. S. 2020. Sorgo sem tanino em dietas de juvenis de tambaqui. 2020. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.
- Arruda, L. F.; Borghesi, R.; Oetterer, M. 2007. Use of fish waste as silage: a review. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 50, n. 5 p. 879-886.
- Arruda, L. F.; Borghesi, R.; Oetterer, M. et al. 2001. O preparo da silagem de pescado. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, v. 11, n. 65, p. 34-36.
- Arruda, L. F.; Borguhesi, R; Portz, L.; Cyrino, J.E.P; Oetterer, M. 2009. Fish silage in black bass (*Micropterus salmoides*) feed as an alternative to fishmeal. Brazilian Archives of Biology and Tecnology, v. 52, n. 5, p. 1261-1266.
- Assano, M. 2004. Utilização de diferentes fontes e níveis de proteína no crescimento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2004. 34 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal-SP.
- Backhoff, H. P. 1976. Some chemical changes in fish silage. International Journal of Food Science & Technology, v. 11, n. 4, p. 353-63.
- Banze, J. F. Silagem ácida de vísceras de atum em dietas para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*): digestibilidade e desempenho em diferentes níveis de substituição à farinha de peixe. 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC.
- Banze, J. F.; Silva, M. F. O.; Enke, D. B. S.; Fracalossi, D. M. 2017. Acid silage of tuna viscera: production, composition, quality and digestibility. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 44 (vol. esp.), p. 24 - 34.
- Batalha, O. D. S.; Alfaia, S. S.; Cruz, F. G. G.; Jesus, R. S. D.; Rufino, J. P. F.; Costa, V. R. 2017. Digestibility and physico-chemical characteristics of acid silage meal made

- of pirarucu waste in diets for commercial laying hens. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 39, n. 3, p. 251-257.
- Beerli, E. L.; Beerli, K. M. C.; Logato, P. V. R. 2004. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 28, n. 1, p. 195-198.
- Bobbio, Paulo A.; Bobbio, Florinda Orsatti. *Química do processamento de alimentos*. 3 ed. Varela: São Paulo. 2001. p. 41-44.
- 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 f. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo. Piracicaba-SP.
- Boscolo, W. R.; Feiden, A.; Signor, A. A.; Klein, S.; Bittencourt, F.; Corrêia, A. F. 2012. Resíduos da indústria de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na forma de farinhas e silagem para a alimentação de lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba*, v. 10, n. 2, p. 189-195.
- Campos, J. L.; Ono, E. A.; Istchuk, P. I. 2015. A Cadeia de Produção e o Preço do Tambaqui. *Panorama da Aquicultura*. Rio de Janeiro, v. 25, n. 149, p. 42- 45.
- Carvalho, G. G. P. D.; Pires, A. J. V.; Veloso, C. M.; Silva, F. F. D.; Carvalho, B. M. A. D. 2006. Silagem de resíduo de peixes em dietas para alevinos de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 1, p. 126-130.
- Cirne, L. G. A.; da Silva, J. R.; de Souza, W. S.; Brito, P. F.; Feltran, R. D. B.; Pereira, S. L. A.; Gomes, F. E.; de Melo, D. R. 2019. Características morfométricas e da carcaça de tambaqui abatidos com diferentes pesos. *Magistra, Cruz das Almas - BA*, v. 30, p. 160 -167.
- Costa, M. N. F.; Furtado, Y. I. C.; Monteiro, C. C.; Brasiliense, A. R. P.; Yoshioka, E. T. O. 2022. Physiological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets supplemented with silage from fish and vegetables residues. *Brazilian Journal of Biology*, 84, 1-7. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.255493>
- Cyrino, J. E. P.; Bicudo, A. J. A.; Sado, R. Y.; Borghesi, R.; Dairiki, J. K. 2010. A piscicultura e o ambiente - o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 68-87.
- Dauksas, E.; Falch, E.; Šližytė, R.; Rustad, T. 2005. Composition of fatty acids and lipid classes in bulk products generated during enzymic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 8, p. 2659-2670.

- Davies, S. J.; Guroy, D.; Hassaan, M. S.; El-Ajnaf, S. M.; El-Haroun, E. 2020. Evaluation of co-fermented apple-pomace, molasses and formic acid generated sardine based fish silages as fishmeal substitutes in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) production. *Aquaculture*, v. 521, p. 735087.
- de Lima, L. K. F.; dos Santos Noletto, S.; dos Santos, V. R. V.; de Bem Luiz, D.; Kirschnik, P. G. 2018. Rendimento e composição centesimal do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por diferentes cortes e categorias de peso. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA*, v. 12, n. 2, p. 223-235.
- Delmaschio, I. (2018). Enzimas na alimentação de animais monogástricos-Revisão de literatura. *Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP*, v. 2, n. 1, p. 06-20.
- Disney, J. G.; James, D. 1980. Fish silage production and its use. FAO. Fisheries Report, Roma, v. 230, p.105.
- Enke, D. B. S.; Calheiros, M. N.; Silvestrin, M.; de Oliveira Treptow, R.; de Souza Soares, L. A. 2010. Características químicas e sensoriais da carne de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix japonica*) alimentadas com diferentes fontes protéicas. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 4, n. 2, p. 34-50.
- Enke, D. B. S.; Lopes, P. R. S.; De Britto, A. C. P.; Rocha, C. B.; Pouey, J. L. O. F. 2013. Desempenho de alevinos de jundiá alimentados com silagem de rejeito de peixe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n. 8, p. 1124-1127.
- FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Topics Fact Sheets. Text by Jean- Francois Pulvenis. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome, Italy. Disponível em: <<https://www.fao.org/fishery/en/facp/mex?lang=en> Acesso em: novembro de 2022.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.
- FAO. 2022. The state of world fisheries and aquaculture. Towards blue transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Fernandes, T. R. C.; Doria, C. R. C.; Menezes, J. T. B. 2010. Características de carcaça e parâmetros de desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*) em diferentes tempos de cultivo e alimentado com rações comerciais. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 1, p. 45-52.
- Ferraz de Arruda, L.; Borghesi, R.; Brum, A.; Regitano D'Arce, M.; Oetterer, M. 2006. Nutritional Aspects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) silage. *Food Science and Technology*, v. 26, n. 4, p. 749-753.

- Froese R.; Pauly D. FishBase. 2009. World Wide Web electronic publication.
- Furuya, W. M., Souza, S. R. D., Furuya, V. R. B., Hayashi, C., & Ribeiro, R. P. (1998). Dietas peletizada e extrusada para machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), na fase de terminação. *Ciência Rural*, 28, 483-487.
- Goddard, J. S.; Al-Yahyai, D. S. S. 2001. Chemical and nutritional characteristics of dried sardine silage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, v. 10, n. 4, p. 39-50.
- Godoy, H. B. R.; de Carvalho Landell Filho, L.; Sobrinho, E. B.; de Godoy, M. M. 2008. O uso da silagem de subprodutos da filetagem de peixe na alimentação de suínos em crescimento parâmetros séricos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, n. 6, p. 429-436.
- Gomes, L. C.; C. R. Silva. 2009. Impact of pond management on tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier), production during growth-out phase. *Aquaculture Research*, v. 40, n. 7, p. 825-832.
- Gomes, L. C.; Simões, L. N.; Araújo-Lima, C. A. R. M.; Baldisserotto, B. In: Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª. Ed. Editora UFSM, Santa Maria. 2010. p.175-204.
- Guimarães, C. C.; Maciel, I. V.; Silva, A. F.; Lopes, A. F.; Carpio, K. C. R.; da Silva, A. J. I. 2021. Aspectos biotecnológicos da silagem biológica de resíduos do Tambaqui. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, v. 14, n. 1, p. 1-12.
- Hilsdorf, A. W. S., Hallerman, E., Valladão, G. M. R., Zaminhan-Hassemer, M., Hashimoto, D. T., Dairiki, J. K., Takahashi, LS, Albergaria, FC, Gomes, MES, Venturieri, RLL, Moreira, RG, Cyrino, JEP, 2022. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture*, 14: 993-1027.
- Hisano, H.; Ishikawa, M. M.; Portz, L. 2012. Produção de silagem ácida a partir de vísceras de surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) e avaliação da digestibilidade para tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 13, n. 3, p. 872-879.
- Honorato, C.; Frizzas Ganga, O.; Carneiro, D. J. 2012. Digestibilidade da silagem de peixe com diferentes tempos de armazenamento para alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde, Campo Grande*, v.16, n. 5, p 85-95.
- Hossain, M. A.; Nahar, N.; Kamal, M. 1997. Nutrient digestibility coefficients of some plant and animal protein for Rohu (*Labeo rohita*). *Aquaculture*, v. 151 n. 1, p. 37-45.

- Irungu, F. G.; Mutungi, C. M.; Faraj, A. K.; Affognon, H.; Kibet, N.; Tanga, C.; Fiaboe, K. K. M. 2018. Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and adult cricket (*Acheta domesticus*) meals. *Journal of Insects as Food and Feed*, v. 4, n. 1, p. 19-30. <https://doi.org/10.3920/JIFF2017.0008>
- Johnsen, F. 1981. Fish viscera silage as a feed for ruminants. Norway, 1981. Tese (Ph.D). Agriculture University of Norway. Norway.
- Lessi, E.; Lupín, H.M.; Carneiro, A.R.X. Obtencion de ensilado biológico. In: Consulta de Expertos Sobre Tecnologia de Productos Pesqueros En América Latina, 2. Montevideo, Uruguay, 11-15 de Diciembre de 1989. FAO. FII 819/RLAC/2, 1989.
- Lima, C.A.S., Machado Bussons, M.R.F., de Oliveira, A.T., Aride, P.H.R., de Almeida O'Sullivan, F.L., & Pantoja-Lima, J. 2020. Socioeconomic and profitability analysis of Tambaqui *Colossoma macropomum* fish farming in the state of Amazonas, Brazil. *Aquaculture Economics & Management*, 24(4), 406-421.
- Lupín, H. M. 1983. Seminário sobre manipuelo, procesamiento, mercadeo y distribución de los productos de la pesca continental en America Latina: ensilado biológico de pescado una propuesta para la utilización de residuos de la pesca continental en America Latina. In: Comision de pesca continental México, D.F.: COPESCAL.
- Magalhães, A.O.; Mársico, E.T.; Soares Júnior, M.S.; Monteiro, M.L.G. 2019. Evaluation of the technological quality of snacks extruded from broken grains of rice and mechanically separated tilapia meat flour. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 45, n. 2, p. 429.
- Marcos, R.; Correa Filho, R. A.; Abreu, J. S.; Seraphim, G. N.; Silva, A. C.; Fornari, D. C.; Ribeiro, R. P.; Ferreira, Y. A.; Gama K. F. S.; Povh, J. A. 2020. Weight and body yield of selectively bred tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in different environments. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 92, n. 1, p. e20180675.
- Mcgoogan, B.B.; Reigh, R.C. 1996. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture*, v. 141, n. 3-4, p. 233-244.
- Mullen, A.M.; Álvarez, C.; Zeugolis, D.I.; Henschion, M.; O'Neill, E.; Drummond, L. 2017, Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. *Meat Science*, v. 132, p. 90 – 98.
- National Research Council - NRC. 2011. Nutrient Requirements of Fish. Washington, National Academy Press. 376p.

- Oetterer, M. 2009. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 5, n. 1.
- Ogawa, M.; Maia, E. L. 1999. Manual de Pesca. Ciência e Tecnologia do pescado. v. 1, p. 371-374.
- Oliveira, A. L. T.; Sales, R. O.; Bruno, F. H. S.; Freitas, J. B. S. 2013. Avaliação microbiológica da silagem biológica de resíduos de pescado das indústrias de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 7, n. 2, p. 68-85.
- Oliveira, M. M. D.; Pimenta, M. E. D. S. G.; Camargo, A. C. D. S.; Pimenta, C. J.; Logato, P. V. R. 2008. Silagem ácida de resíduos da filetagem de tilápias para girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802): Digestibilidade e desempenho. Ciência e Agrotecnologia, v. 32, n. 2, p. 618-625.
- Oliveira, M.M.; Pimenta, M.E.S.G.; Pimenta, C.J.; Camargo, A.C.S.; Fiorini, J.E.; Logato, P.V.R. 2006. Digestibilidade e desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de silagem ácida de pescado. Ciência e Agrotecnologia, v. 30, n. 6, p. 1196-1204.
- Oliveira, V. M.; Assis, C. R. D.; Herculano, P. N.; Cavalcanti, M. T. H.; de Souza Bezerra, R.; Figueiredo, A. L. (2017). Collagenase from smooth weakfish: extraction, partial purification, characterization and collagen specificity test for industrial application. Boletim do Instituto de Pesca, v. 43, n. 1, p. 52-64.
- Olsen, R. L.; Hasan, M. R. 2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. Trends in Food Science & Technology, v. 27, n. 2, p. 120-128.
- Olsen, R.; Toppe, J. 2017. Fish silage hydrolysates: not only a feed nutriente, but also a useful feed additive. Trends in Food Science & Technology, v. 66, p. 93-97.
- Pacheco, M. G. F.; Gonzaga, L. F.; Eliomar, J. J. S.; Neto, O. J. A. G.; Gomes, W. C. 2019. Avaliação da qualidade do adubo orgânico produzido pelo processo de compostagem, a partir dos resíduos de pescado gerados no mercado do peixe em São Luís - MA. Revista Geama. v. 5, n. 2, p. 43-48.
- Padilla-Pérez, P.; Pereira-Filho, M.; Mori-pinedo, L. A.; de Oliveira-Pereira, M.I. 2001. Influência do ensilado biológico de peixe e do resíduo de peixe cozido no crescimento e na composição corporal de alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Acta Amazônica, 31, 501-501. <https://doi.org/10.1590/1809-43922001313507>

- Padovani, J. V.; Valiatti, T. B.; Rosa, N. B.; Gomes, E. M.; dos Reis, S.; Romão, N. F.; Sobral, F. D. O. S. 2022. Avaliação microbiológica de peixe tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado em feira livre no município de Ji-Paraná, Rondônia. Revista Saúde e Desenvolvimento, v. 16, n. 24, p. 95-108.
- Paz, A.M.; Meneses, R.M.; López, M.J. 2016. Digestibility of diets with flour fish silage for the growing of arawana (*Osteoglossum bicirrhosum*). Revista MVZ Córdoba. v. 21, n. 1, p. 5177-5188.
- Pedroza Filho, M. X.; Rodrigues, A. P. O.; Rezende, F. P. 2016. Dinâmica da produção de tambaqui e demais peixes redondos no Brasil. Boletim Ativos da Aquicultura, v. 7, p. 1-5.
- PEIXE BR - Associação Brasileira da Piscicultura - Anuário Peixe BR da Piscicultura. 2022. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>> Acesso em: março de 2022.
- Pimenta, M. E. D. S. G.; Oliveira, M. M. D.; Logato, P. V. R.; Pimenta, C. J.; Freato, T. A. 2008. Desempenho produtivo e digestibilidade pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) alimentada com dietas suplementadas com níveis crescentes de silagem ácida de pescado. Ciência e Agrotecnologia, v. 32, n. 6, p.1953-1959.
- Raa, J.; Gildberg, A. 1982. Fish Silage; a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. v. 16, n. 4, p. 383-419.
- Reinicke, F.; Vieira, E. O.; Venturoso, O. J.; Silva, C. C.; Santos, T. R.; Saturnino, K. C.; Vieira, N. T.; Porto, M. O.; Ferreira, E. 2019. Silagem ácida de vísceras de tambaqui na alimentação de cães domésticos. Ars Veterinaria, v. 35, n. 2, p. 86-92.
- Rocha, Â.M.A. 2019. Desempenho e exigência de proteína na dieta de alevinos de Pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). Dissertação (Mestrado em zootecnia), Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA.
- Rodrigues, A.M.P. 1994. Digestibility studies in fish: a review. Instituto de Zoologia Dr. Augusto Nobre, Série Monografias, v. 6, p. 29.
- Rossetto, J. F.; Signor, A. 2021. Inovações tecnológicas empregadas em coprodutos gerados pelo processamento do pescado. Pubvet, v. 15, p. 134.
- Sales, R. O. Caracterização química e avaliação nutricional da silagem da despesca da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) em dietas experimentais com ratos. 1995. Tese de Doutorado (Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

- Sales, R.O.; Oliveira, A.C. 2015. Evaluation of chemical composition, mineral, amino acid profile and fatty acid acid silage of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) cultured in Indaiatuba - SP. Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity, v. 9, n. 3, p. 348-363.
- Shabani, A.; Boldaji, F.; Dastar, B.; Ghoorchi, T.; Zerehdaran, S. 2018. Preparation of fish waste silage and its effect on the growth performance and meat quality of broiler chickens. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 98, n. 11, p. 4097-4103. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8926>
- Silva, M. F. D. Elaboração e caracterização de silagem ácida de resíduos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). 2015. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.
- Stevens, J. R.; Newton, R. W.; Tlusty, M.; Little, D. C. 2018. The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilisation. Marine Policy, v. 90, p. 115-124.
- Valério, A.C.R. Elaboração de silagem enzimática de pescado como alternativa ao processo tradicional. 1994. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Universidade de São Paulo. Piracicaba-SP.
- Van Wyk, H.J.; Heydeneych, C.M.S. 1985. The production of naturally fermented fish silage using various lactobacilli and different carbohydrate sources. Journal of Science Food and Agriculture. v. 36, p. 1093-1103.
- Vidal Júnior, M. V.; Donzele, J. L.; Santos, L. C.; Camargo, A. C. S.; Andrade, D. R.; 1998. Níveis de proteína bruta para o tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 27, n. 3, p. 421-426.
- Vidotti, R. M. 2011. Silagem de Pescado. In: Alex Augusto Gonçalves. (Org.). Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. São Paulo: Editora Atheneu, p. 399-406.
- Vidotti, R. M.; Carneiro, D. J.; Macedo-Viegas, E. M. 2002. Acid and fermented silage characterization and determination of apparent digestibility coefficient of crude protein for pacu *Piaractus mesopotamicus*. Journal World Aquaculture Society, v. 33, p. 57-62.
- Vidotti, R.M. Produção e utilização de silagens de peixe na nutrição do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). 2001. 65 f. Tese (Doutorado em Aquicultura), Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal-SP.

Ximenes Carneiro, A.R.X. Elaboração e uso de ensilado biológico de pescado na alimentação de alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). 1991. 81 f. Dissertação (Mestrado) - INPA. FUA. Manaus-AM.

CAPÍTULO II

Fish Viscera Silage: Production, Characterization, and Digestibility of Nutrients and Energy for Tambaqui Juveniles

Santana, T. M., Dantas, F. D. M., Monteiro Dos Santos, D. K., Kojima, J. T., Pastrana, Y. M., De Jesus, R. S., & Gonçalves, L. U. (2023). Fish Viscera Silage: Production, Characterization, and Digestibility of Nutrients and Energy for Tambaqui Juveniles. Fishes, v. 8, n. 2, p. 111. <https://doi.org/10.3390/fishes8020111>

5. Abstract

Fish viscera can be an important source of protein and energy for aquafeed, and its use contributes to circular aquaculture. The aim of this study was to produce acid and fermented silage from fish viscera to determine their nutritional value and the apparent digestibility coefficient of nutrients and energy for juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). An acid silage and three fermented silages with different sources of carbohydrates (molasses, wheat bran, and cassava waste) were produced with 0.25% sorbic acid as an antifungal in the formulation. Silages presented an average of 55% dry matter, 62.9% lipids, and 12% crude protein. Leucine and lysine predominated as essential amino acids in the acid silage and fermented silages. Fish viscera silages presented EPA and DHA content from 5.4 to 17.8 and 1.7 to 8.9 mg.g⁻¹ of lipids, respectively. The apparent digestibility coefficient (ADC) (indirect method) was above 82% for gross energy for all the formulations. The ADCs for protein were similar for the fermented silages, with a maximum 92% level for the fermented wheat bran silage. The bioconversion of fish viscera into silage makes it an energy ingredient for aquafeed that is well digested by tambaqui juveniles.

Keywords: fish waste; neotropical fish; protein hydrolysis

6. INTRODUCTION

World aquaculture produced 88 million tons of fish for consumption in 2020, of which 99.8% was destined for human consumption [1]. While processing fish, around 20-80% of waste is generated. Improper disposal of fish waste can damage natural resources, tourism, and local life with serious environmental, economic, and social impacts [2].

However, fish waste is a rich source of protein and essential amino acids, lipids, essential fatty acids, collagen, vitamins, and minerals [3]. When fish waste is correctly processed, it can become a coproduct with potential use as ingredients for aquafeed and pet food industries [4].

Fish viscera silage is a hydrolyzed product preserved by the addition of acids or by microbial fermentation induced by carbohydrates. The liquefaction of the product is the result of the action of the proteolytic enzymes naturally present in fish and available when the original raw material is milled and homogenized [3]. Acid silage is produced by the inclusion (average of 3%) of organic or inorganic acids or a blend of both acids in fish waste [5,6]. Fermented silage is produced by adding microorganisms from the lactic acid group (*Lactobacillus* sp. and *Lactococcus* sp. or yeasts of the genus *Hansenula* and *Saccharomyces*) that use the carbohydrate source added to fish waste. The lactic acid formation lowers the pH of silage and, consequently, inhibits the proliferation of pathogenic and deteriorating bacteria [4,7].

Silage provides partially hydrolyzed protein, peptides, free amino acids, unsaturated fatty acids, vitamins, and minerals [3]. Silage is an easy-to-produce, low-cost technology that can convert fish waste into a feed ingredient for aquaculture [8]. The crude protein digestibility of *Katsuwonus pelamis* viscera silage is 88.1% for *Rhamdia quelen*, which is similar to that of fish meal (88.9%) [6].

Tambaqui, *Colossoma macropomum*, is the most produced native species in Brazilian fish farming. Tambaqui production has gone from 13 thousand tons in 2000 to 100.6 thousand tons in 2020 [9]. Tambaqui production is well established in other Latin American countries such as Bolivia, Colombia, Panama, Peru, the Dominican Republic, Venezuela, and Suriname. It is also produced in the United States, Mexico, China, Thailand, and the Philippines [10,11]. Tambaqui is preferably marketed eviscerated, and its viscera correspond to 10-15% of its body weight [12], which can be used for silage production. The aim of this study was to produce fermented and acid silages from tambaqui viscera, which were physicochemically characterized, and the apparent digestibility coefficient of nutrients and energy was determined for tambaqui juveniles.

7. MATERIALS AND METHODS

The study was carried out at the Aquaculture Experimental Station of the Brazilian National Institute for Research in the Amazon, Manaus, Amazonas, Brazil. All the experimental procedures were conducted in accordance with the ethical principles

adopted by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA). They were approved by the Ethical Committee for the Use of Animals (CEUA) of INPA (protocol No. 0036/2020).

7.1 Production of Fish Viscera Silage

Viscera (liver, stomach, intestine, swim bladder, kidney, spleen, and gonads) were obtained after evisceration processing of tambaqui in a slaughterhouse located in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. Fish viscera were collected and ground in a meat grinder (5 mm). One fish viscera sample was lyophilized and analyzed for proximate composition according to the methods standardized by AOAC [13], amino-acid composition (Item 2.2), and fatty-acid composition (Item 2.3). Four silage types were formulated, namely, acid silage (acid VS), fermented molasses silage (molasses VS), fermented wheat bran silage (wheat VS), and fermented cassava waste silage (cassava VS), in four replicates (plastic containers with a useful volume of 20 L). The acid silage was produced with a 3% (weight/volume) mixture of hydrochloric acid and citric acid at the 2:1 ratio. The fermented silages were produced with 15% carbohydrates (weight/weight) and 5% full-fat out-of-date yogurt (weight/volume). Sorbic acid was added at a rate of 0.25% (weight/weight) to all the silage formulations as an antifungal (Figure 2).

Silages were homogenized daily for 7 days. Then, pH and temperature were measured (TECNOPON, mPA-210, Piracicaba, SP, BR). At the end of the seven storage days, silage samples were collected to analyze proximate [13], fatty-acid, and amino-acid composition.

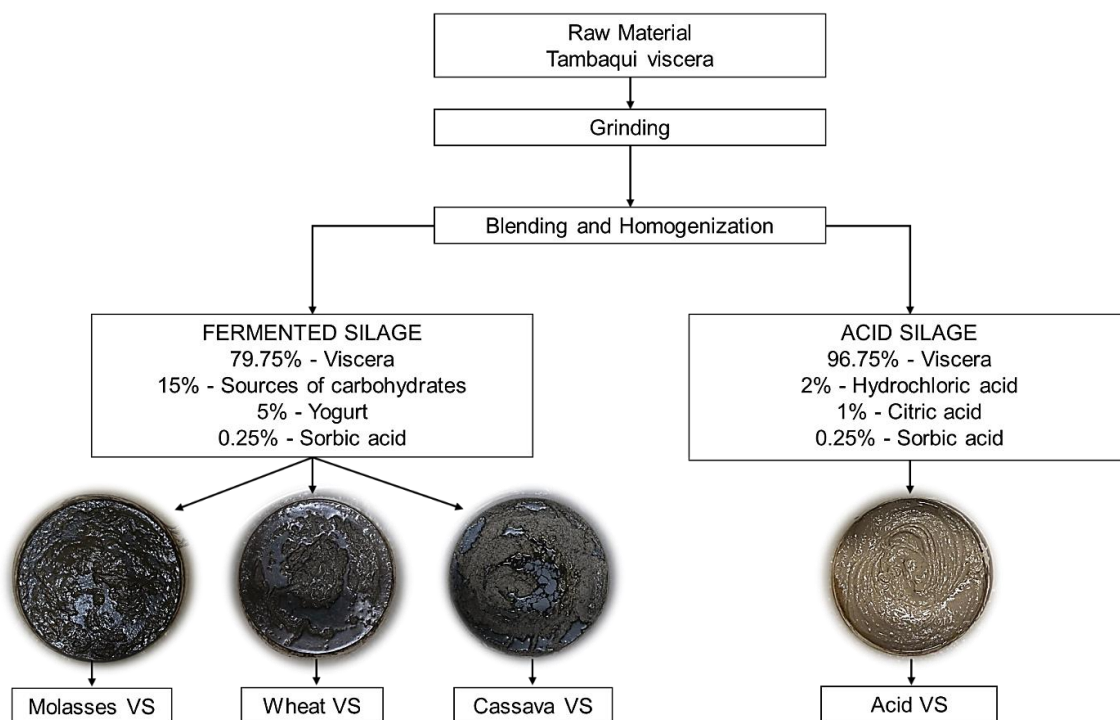


Figure 2. Flow chart of fermented and acid silage production. Molasses VS fermented molasses silage; wheat VS fermented wheat bran silage; cassava VS fermented cassava waste silage; acid VS acid silage.

7.2 Composition of Amino Acids

The nitrogen contents were analyzed in a nitrogen distiller (Model TE-036/1, Tecnal, Piracicaba, SP, BR) using the Kjeldahl method. For amino acids, 100 mg of sample was hydrolyzed with 6 M HCl at 110 °C for 24 h, followed by neutralization with 4 mL of 25% (weight/volume) NaOH and cooled to room temperature. The mixture was then equalized to 50 mL volume with sodium citrate buffer (pH 2.2) and analyzed using an amino-acid analyzer (1260 Infinity LCs Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Tryptophan was determined by the colorimetric method of Spies [14] using a standard curve of pure tryptophan (Merck KGaA, Darmstadt, HE, GE) and detected at 590 nm with a spectrophotometer (DU-640 UV/Vis-Beckman Coulter, Basking Ridge, NJ, USA). Cystine and methionine were analyzed as cysteic acid and methionine sulfone by oxidation with performic acid for 16 h at 0 °C and neutralization with hydrobromic acid prior to hydrolysis.

7.3 Composition of Fatty Acids

Total lipid samples were determined using the method of Bligh and Dyer [15]. Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared using the method proposed by Santos

Júnior et al. [16] for all samples of fish viscera and silages. Methyl esters were separated by gas chromatography using a Thermo Scientific Trace Ultra Gas Chromatograph (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) fitted with a flame ionization detector (FID) and fused silica capillary column (100 m × 0.25 mm i.d., 0.25 µm cyanopropyl CP-7420 Select Fame). The operation parameters were as follows: detector temperature, 240 °C; injection port temperature, 230 °C; column temperature, 165 °C for 18 min, programmed to increase at 4 °C·min⁻¹ up to 235 °C, with a final holding time of 14.5 min; carrier gas, hydrogen at 1.2 mL·min⁻¹; nitrogen was used as the make-up gas at 30 mL·min⁻¹; split injection at 1:80 ratio. For identification, the retention times of the fatty acids were compared to those of standard methyl esters (Sigma, St. Louis, MO, USA). Retention times and peak area percentages were automatically computed by the Software Chronquest 5.0. Quantification of fatty acids (mg·g⁻¹ of total lipids) was performed using tricosanoic acid (23:0) methyl ester (Sigma-Aldrich, USA) as an internal standard [17]. Theoretical FID correction factor values were used to obtain concentration values of fatty acids in mg·g⁻¹ of total lipids using the following equation: $FAs = [(AX \times WIS \times CFX)/(AIS \times CFAE \times WX)]$, where FAs denote the fatty acids in mg·g⁻¹ of total lipids, AX is the peak area (fatty acids), WIS is the standard weight (mg), CFX is the theoretical correction factor, AIS is the standard peak area (23:0), CFAE is the necessary conversion factor in order to express results in mg of fatty acid rather than as methyl ester, and WX is the sample weight (g).

7.4 Determination of the Apparent Digestibility Coefficient (ADC)

The determination of the apparent digestibility coefficient (ADC) was performed using the indirect method of decanting in a water column described by Cho [18] and Bureau [19]. A reference diet (RD; Table 4) and test diets (TDs) were formulated by replacing 30% of the RD with the experimental silages and 69.5% RD, using 0.5% chromium oxide III (Cr₂O₃) as a marker in the TDs [19].

The *in vivo* digestibility assay for tambaqui juveniles was performed according to the methodology recommended by the NRC [20].

Table 4. Formulation and proximate composition of the reference diet of the in vivo digestibility assay.

Ingredient (%)	Reference diet	Molasses VS	Wheat VS	Cassava VS	Acid VS
Soybean meal	47.3	33.04	33.04	33.04	33.04
Corn meal	39.2	27.38	27.38	27.38	27.38
Wheat meal	6.3	4.40	4.40	4.40	4.40
Meat and bone meal	5.0	3.49	3.49	3.49	3.49
Molasses VS	-	30.0	-	-	-
Wheat VS	-	-	30.0	-	-
Cassava VS	-	-	-	30.0	-
Acid VS	-	-	-	-	30.0
Vitamin/mineral supplement ^a	1.0	0.70	0.70	0.70	0.70
Dicalcium phosphate	0.5	0.35	0.35	0.35	0.35
Salt	0.1	0.07	0.07	0.07	0.07
DL-Methionine	0.08	0.06	0.06	0.06	0.06
BHT	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
Chromium oxide III	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Proximate composition (%)					
Dry matter	96.10	96.63	96.97	96.83	96.97
Crude protein	31.90	28.43	29.07	28.90	29.10
Crude lipid	3.40	16.05	14.15	14.35	19.20
Crude fiber	4.16	3.72	4.54	3.61	7.75
Ash	8.05	7.05	7.00	6.95	6.95
Calcium	0.54	0.60	0.68	0.65	0.63
Phosphor	0.42	0.39	0.38	0.38	0.39
Gross Energy (kcal·100 g ⁻¹) ^b	310.23	331.19	305.00	327.40	334.63

^aVitamin and mineral supplement for fish, values per kg of feed: folic acid (250 mg), pantothenic acid (5000 mg), antioxidant (600 mg), biotin (125 mg), cobalt (25 mg), copper (2000 mg), iron (13,820 mg), iodine (100 mg), manganese (3750 mg), niacin (5000 mg), selenium (75 mg), vitamin A (1,000,000 UI), vitamin B1 (1250 mg), vitamin B12 (3750 mg), vitamin B2 (2500 mg), vitamin B6 (2485 mg), vitamin C (28,000 mg), vitamin D3 (500,000 UI), vitamin E (28,000 UI), vitamin K3 (500 mg), and zinc (17,500 mg). ^bGross energy analyzed using IKA 2600 bomb calorimeter.

Juvenile tambaqui (82.3 ± 8.2 g) were distributed in 15 conical fiberglass tanks adapted for feces collection (170 L; $n = 3$; 10 fish·tank⁻¹) in three replicates for the RD and TDs (molasses VS, wheat VS, cassava VS, and acid VS) and acclimated to laboratory conditions for 10 days. The conical tanks formed part of an open system with water renewal from an artesian well and constant aeration. Fish were fed until apparent satiation three times a day (8:00 a.m., 12:00 p.m., and 4:00 p.m.), and its fecal material was collected once a day for 21 days. One hour after the last meal, tanks were cleaned, and a container (50 mL) was fitted to the lower conical tank end to collect faces [21]. At 7:00 a.m. the following day, feces were collected and stored in a freezer (-20 °C) for the later lyophilization and bromatological analysis [13] and to determine chromium III oxide content [22]. The standard curve was calculated from the nitro-perchloric digestion of the

samples with known chromium III oxide concentrations. Chromium III oxide concentrations were measured using a direct reading spectrophotometer (DR6000, HACH Company, Loveland, CO, USA), adjusted to a wavelength of 350 nm. The ADCs of nutrients and energy (dry matter basis) of both RD and TDs were calculated according to the following equation:

$$\text{ADC (\%)} = 100 - [100 \times (\text{ChD})/(\text{ChF}) \times (\text{NF})/(\text{ND})],$$

Where: ChD is the percentage chromium (III) in the diet, ChF is the percentage chromium(III) in feces, NF is the percentage nutrients (or energy) in feces, and ND is the percentage nutrients (or energy) in the diet.

The ADCs of the nutrients and energy of silages (molasses VS, wheat VS, cassava VS, and acid VS) were calculated using the equation proposed by Bureau and Hua [23]:

$$\text{ADC}_i (\%) = \text{ADC}_{\text{td}} + (\text{ADC}_{\text{td}} - \text{ADC}_{\text{rd}}) \times [(r \times \text{Nrd})/(i \times \text{Ni})],$$

Where: ADC_i is the apparent digestibility coefficient of the ingredient, ADC_{td} is the apparent digestibility coefficient of the TD nutrient, ADC_{rd} is the apparent digestibility coefficient of the RD nutrient, r is the proportion of the RD in the TDs (0.65), i is the proportion of the test ingredient in the TDs (0.3), Nrd is the nutrient concentration in the RD (%), and Ni is the nutrient concentration in the test ingredient (%).

7.5 STATISTICAL ANALYSES

Statistical analyses were performed using the GraphPad Prism software (version 6.0). The percentage data were previously transformed using square root arcsine. The assumptions of parametric statistics were verified by the tests of normality (Kolmogorov–Smirnov) and homogeneity of variances (Bartlett). A one-way analysis of variance (ANOVA) was used and when a statistical difference was detected, and the treatments were compared using the Tukey test. In all tests, significance was observed at $p < 0.05$, and all data are presented as the mean \pm standard deviation.

8. RESULTS

The pH of silages lowered on the storage day 1 and stabilized on days 3, 4, and 5 for cassava VS, wheat VS, and molasses VS, respectively (Figure 3). The acid silage had the lowest pH value on storage day 1, which stabilized from storage day 2.

The highest silage temperature value ($p < 0.05$) was reached on storage day 4 (Figure 3). The temperature in the molasses VS was 30.0 ± 0.47 °C on day 1, increased

to 35.9 ± 1.22 °C on day 4, and decreased to 29.28 ± 0.10 °C on day 7. In wheat VS and cassava VS, the highest temperature was recorded on storage day 4 (33.9 °C and 33.1 °C respectively). The initial acid VS temperature was 29.6 ± 0.17 °C, with the highest value (32.2 ± 0.98 °C) on day 4, before stabilizing at 29.2 ± 0.39 °C.

At the end of the ensiling period, different degrees of fish viscera dissolution were observed. At the beginning of silage storage, all the silages had a dense to solid consistency. As the days went by, they gradually changed to a pasty consistency. On day 7, acid VS presented a liquid and well-dissolved consistency, and the molasses VS consistency was intermediate, between liquid and pasty. Wheat VS and cassava VS showed a pasty consistency.

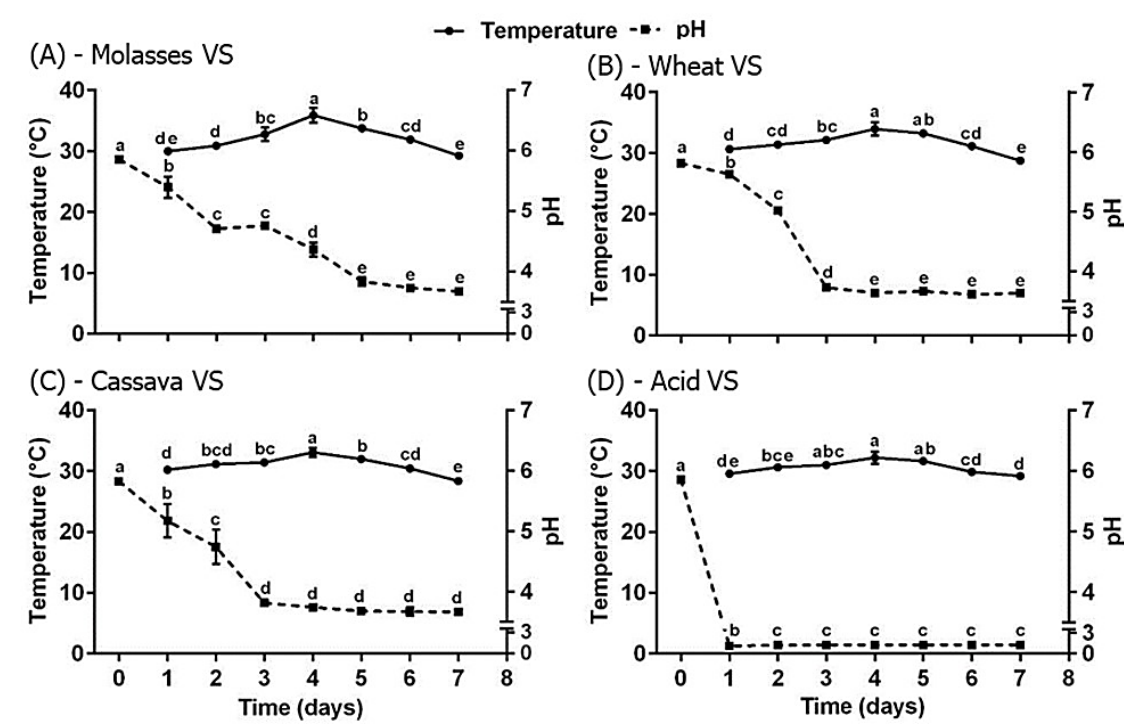


Figure 3. Temperature and pH of viscera silage stored for 7 days: (A) molasses VS; (B) wheat VS; (C) cassava VS; (D) acid VS.

Wheat VS had the highest dry matter content ($62.4\% \pm 0.9\%$), while molasses VS had the lowest ($45.8 \pm 0.4\%$) (Table 5). Tambaqui viscera had a higher crude protein content (30.8%) compared to the other silages. The percentage of crude protein in acid VS did not differ ($p > 0.05$) from that of molasses VS and wheat VS, but was 3.5% higher ($p < 0.05$) than in cassava VS. Fermented silages molasses VS and wheat VS contained the highest crude protein content (13.1% and 11.9%). Tambaqui viscera contained a high lipid content (29.4%), as reflected in the high lipid content of silages (around 60%).

Wheat VS and cassava VS (5.41% and 9.5%, respectively) showed crude fiber content from the wheat bran and cassava waste, respectively. The fermented silages had the lowest ash content (1.7-5.3%).

All the essential amino acids for fish were present in tambaqui viscera and, consequently, in all the produced silages (Table 6). In the fermented silages, the essential amino acids present in a higher proportion, in decreasing order, were leucine, arginine, and lysine. The most frequently detected nonessential amino acid in all silages was glutamic acid. The contents of alanine and tryptophan amino acids did not differ ($p > 0.05$) among the produced silages.

The fatty acids present in the fermented silages were predominantly unsaturated fatty acids (Table 7). Acid VS presented the highest content of saturated fatty acids. Molasses VS showed the widest variation between the contents of saturated fatty acids (SFAs) and monounsaturated fatty acids (MUFAs), with 20.1% higher MUFAs versus SFAs, unlike acid VS, which contained 6.2% more SFAs than MUFAs. Oleic (18:1n-9) and linoleic (18:2n-6) fatty acids showed the highest concentration between MUFAs and polyunsaturated fatty acids (PUFAs), respectively. Silages had a lower n-6:n-3 ratio compared to tambaqui viscera.

The ADC of viscera silages for juvenile tambaqui was above 84% for nutrients, 76% for calcium and phosphorus, and 82% for gross energy (Table 8). Wheat VS showed the highest ADC for crude protein (91.94%). All the silages presented a calcium ADC value of around 90%, except for molasses VS with an ADC of 76.45%. The ADCs of dry matter, lipids, non-nitrogen extract, gross energy, and phosphorus were not significantly influenced by silage formulation ($p > 0.05$).

Table 5. Proximate composition of fish viscera and silages after 7 days of storage (% dry matter).

Composition	Fish Viscera	Molasses VS	Wheat VS	Cassava VS	Acid VS	<i>p</i> -Value
Dry matter	52.4 ± 1.7	45.8 ± 0.4 ^c	62.4 ± 0.9 ^a	56.1 ± 0.6 ^b	55.7 ± 0.2 ^b	<0.001
Crude protein	30.8 ± 0.4	13.1 ± 1.0 ^a	11.9 ± 0.5 ^{ab}	9.8 ± 1.5 ^b	13.3 ± 0.5 ^a	<0.001
Crude lipid	29.4 ± 0.6	59.3 ± 0.6 ^b	60.5 ± 0.6 ^b	61.9 ± 1.1 ^{ab}	69.9 ± 0.2 ^a	<0.001
Crude fiber	1.4 ± 0.2	1.2 ± 0.1 ^b	5.41 ± 0.7 ^{ab}	9.5 ± 0.4 ^a	0.1 ± 0.02 ^c	<0.001
Ash	18.9 ± 0.5	5.3 ± 0.9 ^{ab}	1.7 ± 0.2 ^b	4.4 ± 0.6 ^{ab}	10.3 ± 0.5 ^a	<0.001
Gross energy (kcal·100g ⁻¹) ⁱ	405.7 ± 4.3	608.5 ± 53.3 ^b	629.4 ± 105.1 ^{ab}	611.1 ± 121.0 ^b	686.6 ± 28.5 ^a	<0.001

Distinct lowercase letters on the same line indicate a statistical difference in fish viscera silages according to the Kruskal–Wallis and Dunn tests ($p < 0.05$, $n = 6$ each silage). I Gross energy analyzed using IKA 2600 bomb calorimeter.

Table 6. Amino acids of fish viscera and viscera silages after 7 days of storage (mg·g⁻¹ crude protein).

Amino Acids	Fish Viscera	Molasses VS	Wheat VS	Cassava VS	Acid VS	<i>p</i> -Value
Essential						
Arginine	9.4 ± 0.3	2.0 ± 0.0 ^b	3.3 ± 0.1 ^b	2.0 ± 0.1 ^b	8.9 ± 0.1 ^a	<0.001
Histidine	2.9 ± 0.16	1.9 ± 0.0 ^b	2.3 ± 0.0 ^b	1.9 ± 0.0 ^b	3.1 ± 0.0 ^a	<0.001
Isoleucine	5.3 ± 0.1	3.4 ± 0.0 ^b	3.7 ± 0.0 ^b	3.8 ± 0.0 ^b	5.0 ± 0.1 ^a	0.002
Leucine	10.5 ± 0.2	5.6 ± 0.1 ^b	7.4 ± 0.0 ^b	7.0 ± 0.1 ^b	10.2 ± 0.1 ^a	<0.001
Lysine	8.7 ± 0.1	5.2 ± 0.0 ^b	3.7 ± 0.0 ^c	3.6 ± 0.1 ^c	8.9 ± 0.1 ^a	<0.001
Methionine	3.4 ± 0.1	1.8 ± 0.0 ^b	1.9 ± 0.0 ^b	1.9 ± 0.0 ^b	3.2 ± 0.0 ^a	<0.001
Phenylalanine	5.3 ± 0.2	2.7 ± 0.0 ^c	3.8 ± 0.0 ^b	3.4 ± 0.0 ^{bc}	5.4 ± 0.1 ^a	<0.001
Threonine	5.8 ± 0.2	3.2 ± 0.0 ^c	4.2 ± 0.0 ^b	3.8 ± 0.0 ^{bc}	5.7 ± 0.1 ^a	<0.001
Tryptophan	1.2 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.2 ± 0.0	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.0	ns
Valine	6.7 ± 0.2	4.3 ± 0.0 ^b	5.1 ± 0.0 ^b	4.8 ± 0.1 ^b	6.7 ± 0.1 ^a	0.001

Nonessential						
Aspartic acid	11.3 ± 0.2	4.2 ± 0.0 ^c	7.3 ± 0.1 ^b	5.6 ± 0.1 ^{bc}	10.9 ± 0.1 ^a	<0.001
Alanine	16.4 ± 0.1	7.6 ± 0.0	8.7 ± 0.1	8.1 ± 0.1	9.7 ± 0.1	ns
Cystine	10.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.0 ^b	0.0 ± 0.0 ^b	1.2 ± 0.0 ^a	<0.001
Glycine	0.9 ± 0.1	6.0 ± 0.0 ^b	11.3 ± 0.2 ^a	9.3 ± 0.3 ^{ab}	13.6 ± 0.1 ^a	0.006
Glutamic acid	14.2 ± 0.7	9.1 ± 0.0 ^c	13.6 ± 0.1 ^a	10.4 ± 0.1 ^{bc}	15.3 ± 0.2 ^a	0.001
Serine	5.4 ± 0.2	3.1 ± 0.0 ^{bc}	3.8 ± 0.0 ^b	2.9 ± 0.0 ^c	5.3 ± 0.1 ^a	<0.001
Proline	9.2 ± 0.4	4.4 ± 0.0 ^b	7.8 ± 0.1 ^a	6.3 ± 0.1 ^{ab}	8.7 ± 0.1 ^a	0.004
Taurine	1.7 ± 0.0	1.4 ± 0.0 ^b	1.2 ± 0.0 ^b	1.3 ± 0.0 ^b	2.2 ± 0.0 ^a	<0.001
Tyrosine	4.1 ± 0.2	1.0 ± 0.0 ^b	0.8 ± 0.0 ^b	0.9 ± 0.0 ^b	4.0 ± 0.0 ^a	<0.001
Crude protein (%)	30.8	13.1	11.9	9.8	13.3	

Distinct lowercase letters on the same line indicate a statistical difference in fish viscera silages according to one-way ANOVA and Tukey's tests ($p < 0.05$, $n = 3$ each silage); ns = nonsignificant.

Table 7. Fatty acids of fish viscera and viscera silages after 7 days of storage (mg.g⁻¹ lipid).

Fatty Acids	Fish Viscera	Molasses VS	Wheat VS	Cassava VS	Acid VS	p-Value
Lauric (12:0)	nd	5.2 ± 0.3	4.0 ± 2.6	2.7 ± 1.8	6.5 ± 1.9	ns
Myristic (14:0)	13.7 ± 0.0	15.8 ± 2.2	12.9 ± 1.9	14.7 ± 1.3	15.2 ± 1.8	ns
Palmitic (16:0)	309.6 ± 0.1	239.4 ± 6.0	254.8 ± 0.5	257.3 ± 28.1	271.7 ± 15.8	ns
Heptadecanoic acid (17:0)	1.2 ± 0.0	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.2	1.6 ± 0.2	ns
Stearic acid (18:0)	162.8 ± 0.1	124.0 ± 4.8	140.6 ± 17.4	121.6 ± 11.5	132.3 ± 4.3	ns
Arachidic acid (20:0)	3.1 ± 0.0	4.8 ± 1.4	4.4 ± 0.7	4.6 ± 0.5	4.8 ± 0.6	ns
Heneicosanoic acid (21:0)	3.2 ± 0.0	6.1 ± 0.2	3.6 ± 0.5	4.2 ± 0.4	4.3 ± 0.5	ns
∑SFAs	493.6 ± 0.2	396.9 ± 1.6	421.9 ± 15.1	406.6 ± 34.8	436.4 ± 18.3	ns
Palmitoleic acid (16:1n-7)	27.3 ± 0.0	33.9 ± 3.3	32.5 ± 4.3	36.4 ± 1.3	3.15 ± 0.1	ns
Palmitoleic acid (16:1n-9)	3.5 ± 0.0	5.0 ± 0.7	7.7 ± 2.7	6.1 ± 1.5	0.48 ± 0.0	ns
Vaccenic acid (18:1n-7)	16.4 ± 0.0	23.1 ± 4.6	19.3 ± 0.8	21.5 ± 1.3	1.76 ± 0.2	ns

Oleic acid (18:1n-9)	380.5 ± 0.0	434.7 ± 2.9	406.7 ± 24.4	425.2 ± 37.0	403.9 ± 2.9	ns
∑MUFAs	427.7 ± 0.1	496.7 ± 2.0	466.2 ± 17.5	489.2 ± 17.0	409.3 ± 2.93	ns
Linoleic acid (18:2n-6)	58.4 ± 0.1	72.9 ± 1.6	70.6 ± 3.9	72.4 ± 2.5	67.6 ± 2.9	ns
Linolenic acid (18:3n-3)	15.5 ± 0.0	17.5 ± 2.9	19.6 ± 5.6	16.7 ± 4.5	18.9 ± 7.6	ns
Arachidonic acid (20:4n-6)	3.0 ± 0.0	5.2 ± 1.1	4.1 ± 0.8	6.2 ± 3.1	4.2 ± 0.8	ns
Eicosapentaenoic acid (20:5n-3)	1.1 ± 0.1	5.4 ± 6.4	17.8 ± 15.8	8.2 ± 1.4	10.0 ± 1.28	ns
Docosahexaenoic acid (22:6 n-3)	0.5 ± 0.0	1.7 ± 2.5	6.7 ± 5.5	1.7 ± 2.0	8.9 ± 1.18	ns
∑PUFAs	78.3 ± 0.22	102.7 ± 3.8	118.8 ± 23.2	105.2 ± 3.8	109.6 ± 15.6	ns
∑n-6	61.4 ± 0.08	78.1 ± 1.3	74.7 ± 4.5	78.6 ± 3.9	71.8 ± 3.6	ns
∑n-3	17.1 ± 0.08	24.6 ± 3.3	55.9 ± 11.3	27.3 ± 2.5	46.7 ± 6.5	ns
n-6:n-3	3.6 ± 0.4	3.2 ± 0.4	1.4 ± 0.4	2.9 ± 0.4	1.6 ± 0.3	ns

SFAs: saturated fatty acids; MUFAs: monounsaturated fatty acids; PUFAs: polyunsaturated fatty acids. Data from fish viscera silages were analyzed by one-way ANOVA ($p > 0.05$, $n = 3$ each silage); nd = not determined, ns = nonsignificant.

Table 8. Apparent digestibility coefficient of nutrients and energy of viscera silages for tambaqui juveniles (% dry matter).

Composition	Molasses VS	Wheat VS	Cassava VS	Acid VS	<i>p</i> -Value
Dry matter	79.46 ± 2.7	86.88 ± 6.6	78.77 ± 3.2	82.97 ± 5.6	ns
Crude protein	88.32 ± 0.6 ^{ab}	91.94 ± 2.9 ^a	86.91 ± 0.3 ^{ab}	84.24 ± 4.4 ^b	0.040
Crude lipid	94.96 ± 1.8	94.60 ± 1.2	94.10 ± 0.8	93.57 ± 0.1	ns
Gross energy	85.06 ± 2.8	84.20 ± 8.7	82.64 ± 1.2	87.15 ± 6.9	ns
Calcium	76.45 ± 2.0 ^b	90.98 ± 1.6 ^a	90.58 ± 7.2 ^a	89.11 ± 4.6 ^a	0.039
Phosphorus	81.20 ± 11.4	80.69 ± 8.8	76.95 ± 11.5	80.09 ± 4.9	ns

Distinct lowercase letters on the same line indicate a statistical difference according to one-way ANOVA and Tukey's tests ($p < 0.05$, $n = 4$ each silage); ns = nonsignificant.

9. DISCUSSION

The silage pH values remained below 4.5, which is a safe pH value for silage conservation because it prevents the proliferation of pathogenic and spoilage microorganisms [24]. The acid VS pH, because of the inclusion of hydrochloric acid and citric acid, remained close to 1, which is considered a very acidic ingredient to be included in aquafeeds. However, pH neutralization can lead to the accumulation of mineral salts [25], which can be a limiting factor for including acid silage in fish diets [26]. The slowly lowering pH of the fermented silages is related to gradual lactic acid production by microorganisms from yogurt [27].

The ideal silage storage temperature varies from 25 °C to 35 °C. Values beyond this range can reduce or inhibit lactic acid-producing bacteria activity [28]. The studied silages presented an average temperature of 32.8 °C, which was influenced by the high ambient temperature (33.2 ± 2.93 °C) of the Amazon region of Brazil where the experiment was carried out, as well as by the intense microbial activity of the silage process [29]. Lactic acid-producing bacteria, mainly of the *Lactobacillus* genus, use carbohydrate sources to produce lactic acid, antibacterial compounds (bacteriocins), and energy [4]. These compounds promote silage conservation by inhibiting the growth of pathogenic microorganisms, and by allowing the action of the proteolytic enzymes present in fish viscera, which collaborate in the hydrolysis and dissociation of fish waste [3].

The difference in proximal composition was related to variation in the carbohydrate sources used in the formulation of each fermented silage. The dry matter content of wheat VS was the highest because wheat bran has greater water absorption power, unlike sugarcane molasses that are easily diluted in water because 60% of its solids are composed of glucose, fructose, sucrose, and minerals. These molasses compounds are substrates for lactic acid-producing bacteria growth, which promotes a bigger bacterial production and, consequently, greater hydrolysis to generate a more liquefied product [4].

The lowering crude protein content of silage VS. that of the fish viscera could be due to the proportion of ingredients in the silage formula, the composition of the added carbohydrate sources, or loss by protein nitrogen being released in the form of volatile ammonia (NH₃) that results from the protein hydrolysis process [30,31]. The high fat content of the fish viscera was reflected in the silages. Tambaqui accumulates visceral fat, which can represent up to 70% of its abdominal cavity [32]. The tambaqui viscera

silages produced in this study can be characterized as an energy ingredient for aquafeed due to low protein content (<20%) and high fat content (around 60%) in dry matter.

The silages in our study presented low ash content because we used only viscera in the silage formulation. The ash content of silages produced with whole fish waste (bones, heads, fins, scales, and viscera) ranges from 11.9% to 21.5% [33]. Although fish viscera silages have a lower protein content compared to fish meal (54% to 61%), fish meal contains fivefold more ash than tambaqui viscera silages. High ash content is not desirable in the fish diet because some mineral needs can be supplied directly through aquaculture system water [6].

Fish viscera silage is an interesting ingredient for aquafeeds because essential amino acid content improves the dietary nutritional value by consequently improving the feed efficiency of aquatic organisms [20]. Generally, diets for omnivorous fish are formulated with ingredients of plant origin because this involves lower costs. However, some plant origin ingredients are deficient in amino acid, such as lysine and methionine [34]. Therefore, the inclusion of a low fish viscera silage content to vegetable ingredient mixes may suffice to meet the nutritional requirements in feed formulations for omnivorous fish.

The high glutamic acid concentration present in silages can influence the animal immune system by promoting the synthesis of cytokines, immunomodulatory substances needed to induce lymphocyte proliferation [35]. The low pH values of silages did not promote tryptophan stability, especially when not bound to protein, which resulted in low tryptophan content in the experimental silages [5].

Silages showed a high lipid content (above 59%), and tambaqui juveniles presented an ADC for lipids above 93%. The ADC of lipids from silages was similar to that of fish oil (92%) and higher than that of the corn (85.8%) and soybean (85.1%) oils evaluated for tambaqui juveniles by Buzollo et al. [35]. The tambaqui viscera silage presented a similar ADC of gross energy to those of salmon meal (81.1%), poultry byproduct meal (83.8%) and defatted black soldier fly larvae (86.6%), and it was higher than that of feather meal (77.2%) and tilapia processing waste meal (70.2%) when evaluated for tambaqui juveniles [35,36].

Silage can be a source of MUFAs in aquafeed formulations. MUFAs contribute to fish health when constantly ingested by promoting the reduction of oxidized LDL in plasma, preventing the transport of cholesterol to tissues and inhibiting body fat accumulation [37]. Silages showed higher levels of PUFAs and n-3 series fatty acids than

fish viscera. The presence of highly unsaturated fatty acids, such as EPA and DHA in silage, can contribute to enrich diets for omnivorous fish, which generally have no or low HUFA content because they consist mostly of ingredients of plant origin or terrestrial animal byproducts [32].

Fish viscera silages showed high digestibility for tambaqui juveniles. The hydrolysis of silage proteins into short-chain peptides and free amino acids makes it more bioavailable for digestion and absorption by fish [38]. The ADC values of crude protein from fish viscera silages are similar to the ADCs of Peruvian fish meal and corn gluten for tambaqui [35].

The difference in calcium ADC was due to the distinct carbohydrate sources used in silage formulation. Calcium forms part of the composition of bones and scales, is used by several enzymes in fish metabolism, and participates in the functioning of cell membranes, blood clotting, neural transmission, and muscle contraction [20]. Tambaqui viscera silages can be sources of dietary calcium and phosphorus to replace inorganic supplements in aquafeed.

10. CONCLUSIONS

Acid and fermented tambaqui viscera silages can be characterized as an energy ingredient for aquafeed due to the low protein (<20%) and high fat (around 60%) contents in dry matter. Fish viscera silage is an easy-to-produce technology that can convert fish waste into a feed ingredient for aquaculture. All the silages were well digested by juvenile tambaqui. It is necessary to evaluate the maximum level at which tambaqui viscera silages can be included in aquafeeds.

Author Contributions: Conceptualization, L.U.G., T.M.S., and F.d.M.D.; methodology, T.M.S. and L.U.G.; validation, J.T.K., F.d.M.D. and T.M.S.; formal analysis, L.U.G. and Y.M.P.; investigation, all the authors; resources, L.U.G.; data curation, T.M.S., D.K.M.D.S., J.T.K., Y.M.P., and L.U.G.; writing-original draft preparation, T.M.S.; writing-review and editing, D.K.M.D.S. and L.U.G.; visualization, L.U.G. and R.S.D.J.; supervision, L.U.G. and R.S.D.J.; project administration, L.U.G. and T.M.S.; funding acquisition, L.U.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors would like to thank the Amazonas State Research Foundation (FAPEAM), who granted the research funds (004/2018 - AMAZONAS ESTRATÉGICO/FAPEAM and POSGRAD-FAPEAM 2021/2022 - Resolução 008/2021). T.M.S. received a doctoral scholarship from Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). L.U.G. is a research fellow from the Brazil's National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (Process 312492/2021-9).

Institutional Review Board Statement: The procedures of this study were in compliance with the Ethical Committee of Research on the Use of Animals of the INPA (no. 0036/2020).

Data Availability Statement: Data of the study can be requested from the corresponding authors upon reasonable request.

Acknowledgments: The authors would like to thank the assistance from the staff of the National Institute of Amazonian Research (INPA) and all students of the Gigas Project at the INPA.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

11. REFERENCES

1. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Fishery and Aquaculture Country Profiles—Mexico. Country Profile Fact Sheets (Rome, Italy: Fisheries and Aquaculture Division). 2022. Available online: <https://www.fao.org/fishery/en/facp/mex?lang=en> (accessed on 8 November 2022).
2. Mozumder, M.M.H.; Uddin, M.M.; Schneider, P.; Raiyan, H.I.; Trisha, M.G.A.; Tahsin, T.H.; Newase, S. Sustainable Utilization of Fishery Waste in Bangladesh—A Qualitative Study for a Circular Bioeconomy Initiative. *Fishes* **2022**, *7*, 84. <https://doi.org/10.3390/fishes7020084>.
3. Toppe, J.; Olsen, R.L.; Peñarubia, O.R.; James, D.G. *Production and Utilization of Fish Silage. A Manual on How to Turn Fish Waste into Profit and a Valuable Feed Ingredient or Fertilizer*; FAO: Rome, Italy, 2018. Available online: www.fao.org/3/i9606en/I9606EN.pdf (accessed on 7 November 2022).

4. Kuley, E.; Özyurt, G.; Özogul, I.; Boga, M.; Akyol, I.; Rocha, J.M.; Özogul, F. The Role of Selected Lactic Acid Bacteria on Organic Acid Accumulation during Wet and Spray-Dried Fish-Based Silages. Contributions to the Winning Combination of Microbial Food Safety and Environmental Sustainability. *Microorganisms* **2020**, *8*, 172. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020172>.
5. Vidotti, R.M.; Viegas, E.M.M.; Carneiro, D.J. Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2003**, *105*, 199–204. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00056-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00056-7).
6. Banze, J.F.; da Silva, M.F.O.; Enke, D.B.S.; Fracalossi, D.M. Acid silage of tuna viscera: Production, composition, quality and digestibility. *Bol. Inst. Pesca* **2017**, *44*, 24–34. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017.24.34>.
7. Mayta-Apaza, A.C.; García-Cano, I.; Dabrowski, K.; Jiménez-Flores, R. Bacterial Diversity Analysis and Evaluation Proteins Hydrolysis During the Acid Whey and Fish Waste Fermentation. *Microorganisms* **2021**, *9*, 100. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010100>.
8. Afreen, M.; Ucak, I. Fish processing wastes used as feed ingredient for animal feed and aquaculture feed. *Surv. Fish. Sci.* **2020**, *6*, 55–64. <https://doi.org/10.18331/SFS2020.6.2.7>.
9. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2021. Available online: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940> (accessed on 29 November 2022).
10. Woynárovich, A.; Van Anrooy, R. *Field Guide to the Culture of Tambaqui (Colossoma macropomum, Cuvier, 1816)*; FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2019; p. I-121.
11. Hilsdorf, A.W.S.; Hallerman, E.; Valladão, G.M.R.; Zaminhan-Hassemer, M.; Hashimoto, D.T.; Dairiki, J.K.; Takahashi, L.S.; Albergaria, F.C.; Gomes, M.E.D.S.; Venturieri, R.L.L.; et al. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. *Rev. Aquac.* **2022**, *14*, 993–1027. <https://doi.org/10.1111/raq.12638>.
12. Marcos, R.; Filho, R.A.C.; De Abreu, J.S.; Seraphim, G.N.; Silva, A.C.; Fornari, D.C.; Ribeiro, R.P.; Ferreira, Y.A.; Gama, K.F.; Povh, J.A. Weight and body yield of selectively bred tambaqui (*Colossoma macropomum*) farmed in different environments. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2020**, *92*, e20180675.

13. AOAC. *Official Methods of Analysis of the AOAC International*, 18th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Rockville, MD, USA, 2005; Volume 2.
14. Spies, J.R. Determination of tryptophan in proteins. *Anal. Chem.* **1967**, *39*, 1412–1416. <https://doi.org/10.1021/ac60256a004>.
15. Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, *37*, 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>.
16. Júnior, O.O.S.; Montanher, P.F.; Bonafe, E.G.; Prado, I.N.D.; Maruyama, S.A.; Matsushita, M.; Visentainer, J.V. A Simple, Fast and Efficient Method for Transesterification of Fatty Acids in Foods Assisted by Ultrasound Energy. *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, *25*, 1712–1719. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140166>.
17. Joseph, J.D.; Ackman, R.G. Capillary Column Gas Chromatographic Method for Analysis of Encapsulated Fish Oils and Fish Oil Ethyl Esters: Collaborative Study. *J. AOAC Int.* **1992**, *75*, 488–506. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.3.488>.
18. Cho, C.Y. Fish nutrition, feeds, and feeding: With special emphasis on salmonid aquaculture. *Food Rev. Int.* **1990**, *6*, 333–357. <https://doi.org/10.1080/87559129009540876>.
19. Bureau, D.; Harris, A.; Cho, C. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **1999**, *180*, 345–358. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00210-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00210-0).
20. National Research Council. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2011.
21. Tibbetts, S.M.; Milley, J.E.; Lall, S.P. Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture* **2006**, *261*, 1314–1327. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.052>.
22. Furukawa, A.; Tsukahara, H. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **1966**, *32*, 502–508.
23. Bureau, D.; Hua, K. Letter to the Editor of Aquaculture. *Aquaculture* **2006**, *2*, 103–105. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.028>.
24. Panicz, R.; Eljasik, P.; Troszok, A.; Sobczak, M.; Lisiecki, S.; Nędzarek, A.; Sadowski, J. Safe management of *Cyprinid herpesvirus 3*-induced mortalities of common carp (*Cyprinus carpio*) by silaging process. *Aquac. Rep.* **2022**, *24*, 101116. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101116>.

25. Arason, S. Production of fish silage. In *Fisheries Processing*; Springer: Boston, MA, USA, 1994; pp. 244–272.
26. Millamena, O.M. Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* **2002**, *204*, 75–84. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00629-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00629-9).
27. Ozyurt, G.; Gokdogan, S.; Şimşek, A.; Yuvka, I.; Ergüven, M.; Kuley Boga, E. Fatty acid composition and biogenic amines in acidified and fermented fish silage: A comparison study. *Arch. Anim. Nutr.* **2016**, *70*, 72–86. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13705>.
28. Zahar, M.; Benkerroum, N.; Guerouali, A.; Laraki, Y.; El Yakoubi, K. Effect of temperature, anaerobiosis, stirring and salt addition on natural fermentation silage of sardine and sardine wastes in sugarcane molasses. *Bioresour. Technol.* **2002**, *82*, 171–176. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00165-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00165-1).
29. Lindgren, S.; Pleje, M. Silage fermentation of fish or fish waste products with lactic acid bacteria. *J. Sci. Food Agric.* **1983**, *34*, 1057–1067. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341005>.
30. Land, M.V.; Vanderperren, E.; Raes, K. The effect of raw material combination on the nutritional composition and stability of four types of autolyzed fish silage. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2017**, *234*, 284–294. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.10.009>.
31. Zieliński, M.; Rusanowska, P.; Zielińska, M.; Dudek, M.; Nowicka, A.; Purwin, C.; Fijałkowska, M.; Dębowski, M. Influence of preparation of *Sida hermaphrodita* silages on its conversion to methane. *Renew. Energy* **2021**, *163*, 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.09.012>.
32. Guimarães, I.G.; Martins, G.P. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): A mini review. *J. Appl. Ichthyol.* **2015**, *31*, 57–66. <https://doi.org/10.1111/jai.12976>.
33. Shabani, A.; Boldaji, F.; Dastar, B.; Ghoorchi, T.; Zerehdaran, S.; Ashayerizadeh, A. Evaluation of increasing concentrations of fish waste silage in diets on growth performance, gastrointestinal microbial population, and intestinal morphology of broiler chickens. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2021**, *275*, 114874. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114874>.

34. Miao, S.; Chang, E.; Han, B.; Zhang, X.; Liu, X.; Zhou, Z.; Zhou, Y. Dietary tryptophan requirement of northern snakehead, *Channa argus* (Cantor, 1842). *Aquaculture* **2021**, *542*, 736904. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736904>.
35. Wu, G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: A paradigm shift in protein nutrition. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2014**, *5*, 34. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-34>.
36. dos Santos, D.K.M.; Santana, T.M.; Dantas, F.D.M.; Farias, A.B.d.S.; Epifânio, C.M.F.; Prestes, A.G.; da Fonseca, F.A.L.; Parisi, G.; Viegas, E.M.M.; Gonçalves, L.U. Defatted black soldier fly larvae meal as a dietary ingredient for tambaqui (*Colossoma macropomum*): Digestibility, growth performance, haematological parameters, and carcass composition. *Aquac. Res.* **2022**, *53*, 6762–6770. <https://doi.org/10.1111/are.16143>.
37. Goosen, N.J.; de Wet, L.F.; Görgens, J.F. Rainbow trout silage as immune stimulant and feed ingredient in diets for Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquac. Res.* **2016**, *47*, 329–340. <https://doi.org/10.1111/are.12497>.
38. Islam, J.; Peñarubia, O. Seafood Waste Management Status in Bangladesh and Potential for Silage Production. *Sustainability* **2021**, *13*, 2372. <https://doi.org/10.3390/su13042372>.

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

CAPÍTULO III

Inclusão de silagem de vísceras de peixe em dietas para juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*: qualidade física de péletes, desempenho zootécnico, parâmetros de saúde e índices econômicos.

Thiago Macedo Santana^a, Francisco de Matos Dantas^a, Armando Gomes Prestes^a, Ana Beatriz de Sena Farias^b, Cláudia Maiza Fernandes Epifânio^b, Jesaías Ismael da Costa^c, Driely Kathriny Monteiro dos Santos^d, Yugo Moraes Pastrana^d, Gabriela Tomas Jerônimo^a, Ligia Uribe Gonçalves^{d,*}

^a Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, Av. General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, Coroado I, CEP: 69067-005, Manaus, Amazonas, Brasil

^b Universidade Nilton Lins, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Av. Prof. Nilton Lins 3259, Parque das Laranjeiras, CEP: 69065-030, Manaus, Amazonas, Brasil

^c Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Presidente Figueiredo, Avenida Onça-Pintada, S/N - Galo da Serra, CEP: 69735-000, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil

^d Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, CEP: 69060-001, Manaus, Amazonas, Brasil

* Autor para correspondência: ligia.goncalves@inpa.gov.br

12. Resumo

A produção da silagem permite preservar as vísceras de peixes em um processo simples, promovendo a aquicultura circular. O objetivo desse estudo foi avaliar a inclusão de diferentes níveis de silagem de vísceras de peixe na qualidade física dos péletes, desempenho zootécnico, parâmetros de saúde e índices econômicos na produção de tambaqui. Uma silagem fermentada de vísceras de tambaqui (5% de iogurte; 15% melão de cana-de-açúcar; 0,25% antioxidante) foi adicionada em níveis crescentes (0% SV, 5% SV; 10% SV; 15% SV e 20% SV) em dietas para tambaqui (30% PB; 3.600 kcal de energia bruta por Kg). Juvenis de tambaqui, ($22,6 \pm 1,7$ g; $10,4 \pm 0,3$ cm) foram alojados aleatoriamente em 20 tanques (700L; 21 peixes/tanque; n=4), em sistema com renovação de água proveniente de sistema de recirculação com fitorremediação. Os peixes foram alimentados quatro vezes por dia (8h; 11h; 14h; 17h), até a saciedade aparente, durante 13 semanas. Os péletes das dietas com maiores inclusões de silagem apresentaram menor

taxa de expansão e fluutuabilidade. As dietas experimentais foram bem aceitas pelos peixes e não foi registrada mortalidade. Os peixes apresentaram crescimento de 500% que não foi diferente entre os grupos experimentais. A conversão alimentar aparente média foi de 1,43, a taxa de eficiência proteica de 2,28% e taxa de crescimento relativo de 1,79%/dia, valores dentro dos encontrados na literatura. Os peixes alimentados com o maior nível de inclusão de silagem de víscera apresentaram alta concentração de colesterol plasmático, porém com valores dentro do adequado para tambaqui saudáveis. A inclusão de silagem de víscera em dietas para juvenis de tambaqui reduziu a atividade da enzima ALT, confirmando o funcionamento hepático normal. As dietas com silagem de víscera tiveram o custo de produção variando de R\$ 4,65 a R\$ 4,68, sem influência nos índices econômicos. A silagem de víscera de peixe pode ser incluída em até 20% da formulação de ração extrusada para juvenis de tambaqui, sem proporcionar prejuízos ao desempenho zootécnico.

Palavras-chave: bioconversão, eficiência alimentar, ingrediente energético, resíduo de peixe,

13. INTRODUÇÃO

A aquicultura global cresceu 2,7% em 2020, alcançou recorde de produção (87,5 milhões de toneladas), com previsão de crescimento nas próximas décadas. Em 2020 o consumo *per capita* foi de 20,5 Kg de peixe, com projeção para superar 25 Kg no ano de 2050 (FAO, 2022). Concomitante ao aumento do consumo de pescado, há grande desperdício de resíduos como: restos de carne, cabeça, pele, ossos, escamas e vísceras (Oliveira et al., 2017; Liebl et al., 2021). Esses resíduos são fontes ricas de proteína de alto valor biológico e aminoácidos essenciais, lipídeos e ácidos graxos essenciais, colágeno, vitaminas e minerais (Rossetto et al., 2021; Liebl et al., 2022) que podem ser aproveitados na produção de silagem. A silagem de peixe apresenta um processo de fácil produção, podendo ser feito com baixo investimento inicial, resultando em um ingrediente proteico-energético de alto valor biológico para peixes (Dantas Filho et al., 2019).

O processo de hidrólise das cadeias proteicas dos resíduos de pescado durante a ensilagem, promove um produto rico em pequenos peptídeos e aminoácidos livres, o que proporciona aumento da palatabilidade, alta digestibilidade e maior velocidade de absorção pelos peixes (Arruda et al., 2005; Assano et al., 2011). Os peixes absorvem com

mais facilidade os peptídeos de cadeia curta (di e tripeptídeos) do que os peptídeos de cadeia longa e proteínas íntegras (Honorato et al., 2012). A inclusão da silagem de pescado em dietas para peixes pode aumentar a aceitabilidade das dietas artificiais para larvas e juvenis, resultando em aumento do consumo das dietas que possuem ingredientes de baixa palatabilidade, com consequente aumento na taxa de crescimento (Davies et al., 2020). Esse fato foi observado em juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* alimentados com dieta à base de farelo de soja e levedura de cana, com adição 50% de silagem de pescado (Enke et al., 2013).

O tambaqui *Colossoma macropomum* é um peixe amazônico, sendo a espécie nativa mais criada no Brasil, com produção no ano de 2021 de 94,6 mil toneladas (IBGE, 2021). É uma espécie que possui hábito alimentar onívoro, rápido crescimento, fácil aceitação ao alimento formulado e boa aceitação no mercado consumidor (Hilsdorf et al., 2022). Esta espécie apresenta rendimento de filé ao redor de 30% (Souza e Inhamuns, 2011; Liebl et al., 2021). As vísceras correspondem de 10 a 15% do peso vivo do tambaqui com peso entre 1,0 a 3,5kg (Fernandes et al., 2010; de Lima et al., 2018; Cirne et al., 2019). Baseado na produção nacional de tambaqui e no rendimento em vísceras, pode-se afirmar que em 2021 foram geradas aproximadamente 14 mil toneladas de vísceras de tambaqui, que poderiam ser bioconvertidos em ingredientes para alimentação animal.

A silagem de vísceras de pescado pode ser uma alternativa de alto valor biológico na produção de rações para peixes, tanto como fonte de nutrientes quanto como palatilizante. Além disso, a silagem é uma opção de simples processamento para destino de vísceras de peixe, promovendo a aquicultura circular. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a inclusão de diferentes níveis de silagem de víscera de peixe, na qualidade física dos pletes, desempenho zootécnico, parâmetros de saúde e avaliação da sua inclusão nos índices econômicos na produção de tambaqui.

14. MATERIAL E MÉTODOS

A condução do experimento foi na Estação Experimental de Aquicultura da Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTEI, do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA. O plano experimental foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/INPA (protocolo n° 0036/2020).

14.1 Obtenção das vísceras e produção da silagem

As vísceras utilizadas para produção de silagem foram separadas no momento do processamento de evisceração do tambaqui, doados de um frigorífico de pescado da região metropolitana de Manaus, Amazonas, Brasil. As vísceras (fígado, estômago, intestino, bexiga natatória, baço, gônadas) foram moídas em moedor de carne (matriz 5 mm), e ensiladas no mesmo dia.

A silagem biológica foi produzida com seguinte formulação: 79,75% de víscera de tambaqui moída (peso/peso), 15% de melão de cana-de-açúcar (peso/peso), 5% de iogurte integral fora do prazo de validade (peso/volume) como fonte de bactérias ácido-láticas, 0,25% de ácido sórbico como agente antifúngico (peso/peso).

A massa ensilada foi fechada hermeticamente para que mantivesse o estado anaeróbio. Após 24h do início da ensilagem e durante os sete dias seguintes (Figura 4), a massa ensilada foi homogeneizada e mensurada a temperatura ($29,58 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$) com uso de termômetro digital tipo espeto e o pH analisado pelo método de análises para alimentos (Lutz, 1985). No início do processo de ensilagem o pH da mistura estava em 5,26 e ao final do sétimo dia alcançou o valor de 4,17. Ao término do período de ensilagem, a silagem foi desgordurada parcialmente por centrifugação ($1000 \times g$ for 10 min; Centribio 80-2B, Curitiba, PR, BR), com descarte da gordura sobrenadante. Em seguida foi coletada uma amostra para análise de composição centesimal (umidade 54,2%; proteína bruta 24%; lipídios 24%; fibra bruta 0,8%; matéria mineral 5%; energia bruta 4.273,6 Kcal/Kg de energia), segundo metodologias da AOAC (2012). A silagem foi armazenada congelada (-20°C) até o momento da produção das dietas experimentais.



Figura 4. Progresso em dias do processo de ensilagem de víscera de peixe no período de sete dias. D0 dia inicial da ensilagem e D7 o sétimo dia de ensilagem.

14.2 Produção das dietas experimentais

As formulações das dietas experimentais foram baseadas nas necessidades nutricionais de juvenis de tambaqui, sendo dietas isoprotéicas e isocalóricas (30% de

proteína bruta; 3.600 kcal/Kg de energia bruta), conforme as recomendações de Guimarães e Martins (2015). Foi utilizado o software/programa Super Crac® 6.1 Premium para formulação das dietas experimentais (Tabela 9), e formuladas com inclusão de silagem de víscera de tambaqui na matéria seca. Contudo, a inclusão da silagem no momento da produção das dietas foi na forma “*in natura*”, assim foi considerado a quantidade de água fornecida pela silagem e adicionado a água restante até alcançar 36% de hidratação (Tabela 10).

Foram produzidas cinco dietas, sendo um controle sem inclusão de silagem (0% SV) e quatro com inclusão crescente de silagem de víscera (5% SV; 10% SV; 15% SV e 20% SV). As dietas foram extrusadas em extrusora monorosca, com condicionador e injeção d'água (INBRAMAQ®, Modelo MX – 80, Ribeirão Preto, SP, BR), com matriz de 3 mm. Após a extrusão, as rações foram secas em estufa com circulação de ar forçado a 55°C, até obter o teor de umidade de 10%. Todas as dietas experimentais foram armazenadas em sacos plásticos, identificados e estocados em sala climatizada (18°C).

Tabela 9. Formulações e composição nutricional das dietas com níveis crescentes de inclusão de silagem de melão.

Ingrediente (%)	Inclusão de silagem úmida				
	0% SV	5% SV	10% SV	15% SV	20% SV
Farelo de soja	32,00	31,55	31,00	30,40	30,30
Milho grão	34,00	33,70	33,60	33,38	32,33
Farelo de trigo	7,50	6,90	6,10	5,30	5,00
Farinha de carne e ossos 46%	15,00	14,50	14,00	13,60	13,00
Silagem de melão ⁱ	0,00	2,30	4,60	6,90	9,20
Farinha de sangue	8,23	8,15	8,13	8,10	8,00
Óleo de soja	1,10	0,73	0,40	0,15	0,00
Suplemento vitamínico e mineral ⁱⁱ	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato bicálcico	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
L-Lisina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,3
DL-Metionina	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sal	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Matéria seca (%)	90,1	90,1	89,9	90,7	91,0
Proteína bruta (%)	31,0	30,8	29,8	31,3	30,6
Lipídeos (%)	7,76	7,59	7,75	7,71	8,33
Fibra bruta (%)	2,2	1,8	2,0	1,5	1,26
Matéria mineral (%)	5,8	6,8	6,0	6,4	6,7
Extrato não nitrogenado (%) ⁱⁱⁱ	53,2	53,1	54,4	53,1	53,3
Energia bruta (kcal/Kg)	3796,3	3624,0	3805,7	3830,3	3716,7

ⁱValores representam a quantidade de matéria seca da silagem; ⁱⁱSuplemento vitamínico mineral para peixes, valores por kg de ração: ácido fólico (250 mg), ácido pantotênico (5000 mg), antioxidante (600 mg), biotina (125 mg), cobalto (25 mg), cobre (2000 mg), ferro (13.820 mg), iodo (100 mg), manganês (3750 mg), niacina (5000 mg), selênio (75

mg), vitamina A (1.000.000 UI), vitamina B1 (1250 mg), vitamina B12 (3750 mg), vitamina B2 (2500 mg), vitamina B6 (2485 mg), vitamina C (28.000 mg), vitamina D3 (500.000 UI), vitamina E (28.000 UI), vitamina K3 (500 mg), zinco (17.500 mg);
ⁱⁱⁱExtrativo não nitrogenado calculado = (100 – (proteína bruta + lipídeos + fibra bruta +matéria mineral)).

Tabela 10. Níveis de inclusão de silagem de víscera de tambaqui e ajuste da hidratação.

Dietas	Silagem de Víscera úmida (%)	Silagem de Víscera Matéria seca (%)	Água fornecida pela silagem (%)	Hidratação água (%)
0% SV	0	0	0	36
5% SV	5	2,3	2,7	33,3
10% SV	10	4,6	5,4	30,6
15% SV	15	6,9	8,1	27,9
20% SV	20	9,2	10,8	25,2

14.3 Qualidade física dos péletes

A qualidade física dos péletes das dietas experimentais foi avaliada por meio das variáveis:

Umidade: Foram separadas amostras de 2 g de péletes das dietas experimentais (n=10) e posteriormente colocadas em determinador de umidade eletrônico (Analisador de umidade infravermelho Denver® modelo IR-35, Bohemia, NY, USA) até estabilidade do peso à 105°C.

Taxa de expansão: A relação entre o diâmetro do péletes das dietas e o diâmetro da saída da matriz da extrusora foi determinado a partir de um total de 100 péletes de cada dieta. A taxa de expansão foi aferida utilizando paquímetro digital e calculada de acordo com a seguinte equação:

$$TE(\%) = \left(\frac{\text{diâmetro do pélete de ração (mm)} - \text{diâmetro da matriz (mm)}}{\text{diâmetro da matriz (mm)}} \right) \times 100$$

Flutuabilidade: Foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Cian et al. (2018). Vinte péletes das dietas foram colocados em recipiente de 200 mL (n=10) com água destilada à temperatura ambiente. O número de péletes flutuantes (Nf) suspensos no recipiente foi observado após 30 minutos e a flutuabilidade foi calculada com a seguinte fórmula:

$$F(\%) = \left(\frac{\text{número de péletes flutuante}}{\text{número total de péletes}} \right) \times 100$$

Densidade aparente: Em recipiente cilíndrico com volume de 1 L, previamente tarado, foram colocados os péletes da dieta (n=10). O topo do recipiente foi nivelado com

o auxílio de espátula uma única vez para retirar os péletes excedentes. Posteriormente o recipiente foi pesado em balança digital. A relação entre o peso dos péletes e o volume do recipiente cilíndrico (1 L) foi expressa como densidade aparente em g/L.

Índice de absorção de água: foi segundo a metodologia de Anderson (1982). Os péletes das dietas foram moídos e peneirados usando peneira de 0,3 mm. O pó fino (peso seco de cada amostra 2,5 g) (n=10) foram suspensos em água destilada (30 mL) a 25°C e durante 30 minutos colocados em agitador mecânico tipo vórtex para garantir a homogeneização completa das amostras. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000 g por 10 minutos a 25°C. O sobrenadante foi transferido para um recipiente de alumínio (tarado) e seco a 135°C por 2 horas. O peso do gel remanescente no tubo centrifugado foi calculado como índice de absorção de água a partir da seguinte equação:

$$IAA(g/g) = \left(\frac{\text{peso do gel (g)}}{\text{peso seco da amostra (g)}} \right)$$

Índice de solubilidade em água: O peso seco do sobrenadante sólido obtido após a secagem do IAA, foi calculado como índice de solubilidade em água a partir da seguinte equação (Anderson, 1982):

$$ISA(\%) = \left(\frac{\text{peso do sobrenadante sólido (g)}}{\text{peso seco da amostra (g)}} \right) \times 100$$

14.4 Microestrutura dos péletes

Para avaliação das microestruturas dos péletes, foram caracterizadas nas seções transversais através de corte dos péletes (duplicata) com navalha histológica. Os péletes cortados foram montados sobre stubs de alumínio inox e metalizados com ouro no equipamento Sputter Coater (BALTEC, SCD 050, Balzers, LI, GER) de acordo com o método descrito por Cruz et al. (2015) (Figura 5). As amostras foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura (Tescan/VEGA3, Brun, Czech Republic), quanto à morfologia das seções transversais dos péletes.

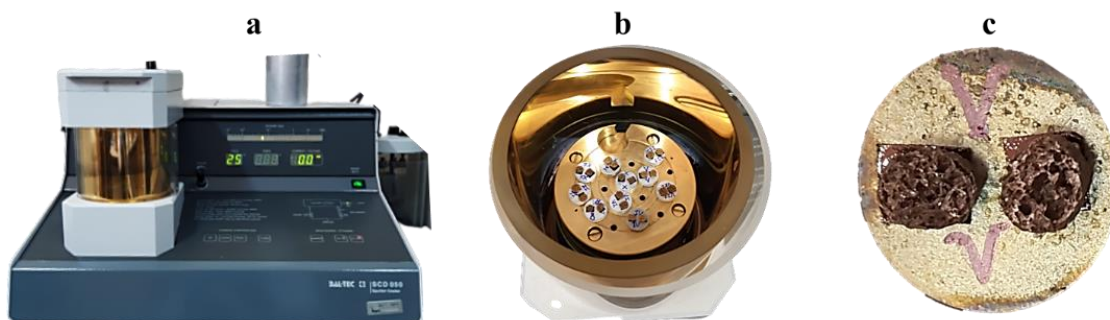


Figura 5. Sputter Coater – equipamento metalizador de ouro; b) Stubs com péletes para serem metalizados com ouro; c) Péletes metalizados com ouro.

14.5 Experimento de desempenho zootécnico

Para avaliar o desempenho zootécnico foram utilizados 420 juvenis de tambaqui, ($22,6 \pm 1,7$ g; $10,4 \pm 0,3$ cm), alojados aleatoriamente em 20 tanques de fibra de vidro (Figura 6) com volume útil de 700 L, em sistema de renovação de água contínua proveniente de sistema de recirculação com fitorremediação. Os juvenis foram alimentados quatro vezes por dia (8h; 11h; 14h; 17h), até a saciedade aparente, durante 13 semanas. Em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos e quatro tanques por tratamento (5; n=4; 21 peixes/tanque).



Figura 6. Tanques utilizados para avaliação do desempenho zootécnico de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Para acompanhamento da qualidade da água do sistema foram aferidos a temperatura ($28,03 \pm 0,05^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido ($6,07 \pm 0,12$ mg/L), pH ($6,4 \pm 0,04$) e

a condutividade elétrica ($160, 69 \pm 0,52 \mu\text{S}/\text{cm}$), três vezes por semana com uso de aparelho digital (AKSO®, modelo AK88, São Leopoldo, RS, BR). Uma vez por semana a amônia ($0,17 \pm 0,03 \text{ mg}/\text{L}$) e o nitrito ($0,06 \pm 0,01 \text{ mg}/\text{L}$) foram mensurados pelo método colorimétrico com os reagentes do Spectro Kit da marca Alfakit®. Amônia total (mg/L de N-NH₃), pelo método azul de indofenol, comprimento de onda 630 nm; Nitrito (mg/L de N-NO₂) pelo método NTD, comprimento de onda 535 nm. As leituras foram realizadas no fotolorímetro (AT 10P, Alfakit®, Florianópolis, SC, BR). Os valores coletados durante o período experimental permaneceram dentro do recomendado para a criação de tambaqui (Cavero et al., 2009)

Ao final do experimento todos os peixes foram submetidos à biometria (peso e comprimento total) para avaliação do desempenho zootécnico. Para biometria, os peixes estavam em jejum por 24h. De cada unidade experimental, foram coletados três peixes para avaliação dos índices biométricos e cinco peixes para os parâmetros de saúde.

O desempenho zootécnico foi avaliado por meio das seguintes variáveis:

- *Ganho em peso (g)* = (*peso final* – *peso inicial*)
- *Conversão alimentar aparente* = $\left(\frac{\text{consumo de ração}}{\text{ganho de peso}}\right)$
- *Taxa de eficiência proteica (%)* = $\left(\frac{\text{ganho de peso da biomassa}}{\text{consumo de proteína}}\right) * 100$
- *Taxa de crescimento relativo (%/dia)* = $\left(e^{\left(\frac{\ln(w_2) - \ln(w_1)}{t_2 - t_1}\right)} - 1\right) * 100$
- *Sobrevivência (%)* = $\left(\frac{\text{número de peixe final}}{\text{número de peixe inicial}}\right) * 100$

14.6 Índices biométricos

Foram amostrados três peixes aleatoriamente por tanque (12 peixes por tratamento). Os peixes foram pesados inteiros e separado as vísceras, o fígado e a gordura visceral foram pesados individualmente (Figura 7), para a avaliação dos índices biométricos, avaliados por meio das seguintes fórmulas:

- *Índice víscero – somático (%)* = $\left(\frac{\text{peso da víscera}}{\text{peso do peixe}}\right) * 100$
- *Índice hepatossomático (%)* = $\left(\frac{\text{peso do fígado}}{\text{peso do peixe}}\right) * 100$
- *Índice gordura víscero – somático (%)* = $\left(\frac{\text{peso da gordura visceral}}{\text{peso do peixe}}\right) * 100$

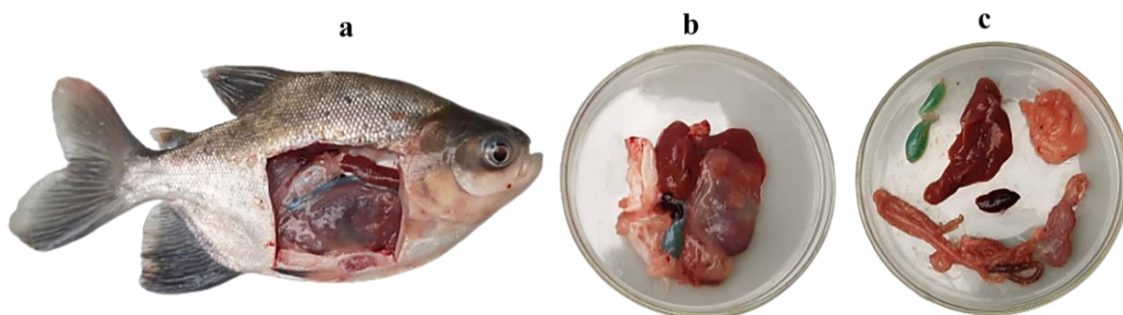


Figura 7. a - Juvenil de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com corte no abdômen para coleta das vísceras; b - vísceras após a coleta; c - vísceras separadas para pesagem.

14.7 Composição centesimal do filé

Foram amostrados 20 filés dos peixes no início do experimento, compondo a amostra inicial e coleta de filés de três peixes de cada repetição (12 peixes por tratamento), ao final do período experimental. As amostras foram congeladas até o momento das análises de composição centesimal. A análise foi realizada segundo a metodologia AOAC (2012). O conteúdo de umidade foi determinado por secagem em estufa a 105°C até apresentarem peso constante; lipídeos totais por extração com solvente, hexano, por 6 horas (Soxhlet); teor de cinzas pela queima em mufla a 500°C por 4 horas; proteína bruta pelo método de micro-Kjeldahl.

14.8 Parâmetros de saúde

A avaliação de saúde dos animais foi realizada através das variáveis sanguíneas, níveis de glicose em sangue total e bioquímica do plasma. Para isso, foram amostrados cinco peixes por tanque (20 peixes por tratamento), anestesiados com essência de óleo de cravo-da-Índia (Eugenol[®]) na concentração de 20 mg/L (Inoue et al., 2011), e o sangue foi colhido por punção da veia caudal (Figura 8) usando seringa rinsada com EDTA (10%). A partir do sangue total, foi determinado o nível de glicose com o glicosímetro G-Tech Free Liten (Pereira-Da-Silva e Oliveira, 2017), o número total de eritrócitos (RBC), a concentração de hemoglobina e o percentual de hematócrito, de acordo com metodologia descrita por Ranzani-Paiva et al. (2013). A partir desses dados foram calculados o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (CM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) pelas equações hematimétricas (Acerete et al., 2014).

Uma segunda alíquota das amostras de sangue coletadas, foi centrifugada a 1.400 g por 10 min a 4°C, para a separação do plasma que foi utilizado para avaliação de

proteína total plasmática pelo método do biureto, albumina pelo método verde de bromocresol, triglicerídeos e colesterol pelo método enzimático-colorimétrico com fator clareante de lipídeos (LCF). Adicionalmente, a atividade enzimática das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) foram determinadas pelo método cinético (Ventura et al., 2021).

As leituras das absorvâncias foram feitas em espectrofotômetro modelo DR 6000 (HACH Company, Loveland, CO, USA). Todas as variáveis foram realizadas pelos kits da In Vitro Diagnóstica Ltda, Itabira, MG, BR.



Figura 8. Colheita de sangue de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

14.9 Custo de produção das dietas experimentais

Previamente às análises de custo das dietas, foi calculado o custo de produção da silagem de víscera. Inicialmente, foi determinado o investimento em capital fixo (moedor de carne, balde, colher, termômetro, pHmetro) para produção de silagem em escala artesanal, ou seja, 196 kg de silagem em um ciclo de produção de 7 dias. O investimento com construção civil não foi considerado. Os custos de produção foram determinados com base no Custo Operacional Total (Matsunaga et al., 1976) ($COT = R\$ 42,59$), resultante da somatória do Custo Operacional Efeito ($COE = R\$ 42,24$) e a depreciação dos itens de capital fixo ($R\$ 0,34$). No COE foram somados a mão de obra, manutenção dos equipamentos (20% do valor do equipamento ao ano), as vísceras de tambaqui e os ingredientes para produção de silagem de víscera. As vísceras por serem um produto descartado atualmente, não apresentam um valor de mercado. Assim, como referência para composição das fórmulas econômicas foi estabelecido o valor de $R\$ 0,25/kg$. O custo

com mão de obra foi calculado por hora trabalhada com base no tempo utilizado para produção da silagem (R\$ 8,97/hora). O custo da hora trabalhada foi calculado com base em um salário mínimo vigente em outubro de 2022 (R\$ 1,212.00) acrescidos de 48% de encargos sociais, considerando 160 horas trabalhadas mensais. A depreciação dos equipamentos foi calculada com base no método linear. O custo final de produção da silagem de víscera foi de R\$ 3,54/Kg.

Os custos das dietas experimentais foram calculados a partir dos preços dos ingredientes, praticados na cidade de Manaus, somado ao custo com processamento de R\$ 0,70/kg (Tabela 11). Para determinar os índices econômicos relativos e os benefícios do custo das dietas experimentais foi utilizada a metodologia de orçamentos parciais, que determina os custos e receitas dos itens que variam de acordo com o tratamento (Coutinho et al., 2018; Shang, 1990). Para cálculo desses índices foram utilizadas as seguintes variáveis: custo da dieta (R\$/Kg), produção de peixe (Kg; ganho em biomassa dos peixes por unidade experimental), consumo da dieta (Kg), custo com alimentação (R\$) durante o período experimental e, foi considerado o preço de venda do tambaqui a R\$ 8,00/kg (Bussons et al., 2021). Foram calculados os seguintes índices econômicos:

- Receita bruta - RB

$$RB(R\$) = \text{produção de peixe (Kg)} \times \text{preço de venda (R\$)}$$

- Índice de conversão econômica - ICE

$$ICE(R\$/Kg) = \left(\frac{\text{consumo da dieta (Kg)}}{\text{produção de peixe (Kg)}} \right) \times \text{custo da dieta (R\$)}$$

- Índice de lucro econômico - ILE

$$ILE(R\$/Kg) = (\text{receita bruta (R\$)} - \text{custo com alimentação(R\$)})$$

- Rentabilidade econômica - RE

$$RE(R\$/Kg) = (\text{preço de venda (R\$)} - \text{índice de conversão econômica(R\$)})$$

- Eficiência econômica - EE

$$EE (R\$/Kg) = \text{índice de lucro econômica(R\$)} / \left(\frac{\text{custo com alimentação (R\$)}}{\text{produção de peixe (Kg)}} \right)$$

1 Tabela 11. Custo de produção das dietas experimentais com diferentes inclusões de silagem de víscera de peixe.

Ingredientes	Valor (R\$/Kg) ⁱ	0% SV		5% SV		10% SV		15% SV		20% SV	
		(kg)	Total	(kg)	Total	(kg)	Total	(kg)	Total	(kg)	Total
Farelo de soja	4,87	32,00	155,81	31,55	153,62	31,00	150,94	30,40	148,02	30,30	147,53
Milho grão	2,15	34,00	73,24	33,70	72,59	33,60	72,37	33,38	71,90	32,33	69,64
Farelo de trigo	2,13	7,50	15,99	6,90	14,71	6,10	13,01	5,30	11,30	5,00	10,66
Farinha de carne e ossos	3,13	15,00	46,96	14,50	45,39	14,00	43,83	13,60	42,57	13,00	40,70
Silagem de víscera	3,54	-	-	2,30	8,14	4,60	16,28	6,90	24,43	9,20	32,57
Farinha de sangue	3,50	8,23	28,81	8,15	28,53	8,13	28,46	8,10	28,35	8,00	28,00
Óleo de soja	8,49	1,10	9,34	0,73	6,20	0,40	3,40	0,15	1,27	-	-
Supl. vitamínico e mineral	34,00	1,00	34,00	1,00	34,00	1,00	34,00	1,00	34,00	1,00	34,00
Fosfato bicálcico	11,85	0,50	5,93	0,50	5,93	0,50	5,93	0,50	5,93	0,50	5,93
L-lisina	32,64	0,30	9,79	0,30	9,79	0,30	9,79	0,30	9,79	0,30	9,79
DL-metionina	32,80	0,25	8,20	0,25	8,20	0,25	8,20	0,25	8,20	0,25	8,20
Sal	0,98	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT	480,00	0,02	9,60	0,02	9,60	0,02	9,60	0,02	9,60	0,02	9,60
Processamento	0,70	100,00	70,00	100,00	70,00	100,00	70,00	100,00	70,00	100,00	70,00
Custo da dieta (100 kg)		467,75		466,79		465,90		465,46		466,71	
Custo unitário da dieta (R\$/Kg)		4,68		4,67		4,66		4,65		4,67	

2 ⁱCotação de preço realizado no mês de outubro de 2022

14.10 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism (versão 6.0). Os dados percentuais foram previamente transformados utilizando arcoseno da raiz quadrada. Os pressupostos da estatística paramétrica foram verificados pelo teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade das variâncias (Bartlett). Os dados de fluabilidade e taxa de expansão dos péletes não atenderam às premissas da estatística paramétrica e por isso foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. As demais variáveis respostas foram avaliadas pela análise de variância de uma via (ANOVA one-way) e quando foi detectada diferença estatística, os tratamentos foram comparados utilizando o teste de Tukey. Uma regressão linear foi utilizada para estudar a relação entre os níveis de inclusão de silagem e a concentração de Alanina transaminase (ALT) dos animais. Em todos os testes, foi utilizada significância estatística $p < 0,05$ e todos os dados são representados como média \pm desvio padrão.

15. RESULTADOS

15.1 Qualidade física dos péletes

Após o período de 24 horas de secagem, os péletes das dietas 10% SV e 15% SV apresentaram menor valor de umidade (Tabela 12). A inclusão de silagem de víscera nas formulações diminuiu a taxa de expansão dos péletes em relação a dieta controle. Os péletes da dieta 5% SV apresentaram maior taxa de expansão dentre as dietas com inclusão de silagem. Os péletes das dietas com inclusão de silagem de víscera apresentaram taxas de fluabilidade semelhantes, porém a dieta 20% SV apresentou valores inferiores à dieta controle.

Para densidade aparente, a dieta controle apresentou valores similares a dieta 15% SV (383,05 g/L), e as demais dietas apresentaram valores superiores (402,17 a 407,00 g/L). Os péletes das dietas experimentais não apresentaram influência da inclusão de silagem de víscera para os índices de absorção de água (9,62 g/g) e solubilidade em água (4,18%). Os péletes das dietas experimentais apresentaram inúmeras câmaras de ar, com diferentes tamanhos e formatos, quando observados pela microscopia eletrônica de varredura (Figura 9). Porém, maior quantidade de câmaras de ar são observadas nas dietas controle e com níveis mais baixos de inclusão de silagem.

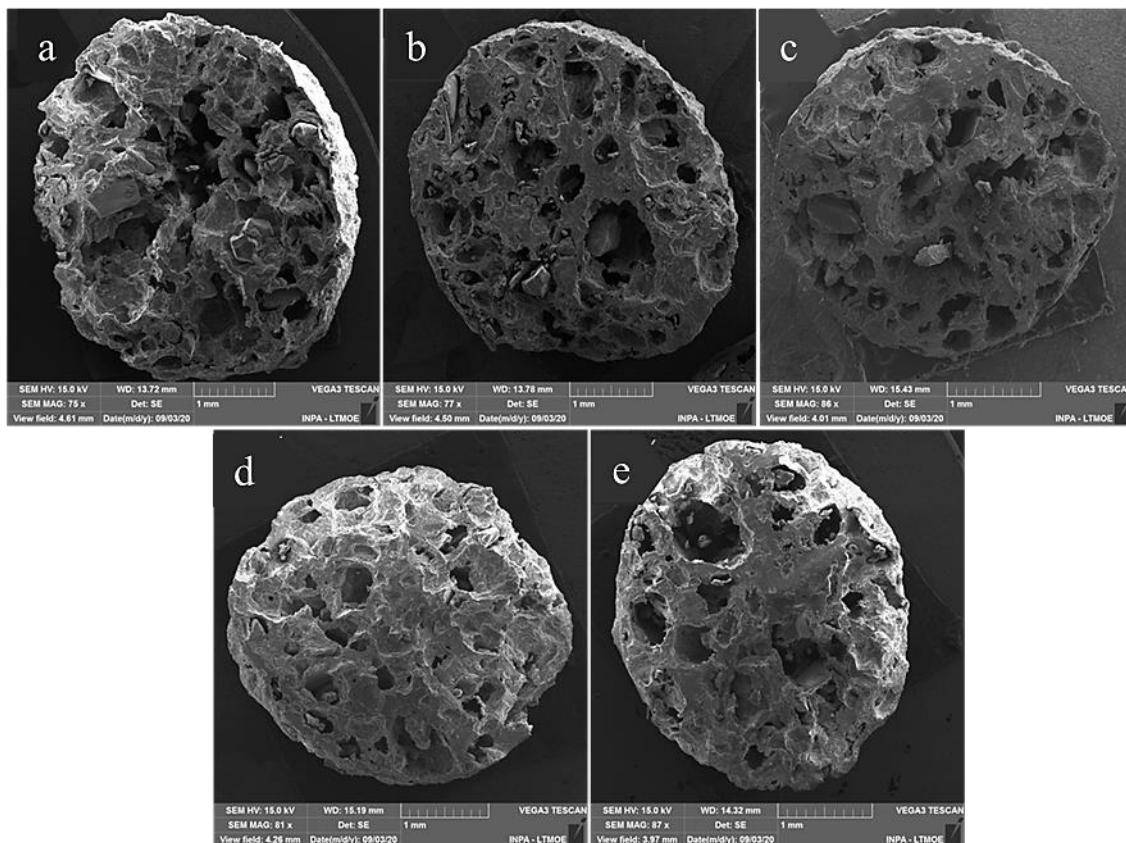


Figura 9. Micrografias em corte transversal dos péletes das dietas com inclusão de silagem de víscera. a - 0% SV; b - 5% SV; c - 10% SV; d - 15% SV e 20% SV. 1000 μm .

15.2 Desempenho zootécnico, índices biométricos e composição centesimal

As dietas experimentais foram bem aceitas pelos peixes e não foi registrada mortalidade. As demais variáveis de desempenho zootécnico e índices biométricos não apresentaram diferenças significativas para os grupos experimentais (Tabela 13). O peso médio final dos peixes foi 500% superior que o peso inicial e não diferiu entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Os peixes alimentados com dietas com inclusão de silagem de víscera apresentaram conversão alimentar aparente média de 1,43, taxa de eficiência proteica média de 2,28% e taxa de crescimento relativo médio de 1,79%/dia.

As dietas experimentais não alteraram ($p > 0,05$) a composição centesimal do filé dos peixes em relação a proteína bruta (75,9%), lipídeos (7,4%), matéria mineral (10,3%) e na energia bruta (4.401,12 kcal/Kg de energia) (Tabela 14).

15.3 Parâmetros de saúde

Juvenis de tambaqui alimentados com crescente inclusão de silagem de víscera apresentaram resultados similares para os parâmetros de hematócrito, hemoglobina,

contagem de eritrócitos, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média ($P>0,05$) (Tabela 15).

As variáveis: glicose, triglicerídeos, proteínas totais, albumina, globulina e AST, não diferiram entre os grupos experimentais ($P>0,05$). Os peixes que foram alimentados com a dieta 20% SV apresentaram maior concentração de colesterol plasmático (135,76 mg/dL) (Figura 10). Para atividade da enzima ALT dos peixes pela inclusão de silagem na dieta, houve efeito linear negativo ($r^2 = 0,41$; $Y = -0,14X + 11,2$; $P = 0,002$) (Figura 11).

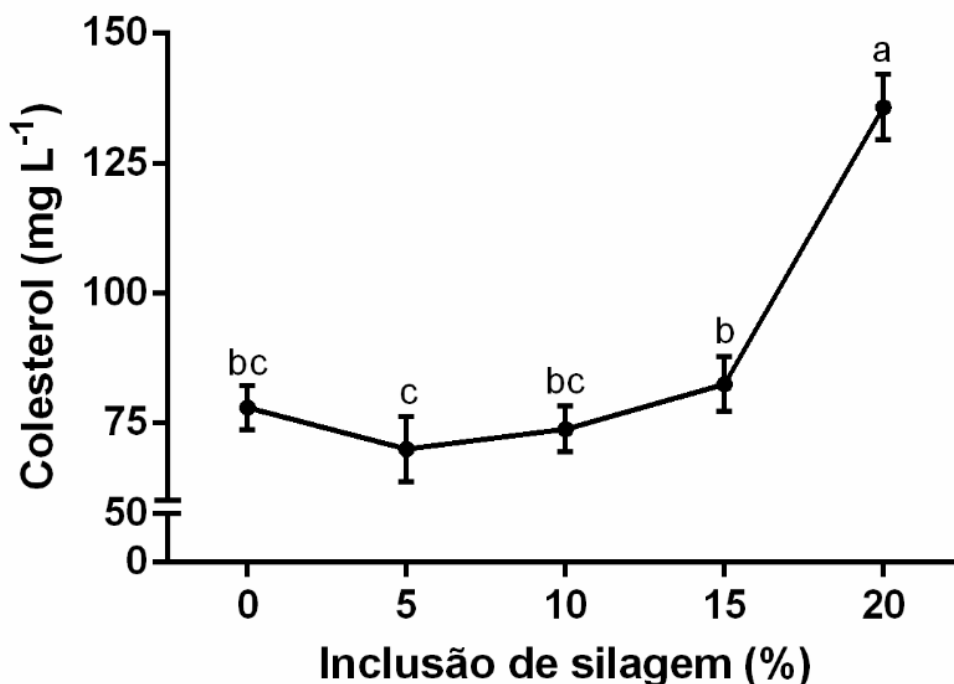


Figura 10. Concentração de colesterol de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem pelo período de 13 semanas.

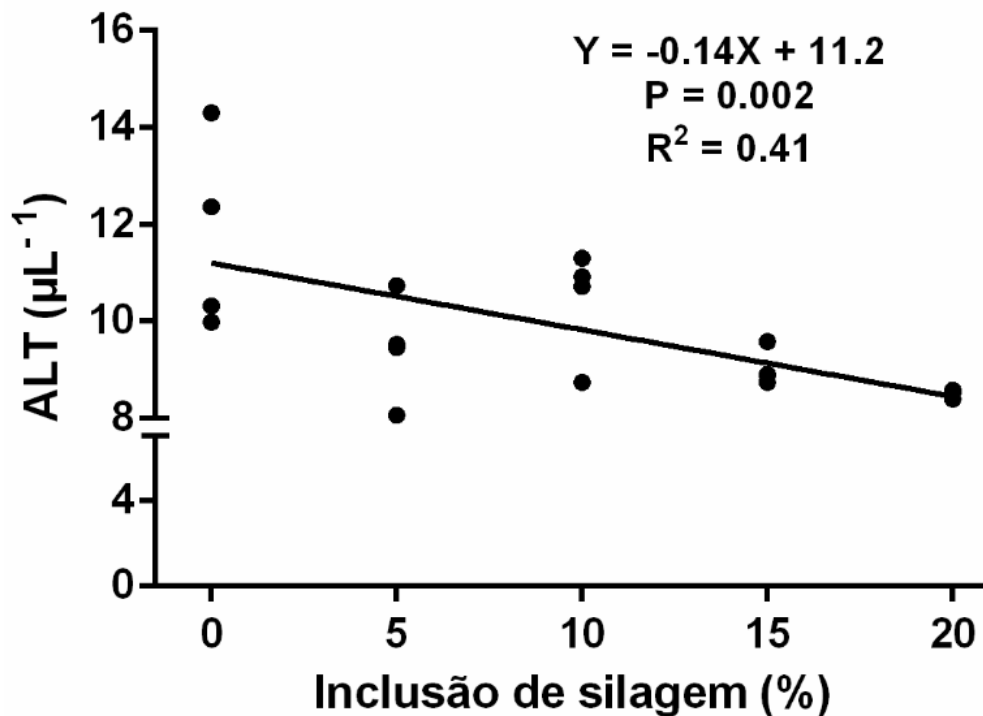


Figura 11. Atividade da enzima alanina transaminase - ALT de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem pelo período de 13 semanas.

15.4 Custo de produção das dietas experimentais

Na avaliação do custo de produção das dietas com inclusão de silagem de víscera foi observado uma pequena variação em reais (R\$ 0,03) entre as dietas experimentais. A dieta sem inclusão de silagem (0% SV) foi a que apresentou maior custo de produção (R\$ 4,68) e a dieta 15% SV foi a que apresentou menor custo de produção (R\$ 4,65) (Tabela 16). A inclusão de silagem de víscera reduziu a participação de milho e farelo de soja nas fórmulas das dietas. A inclusão de silagem de víscera em dieta para juvenis de tambaqui não interferiu nos custos de produção e índices econômicos ($p > 0,05$).

Tabela 12. Qualidade física dos péletes (média \pm desvio padrão) das dietas experimentais contendo níveis crescentes de silagem.

Variável	Níveis de inclusão de silagem úmida					Valor de P
	0% SV	5% SV	10% SV	15% SV	20% SV	
Umidade (%)	6,39 \pm 0,33 ^b	6,44 \pm 0,26 ^b	5,47 \pm 0,40 ^c	5,55 \pm 0,28 ^c	6,58 \pm 0,30 ^{ab}	<0,001
Taxa de expansão (%)	39,44 \pm 9,26 ^a	32,11 \pm 7,43 ^b	23,81 \pm 9,87 ^c	21,21 \pm 9,87 ^c	20,57 \pm 9,78 ^c	<0,001
Flutuabilidade (%)	100 ^a	91,33 \pm 6,06 ^{ab}	89,33 \pm 5,96 ^{ab}	97,33 \pm 4,35 ^{ab}	85,33 \pm 9,01 ^b	0,003
Densidade aparente (g/L)	385,43 \pm 5,44 ^b	403,68 \pm 6,03 ^a	407 \pm 3,10 ^a	380,67 \pm 4,50 ^b	402,17 \pm 3,36 ^a	<0,001
Índice de absorção de água (g/g)	9,70 \pm 0,16	9,60 \pm 0,10	9,58 \pm 0,24	9,61 \pm 0,20	9,60 \pm 0,14	0,86
Índice de solubilidade em água (%)	3,84 \pm 0,73	3,67 \pm 0,51	3,51 \pm 0,18	5,32 \pm 1,17	4,54 \pm 1,15	0,15

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha indicam diferença estatística entre os níveis de inclusão de silagem (P <0,05).

Tabela 13. Desempenho zootécnico e Índices biométricos (média \pm desvio padrão) de tambaqui, *Colossoma macropomum* alimentados com dieta contendo níveis crescentes de silagem durante 13 semanas.

Variável	Níveis de inclusão de silagem úmida					Valor de P
	0% SV	5% SV	10% SV	15% SV	20% SV	
Peso final (g)	114,12 \pm 13,69	100,06 \pm 23,40	120,85 \pm 4,0	106,12 \pm 15,46	116,50 \pm 13,89	0,36
Comprimento total final (cm)	19,69 \pm 1,65	17,54 \pm 1,10	18,81 \pm 0,14	18,02 \pm 0,97	18,54 \pm 0,71	0,09
Ganho de peso (g)	92,06 \pm 13,63	78,12 \pm 23,17	98,71 \pm 3,98	84,07 \pm 15,39	94,38 \pm 13,92	0,36
Conversão alimentar aparente	1,43 \pm 0,08	1,55 \pm 0,19	1,36 \pm 0,03	1,42 \pm 0,08	1,41 \pm 0,11	0,23
Taxa de eficiência proteica (%)	2,26 \pm 0,12	2,13 \pm 0,28	2,45 \pm 0,06	2,26 \pm 0,13	2,30 \pm 0,18	0,16
Taxa de crescimento relativo (%/dia)	1,82 \pm 0,14	1,66 \pm 0,23	1,88 \pm 0,04	1,73 \pm 0,16	1,84 \pm 0,13	0,32
Sobrevivência (%)	100	100	100	100	100	-
Índice víscero-somático (%)	7,01 \pm 0,59	6,74 \pm 0,65	6,99 \pm 0,38	6,80 \pm 0,44	6,80 \pm 0,39	0,92
Índice hepatossomático (%)	0,86 \pm 0,13	0,88 \pm 0,10	0,96 \pm 0,12	0,91 \pm 0,17	0,86 \pm 0,18	0,86
Índice gordura viscerosomático (%)	3,14 \pm 0,40	2,92 \pm 0,54	2,92 \pm 0,48	3,03 \pm 0,26	2,89 \pm 0,71	0,96

As médias foram analisadas pela ANOVA de uma via e pelo teste de Tukey (P<0,05). Peso inicial (g): 22,6 \pm 1,7.

Tabela 14. Composição centesimal (média \pm desvio padrão) de músculo de juvenis de tambaqui, alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem (% da matéria seca), durante 13 semanas.

Variável	Níveis de inclusão de silagem úmida						Valor de P
	Inicial	0% SV	5% SV	10% SV	15% SV	20% SV	
Matéria seca (%)	92,79 \pm 0,48	93,79 \pm 0,23	93,12 \pm 0,93	93,57 \pm 0,69	94,11 \pm 0,69	93,52 \pm 1,53	0,35
Proteína bruta (%)	80,43 \pm 2,13 ^a	76,33 \pm 1,17 ^b	76,11 \pm 2,26 ^b	74,72 \pm 1,17 ^b	76,80 \pm 0,79 ^b	75,75 \pm 0,97 ^b	0,001
Lipídios (%)	7,18 \pm 0,29	7,17 \pm 0,13	7,77 \pm 0,49	8,15 \pm 0,31	7,17 \pm 1,52	6,97 \pm 0,61	0,21
Matéria mineral (%)	10,93 \pm 0,45	10,09 \pm 0,91	10,11 \pm 1,18	10,48 \pm 0,25	9,91 \pm 1,05	10,31 \pm 0,52	0,55
Energia bruta (kcal/Kg) ¹	4303,05 \pm 86,6	4438,73 \pm 97,89	4462,83 \pm 146	4428,01 \pm 107,45	4316,98 \pm 124,94	4457,12 \pm 140,95	0,26

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas indicam diferença estatística entre os níveis de inclusão de silagem (P <0,05). ¹Energia bruta (kcal/Kg) em análise realizada por bomba calorimétrica IKA 2600.

Tabela 15. Parâmetros hematológicos e bioquímicos do plasma (média \pm desvio padrão) de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo níveis crescentes de silagem durante 13 semanas.

Variáveis	Níveis de inclusão de silagem úmida					Valor de P
	0% SV	5% SV	10% SV	15% SV	20% SV	
Hematócrito (%)	35,43 \pm 1,02	36,43 \pm 2,21	37,43 \pm 2,19	36,53 \pm 3,3	35,48 \pm 3,66	0,39
Hemoglobina (g/dL)	6,75 \pm 0,26	6,95 \pm 0,35	7,23 \pm 0,26	6,83 \pm 0,78	6,77 \pm 0,37	0,56
Eritrócitos ($\times 10^6$ cel/ μ L)	2,68 \pm 0,18	2,47 \pm 0,22	2,53 \pm 0,17	2,45 \pm 0,22	2,63 \pm 0,04	0,34
VCM (fL)	137,09 \pm 3,60	144,92 \pm 15,95	150,60 \pm 16,30	145,24 \pm 14,75	136,11 \pm 12,89	0,54
HCM (cp)	26,52 \pm 2,32	28,27 \pm 3,15	29,15 \pm 2,97	27,82 \pm 2,83	26,21 \pm 1,54	0,50
CHCM (g/dL)	18,94 \pm 0,76	18,86 \pm 0,89	19,28 \pm 0,72	19,48 \pm 1,24	19,46 \pm 1,51	0,88
Glicose (mg/dL)	98,35 \pm 4,69	92,65 \pm 12,97	91,50 \pm 6,08	92,85 \pm 22,58	90,35 \pm 18,98	0,95
Colesterol (mg/dL)	77,89 \pm 4,24 ^{bc}	69,89 \pm 6,27 ^c	73,70 \pm 4,41 ^{bc}	82,37 \pm 5,26 ^b	135,76 \pm 6,32 ^a	<0001
Triglicerídeos (mg/dL)	135,49 \pm 15,04	140,24 \pm 21,14	137,09 \pm 11,92	154,43 \pm 34,56	133,29 \pm 8,99	0,62
Proteínas totais (g/dL)	2,48 \pm 0,21	2,30 \pm 0,42	2,48 \pm 0,14	2,33 \pm 0,16	2,23 \pm 0,21	0,55
Albumina (g/dL)	0,68 \pm 0,04	0,64 \pm 0,05	0,65 \pm 0,08	0,67 \pm 0,05	0,65 \pm 0,05	0,76
Globulina (g/dL)	1,80 \pm 0,25	1,72 \pm 0,31	1,82 \pm 0,14	1,70 \pm 0,16	1,56 \pm 0,22	0,53
ALT (U/L)	11,96 \pm 2,39 ^{ab}	9,62 \pm 1,39 ^{bc}	10,42 \pm 1,15 ^{bc}	9,02 \pm 0,38 ^{bc}	8,44 \pm 0,07 ^c	0,02
AST (U/L)	54,72 \pm 16,73	43,89 \pm 6,43	48,58 \pm 6,17	44,18 \pm 9,39	43,35 \pm 4,60	0,44

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas indicam diferença estatística entre os níveis de inclusão de silagem ($P < 0,05$). ALB/GB – relação albumina e globulina; ALT - alanina aminotransferase; AST - aspartato aminotransferase; VCM - volume corpuscular médio; HCM – hemoglobina corpuscular média; CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média;

Tabela 16. Custo de produção e índices econômicos de tambaqui alimentados com níveis crescentes de inclusão de silagem.

Variável	Níveis de inclusão de silagem úmida					Valor de P
	0% SV	5% SV	10% SV	15% SV	20% SV	
Custo dieta (R\$)	4,68	4,67	4,66	4,65	4,67	-
Produção de peixe (Kg)	2,41±0,35	2,13±0,45	2,62±0,12	2,30±0,42	2,52±0,29	0,34
Consumo de dieta (Kg)	2,68±0,32	2,47±0,39	2,81±0,18	2,49±0,37	2,78±0,21	0,40
Custo de alimentação (R\$)	12,54±1,50	11,53±1,81	13,09±0,85	11,58±1,73	12,98±0,98	0,49
Índices econômicos						Valor de P
Receita bruta (R\$)	19,28±2,77	17,03±3,63	20,96±0,96	18,36±3,28	20,16±2,32	0,34
Taxa de conversão econômica	5,20±0,20	5,41±0,29	4,99±0,16	5,03±0,23	5,15±0,21	0,09
Índice de lucro econômico	6,74±1,15	5,50±1,51	7,87±0,39	6,78±1,41	7,18±0,95	0,36
Cálculo da rentabilidade	2,80±0,20	2,59±,29	3,01±0,16	2,97±0,23	2,85±0,21	0,09
Eficiência econômica	1,30±0,26	1,02±0,35	1,58±0,09	1,34±0,33	1,39±0,25	0,32

16. DISCUSSÃO

Péletes de dietas com adequadas características físicas mantem as propriedades nutricionais conservadas, apresentam maior estabilidade em água, menor lixiviação de nutriente, reduzindo a possibilidade de eutrofização dos viveiros (Pastore et al., 2013). Apesar dos péletes das dietas experimentais terem apresentado diferentes valores de umidade, todos foram inferiores a 10%, o que reduz a possibilidade de proliferação de bactérias e fungos, garantindo a conservação das dietas por maior período (Lambert et al., 2017).

A inclusão de silagem, alterou o processo de extrusão das dietas. À medida que aumentava o nível de inclusão de silagem nas dietas, os péletes apresentavam menor expansão e maior densidade aparente. Os péletes das dietas com silagem demonstraram menor flutuabilidade, o que pode ser confirmado pelo menor número de câmaras de ar, avaliadas pela microscopia eletrônica de varredura. As câmaras de ar são formadas quando há gelatinização do amido e rápida expansão pela evaporação da água o que pode influenciar a estabilidade dos péletes em água (Kamarudin et al., 2018). Contudo as dietas continham valores de extrativo não nitrogenados aproximados, possivelmente, o teor de lipídeo das silagens interferiu no processo de extrusão, mas não afetou o consumo das dietas pelos peixes e não houve diferença no ganho de peso dos animais.

As alterações dos parâmetros físicos das dietas com inclusão de silagem podem estar relacionadas ao aumento do nível de lipídeos nas formulações. O teor de lipídeos na mistura dos ingredientes influencia no processo de extrusão, pois aumenta a taxa de passagem da mistura e, conseqüentemente, diminui o atrito com o canhão da extrusora (energia mecânica), necessário para extrusão dos péletes (Irungu et al., 2018). A diminuição do atrito da mistura com o canhão da extrusora prejudica a cocção do amido e altera as características físicas dos péletes, como expansão, densidade e flutuabilidade (Pacheco et al., 2018). As dietas utilizadas nesse estudo foram processadas em extrusora monorosca, o que limita a extrusão de dietas com altos níveis de lipídeos (Pacheco et al., 2018). Uma forma de otimizar a produção de dietas com silagens, seria utilizar extrusora dupla rosca que permite a inclusão de maiores níveis de silagem úmida, bem como a produção de péletes com alta taxa de expansão. A extrusora dupla rosca consegue cozinhar alimentos com alta energia (inclusive gordurosos), pois envolve a transferência alternada da mistura de uma rosca para outra (Dalcin, 2020).

Dieta com inclusão de até 20% de silagem de víscera não interferiu o processo de gelatinização do amido, pois os péletes mantiveram a agregação dos ingredientes

(Fellows, 2018). Os péletes mostraram baixa absorção e solubilidade em água, o que mantém a estabilidade, durabilidade e reduz a desintegração dos péletes por lixiviação (Arévalo, 2019).

16.1 Desempenho zootécnico, índices biométricos e composição centesimal

Juvenis de tambaquis alimentados com dietas com inclusão de silagem de víscera não apresentaram rejeição das dietas ofertadas. A silagem de vísceras de peixe contém peptídeos curtos e aminoácidos livres resultantes do processo de hidrólise proteica, o que a torna palatável e de mais fácil digestão e rápida absorção dos nutrientes do que a proteína íntegra (Hisano et al., 2013; Norgaard et al., 2015; Herrero e Vittone, 2015). Assim, como as silagens de resíduos de processamento de pescado, as silagens de vísceras também promovem o crescimento de juvenis de tambaqui, não diferenciando das dietas sem inclusão de silagem (Padilla-pérez et al., 2001; Costa et al., 2022).

Os valores de ganho de peso apresentados pelos tambaquis nesse estudo estão de acordo com os valores encontrados por Costa et al. (2022), para peixes em condições experimentais por um período de 13 semanas. Assim como o valor médio de conversão alimentar (1,43) semelhante ao observado na literatura para juvenis de tambaqui (Nunes et al., 2006; Souza et al., 2014).

Os juvenis de tambaqui alimentados com dietas com diferentes níveis de silagem de víscera não tiveram os índices biométricos alterados. Resultado semelhante foi observado para pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e no híbrido tambacu quando alimentados com dietas com inclusão de silagem ácida de resíduos de pescado em substituição ao farelo de soja (Corrêa et al., 2020). Alterações nos índices biométricos são comumente encontradas em peixes que ingeriram alta quantidade dietética de carboidratos, sendo que o excesso é depositado na forma de glicogênio e lipídeos no fígado e/ou armazenado ao redor das vísceras (Peres e Oliva-Teles, 2002; Tibaldi et al., 2006). Porém, as dietas do presente estudo apresentavam valores de extrativos não nitrogenados semelhantes, e conseqüentemente, não influenciou nos índices biométricos dos peixes.

O tecido muscular é formado durante a fase de crescimento dos peixes, e a medida que o peixe cresce ocorre o acúmulo de gordura entre as fibras musculares (2 - 6%). Assim devido ao crescimento dos peixes e acúmulo de gordura, o teor de proteína bruta no músculo dos peixes foi menor que no músculo dos peixes antes do início do experimento (Almeida, 2006).

16.2 Parâmetros de saúde

Juvenis de tambaqui não apresentaram alterações nos parâmetros hematológicos por influência da alimentação. Os valores apresentados nesse estudo estão dentro do intervalo de referência estabelecido para tambaqui (Tavares-Dias e Mariano, 2015), o que indica que os peixes alimentados com diferentes níveis de inclusão de silagem na dieta estavam em bom estado de saúde.

No entanto, juvenis de tambaqui alimentados com 20% SV apresentaram elevada concentração de colesterol plasmático. O colesterol é uma forma de armazenamento de energia corporal em peixes, que pode ser acumulado no tecido adiposo, visceral e muscular (Wang et al., 2005; Zhong et al., 2007), que indica a condição nutricional, e possíveis alterações do metabolismo de lipídeos e lipoproteínas do fígado (Wagner e Congleton, 2004). Possivelmente, a concentração de colesterol plasmático foi influenciada pelo teor de lipídeos das dietas com maior inclusão de silagem de víscera. Porém, os valores de colesterol encontrados no presente estudo estão dentro do intervalo de referência (133,55 a 208,08 mg/dL) encontrado em juvenis de tambaqui sem indícios de disfunção metabólica ou dano hepático (Silva et al., 2020). Além disso, os baixos valores de ALT e AST descartam a possibilidade de quaisquer distúrbios no metabolismo de lipídeos (Ventura et al., 2021). A ALT é uma enzima de extravasamento que está livre em grande concentração no citoplasma de hepatócitos. Altas concentrações da enzima ALT podem ser encontradas na corrente sanguínea diante de mudanças no metabolismo de nutrientes ou pode ser indicativo de dano prejudicial no tecido hepático (Zargar et al., 2019).

A maior concentração da atividade da enzima ALT nos peixes alimentados com dieta sem a inclusão de silagem pode ser devido ao maior percentual de ingredientes de origem vegetal. A proteína de origem vegetal parece possuir maior dificuldade em ser metabolizada, necessitando de um esforço maior para poder degradar as proteínas e assim suprir as necessidades dos peixes (Soares, 2014). Como em juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), que quando tiveram a substituição total de farinha de peixe por farelo de soja apresentaram aumento significativo da atividade da enzima ALT (Soares, 2014). Esse fato também ocorreu com juvenis de linguado (*Platichthys stellatus*), quando a farinha de peixe foi substituída por proteína de soja hidrolisada (Song et al., 2014).

16.3 Custo de produção das dietas experimentais

O farelo de soja apresentou o maior valor de comercialização em relação a todos os ingredientes da dieta. Além disso, sua participação em média foi de 31%, nas formulações, totalizando o maior custo das dietas. Porém, as inclusões das silagens permitiram reduzir o farelo de soja em até 5,3%, essa substituição pode ser representativa para rações produzidas no estado do Amazonas, que é dependente da importação de ingredientes de estados produtores, assim elevando os custos das rações produzidas no estado do Amazonas (Bussons et al., 2021).

Há de se considerar que as silagens desse estudo foram produzidas em escala artesanal. Os índices econômicos das dietas extrusadas com silagem de vísceras podem ser melhorados com o escalonamento da produção, que tende a diminuir os custos fixos (Carareto et al., 2006) e resultar em silagens com menores preços finais do que o valor apresentado nesse estudo. Outra possibilidade, seria aumentar o nível de inclusão de silagem de víscera nas dietas, já que níveis até 30% de silagem na dieta não afetaram o desempenho zootécnico de tilápia-do-nilo e reduziu 27,4% no custo de produção (Carvalho et al., 2006). Porém, o processo de extrusão em extrusora monorosca é limitado em relação ao conteúdo de lipídeos. Assim, a extração total da gordura da silagem poderia possibilitar maiores níveis de inclusão na extrusora monorosca sem prejudicar as propriedades físicas dos péletes. A extrusão da mistura em extrusora dupla rosca, poderia permitir a inclusão de maiores níveis da silagem de víscera íntegra e úmida no pré-condicionador.

A bioconversão das vísceras em de silagem contribui para reduzir o impacto ambiental do descarte inadequado, fortalecendo a aquicultura circular e a responsabilidade ambiental da cadeia produtiva do tambaqui.

Agradecimentos: Este trabalho foi apoiado por bolsas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM (004/2018 - AMAZONAS ESTRATÉGICO) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Processo 88881.068171/2014-01). A equipe de pesquisa do grupo GIGAS pela assistência durante o experimento.

17. CONCLUSÃO

A inclusão de 20% de silagem de víscera parcialmente desengordurada afetou a taxa de expansão, densidade e flutuabilidade dos péletes, contudo os peixes consumiram todas as dietas experimentais. A silagem de víscera parcialmente desengordurada pode ser incluída em até 20% da formulação de dietas extrusada para juvenis de tambaqui, sem proporcionar prejuízos ao desempenho zootécnico e saúde. Os índices econômicos foram similares, porém podem ser melhorados com escalonamento da produção de silagem e aumento no nível de inclusão de silagem de víscera na formulação da dieta. A bioconversão das vísceras de peixe em de silagem contribui para reduzir o impacto ambiental e para aquicultura circular do tambaqui.

18. REFERÊNCIAS

- Acerete, L., Balasch, JC, Espinosa, E, Josa, A, Tort, L, 2004. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*, 237(1-4), 167-178. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.018>
- Almeida, LCD, Perfil digestivo e metabólico de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), alimentados com diferentes teores de proteína e lipídio. 2006. 91f. Dissertação (Mestre em genética e evolução) - Universidade Federal de São Carlos.
- Anderson, RA, 1982. Water absorption and solubility and amylograph characteristics of roll-cooked small grain products. *Cereal Chemistry*. 59: 265-269.
- AOAC. Association of Official Agriculture Chemists, 2012. Official methods of analyses of the Association of Agriculture Chemists. Washington.
- Araújo-Lima, C, Goulding, M, 1998. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá.
- Arévalo, AM, Formulação e avaliação físico-química e tecnológica de rações extrudadas para peixes. 2019, 92f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- Arruda, LFD, Oetterer, M, 2005. Silagem ácida: uma tecnologia alternativa para aproveitamento do resíduo do processamento do pescado. *Revista de Aquicultura & Pesca*, 14: 30-33.
- Assano, M., Ramirez, APM, Stech, MR, Honorato, CA, Malheiros, EB, & Carneiro, DJ, 2011. Desempenho de tilápia do nilo cultivadas em viveiros alimentadas com

- diferentes fontes e níveis proteicos. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, 15: 83-92.
- Bussons, INB., da Silva Sousa, E., Aride, PHR., Duncan, WLP., Pantoja-Lima, J., Furuya, WM., Oliveira, AT., Bussons, MRFM., and Faggio, C. (2021). Growth performance, hematological responses and economic indexes of *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) fed graded levels of glycerol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 249, 109122. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109122>
- Carareto, ES., Jayme, G, Tavares, MPZ, Vale, VP, 2006. Gestão estratégica de custos: custos na tomada de decisão. *Revista de Economia da UEG*, 2: 1-24.
- Carvalho, GGPD, Pires, AJV, Veloso, CM, Silva, FFD, Carvalho, BMAD, 2006. Fish filleting residues silage in tilapia fingerlings diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35: 126-130. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000100016>
- Cavero, BAS, Rubim, MAL, Pereira, TM, 2009, Criação comercial do tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá, 1: 33-46
- Corrêa, CF., Oliveira, TDS, Leonardo, AF, Reis Neto, RV, Enke, DBS, 2020. Silagem ácida de peixe na dieta de pacu e tambacu criados à temperatura subótima fria. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 55: e01653. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.01653>
- Costa, MNF, Furtado, YIC, Monteiro, CC, Brasiliense, ARP, Yoshioka, ETO, 2022. Physiological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets supplemented with silage from fish and vegetables residues. *Brazilian Journal of Biology*, 84: 1-7. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.255493>
- Coutinho, JJO, Neira, LM, de Sandre, LCG, da Costa, JI, Martins, MIEG, Portella, MC, Carneiro, DJ, 2018. Carbohydrate-to-lipid ratio in extruded diets for Nile tilapia farmed in net cages. *Aquaculture*, 497: 520-525. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.014>
- Cruz, CR., Kamarudin, MS, Saad, CR, Ramezani-Fard, E, 2015. Effects of extruder die temperature on the physical properties of extruded fish pellets containing taro and broken rice starch. *Animal Feed Science and Technology*, 199: 137-145. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.11.010>

- Dalcin, MO, Otimização do processo de extrusão de ração padrão para tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). 2020. 122f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
- Dantas Filho, JV., Ferreira, E, Cavali, J, 2019. Silagem de pescado como componente proteico para dieta de peixes tropicais comercializados na Amazônia. *Tekhne e Logos*, 10: 55-67.
- Davies, SJ., Guroy, D, Hassaan, MS, El-Ajnaf, SM, El-Haroun, E, 2020. Evaluation of co-fermented apple-pomace, molasses and formic acid generated sardine based fish silages as fishmeal substitutes in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) production. *Aquaculture*, 521: 735087. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735087>
- Enke, DBS, Lopes, PRS, Britto, ACPD, Rocha, CB, Pouey, JLOF, 2013. Desempenho de alevinos de jundiá alimentados com silagem de rejeito de peixe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 1124-1127. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800045>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2022. Fishery and Aquaculture Country Profiles - Mexico. Country Profile Fact Sheets (Rome, Italy: Fisheries and Aquaculture Division). Available at: <https://www.fao.org/fishery/en/facp/mex?lang=en>.
- Fellows, P. J, 2018. *Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática*. Artmed Editora 4: 944.
- Guimarães, IG., Martins, GP, 2015. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. *Journal of Applied Ichthyology*, 31: 57-66. <https://doi.org/10.1111/jai.12976>.
- Herrero, F., Vittone, M, Salomone A, & Manca, E, 2015. Biological silage of *Merluccius hubbsi*. Amino acid composition, degree of hydrolysis and peptides size. *Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 3: 57-62. <http://dx.doi.org/10.15739/ibspr.013>
- Hilsdorf, AWS., Hallerman, E, Valladão, GMR, Zaminhan-Hassemer, M, Hashimoto, DT, Dairiki, JK, Takahashi, LS, Albergaria, FC, Gomes, MES, Venturieri, RLL, Moreira, RG, Cyrino, JEP, 2022. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture*, 14: 993-1027. <https://doi.org/10.1111/raq.12638>

- Hisano, H., Pietro, PSD, 2013. Growth performance and digestibility of juvenile Nile tilapia fed diets containing acid silage viscera of surubim catfish. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35: 1-6. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v35i1.14470>
- Honorato, C., Frizzas, OG, Carneiro, DJ, 2012. Digestibilidade da silagem de peixe com diferentes tempos de armazenamento para alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, 16: 85-95.
- Inoue, LA, Boijink, CL, Ribeiro, PT, Silva, AM, Affonso, EG. 2011. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. *Acta Amazônica*. 41:327-32. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000200020>
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2021. Available online: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940> (accessed on 29 November 2022).
- Irungu, FG., Mutungi, CM, Faraj, AK, Affognon, H, Kibet, N, Tanga, C, Ekesi, C, Nakimbugwe, D, Fiaboe, KKM, 2018. Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and adult cricket (*Acheta domesticus*) meals. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4: 19-30. <https://doi.org/10.3920/JIFF2017.0008>
- Kamarudin, MS., De Cruz, CR, Saad, CR, Romano, N, Ramezani-Fard, E, 2018. Effects of extruder die head temperature and pre-gelatinized taro and broken rice flour level on physical properties of floating fish pellets. *Animal Feed Science and Technology*, 236: 122-130. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.007>
- Lambert, C., Cartailier, J, Rouchouse, S, Almeida, G, Courtois, F, 2017. Characterization and modeling of cooling and drying of pellets for animal feed. *Drying Technology*, 36: 255-266. <https://doi.org/10.1080/07373937.2017.1323760>
- Liebl, ARDS., Cáo, MA., dos Santos Nascimento, M., Castro, PDDS., Duncan, WLP., Pantoja-Lima, J., Aride, PHR., Bussons, MRFM., Furuya, WM., Faggio, C., e de Oliveira, A. T. 2022. Dietary lysine requirements of *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) based on growth performance, hepatic and intestinal morphohistology and hematology. *Veterinary Research Communications*, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11259-021-09872-6>
- Liebl, ARDS., Nascimento, MDS., Rocha-Aride, PH., Pantoja-Lima, J., Fragoso Machado-Bussons, MR., Massamitu-Furuya, W., & Oliveira, ATD. 2021. Lysine effect on the characterization of fillet, by-products, residues, and morphometry of

- tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Latin american journal of aquatic research, 49(4), 620-631. <http://dx.doi.org/10.3856/vol49-issue4-fulltext-2701>
- Lutz, Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, São Paulo: IMESP, 1985. 3: 27.
- Matsunaga, M., Bemelmans, PF, Toledo, PD, Dulley, RD, Okawa, H, Pedroso, IA 1976. Metodologia de custo de produção utilizada pelo IEA. Agricultura em São Paulo, 23: 123-139.
- Norgaard, JV., Petersen, JK, Topping, DB, Jorgensen, H, Lærke, HN, 2015. Chemical composition and standardized ileal digestibility of protein and amino acids from blue mussel, starfish, and fish silage in pigs. Animal Feed Science and Technology, 205: 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.04.005>
- Nunes, EDSS., Cavero, BAS, Pereira-Filho, M, Roubach, R, 2006. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41: 139-143. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000100019>
- Oliveira, VM., Assis, CRD, Herculano, PN, Cavalcanti, MTH., de Souza Bezerra, R, Figueiredo, AL, 2017. Collagenase from smooth weakfish: extraction, partial purification, characterization and collagen specificity test for industrial application. Boletim do Instituto de Pesca, 43: 52-64. <https://doi.org/10.20950/16782305.2017v43n1p52>
- Pacheco, PD, Putarov, TC, Baller, MA, Peres, FM, Loureiro, BA, Carciofi, AC, 2018. Thermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods. Animal Feed Science and Technology, 243: 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.003>
- Padilla-Pérez, P., Pereira-Filho, M, Mori-Pinedo, LA, de Oliveira-Pereira, MI, 2001. Influência do ensilado biológico de peixe e do resíduo de peixe cozido no crescimento e na composição corporal de alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Acta Amazônica, 31: 501-501. <https://doi.org/10.1590/1809-43922001313507>
- Pastore, SCG., Gaiotto, JR, Ribeiro, FAZ, Nunes, AJP, 2013. Boas práticas de fabricação e formulação de rações para peixes. In: FRACALOSSO, D.M. e CYRINO, J.E.P. (Eds.). NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. cap.16, 295-346p.
- Pereira-Da-Silva, EM., de Oliveira, RHF, 2017. Portable point-of-care device as alternative tool for monitoring blood glucose in lambari *Astyanax altiparanae*: stress

- and sex-specific effects. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43: 557-568. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n4p557>
- Peres, H., Oliva-Teles, A, 2002. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 205: 287-299. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00682-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00682-2)
- Ranzane-Paiva, MJT, Pádua, SB, Tavares-Dias, M, & Egami, MI, 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Editora da Universidade Estadual de Maringá-EDUEM.
- Rossetto, JF., Signor, A, 2021. Inovações tecnológicas empregadas em coprodutos gerados pelo processamento do pescado. *Pubvet*, 15: 134. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n04a796.1-11>
- Shang, YC., 1990. *Aquaculture economic analysis: an introduction*. World Aquaculture Society.
- Silva, AF., Copatti, CE, de Oliveira, EP, Bonfá, HC, de Melo, FVST, de Silva Camargo, AC, Melo, JFB, 2020. Effects of whole banana meal inclusion as replacement for corn meal on digestibility, growth performance, haematological and biochemical variables in practical diets for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Reports*, 17: 100307. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100307>
- Soares, DRP. Substituição de farinha de peixe por farelo de soja para juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). 2014. 49f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.
- Song, Z., Li, H, Wang, J, Li, P, Sun, Y, & Zhang, L, 2014. Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 426: 96-104. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.002>
- Souza, AFLD., Inhamuns, AJ, 2011. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta amazônica*, 41: 289-296. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000200015>
- Souza, RC., Campeche, DFB, Campos, RML, Figueiredo, RACR, Melo, JFB, 2014. Frequência de alimentação para juvenis de tambaqui. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66: 927-932. <https://doi.org/10.1590/1678-41625557>

- Tavares-Dias, M., Mariano, WS, 2015. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. *Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas*, São Carlos: Pedro & João Editores. 1: 429.
- Tibaldi, E., Hakim, Y, Uni, Z, Tulli, F, de Francesco, M, Luzzana, U, Harpaz, S, 2006. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 261: 182-193. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.026>
- Ventura, AS., Jerônimo, GT, Corrêa Filho, RAC, de Souza, AI, Stringhetta, GR, da Cruz, MG, Torres, GS, Gonçalves, LU, Povh, JA, 2021. *Ocimum basilicum* essential oil as an anesthetic for tambaqui *Colossoma macropomum*: Hematological, biochemical, non-specific immune parameters and energy metabolism. *Aquaculture*, 533: 736124. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736124>
- Wagner, T., Congleton, JL, 2004. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61: 1066-1074. <https://doi.org/10.1139/f04-050>
- Wang, S., Liu, YJ, Tian, LX, Xie, MQ, Yang, HJ, Wang, Y, Liang, GY, 2005. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, 249: 419-429. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.005>
- Zargar, A., Rahimi-Afzal, Z, Soltani, E, Taheri Mirghaed, A, Ebrahimzadeh-Mousavi, HA, Soltani, M, Yuosefi, P, 2019. Growth performance, immune response and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed *Thymus vulgaris* essential oils. *Aquaculture Research*, 50: 3097-3106. <https://doi.org/10.1111/are.14243>
- Zhong, F, Zhang, X, MJ, Shoemaker, CF, 2007. Fractionation and identification of a novel hypocholesterolemic peptide derived from soy protein Alcalase hydrolysates. *Food Research International*, 40: 756-762. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.01.005>

19. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As vísceras de tambaqui podem ser destinadas para produção de silagem resultando em ingrediente de baixo custo. A produção silagem requer baixo investimento e é fácil de ser produzida, podendo ser uma tecnologia aplicada para produção de rações artesanais destinadas às pisciculturas familiares da região amazônica

- Silagens fermentadas produzidas com víscera de tambaqui alcançaram o pH próximo de 4 no quarto dia de ensilagem. A inclusão de 3% de ácidos (ácido clorídrico e ácido cítrico) na formulação da silagem ácida, tornou o produto muito ácido, assim, recomenda-se o ajuste do pH para poder ser utilizado em dietas animais;

- As silagens ácidas e fermentadas de víscera de tambaqui apresentaram todos os aminoácidos essenciais, e maior concentração de ácidos graxos monoinsaturados, com alta digestibilidade dos nutrientes e energia bruta para juvenis de tambaqui. Apresentando-se como um ingrediente em potencial para dietas para aquicultura;

- As silagens de vísceras úmidas e parcialmente desengorduradas podem ser utilizadas em níveis de até 20% de inclusão em dietas para tambaqui, sem comprometer o desempenho zootécnico e a saúde dos peixes;

- Níveis maiores de inclusão de silagem úmida e íntegra em dietas para tambaqui podem ser alcançados em processos realizados em extrusora dupla rosca, ou com a extração total da gordura previamente à extrusão com extrusora monorosca;

- A produção de silagem é uma possibilidade de destinação sustentável às vísceras provenientes dos frigoríficos de pescado da cidade de Manaus-AM. A produção de silagem de vísceras em escala industrial pode reduzir o seu custo de produção, contribuindo para agregar valor à cadeia produtiva do tambaqui;

- Em países da Europa o uso de resíduos de uma espécie em sua própria alimentação é proibido. Se no Brasil, essa norma entrar em vigor, a silagem de vísceras de tambaqui pode ser uma opção para uso como ingrediente na alimentação de tilápias, que é a espécie mais produzida nacionalmente e, com grande demanda por rações. Da mesma forma, silagens de resíduos de tilápia podem ser incluídos na alimentação de tambaqui.