



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CLOVIS INOCENTE FILHO

**SILAGEM ÁCIDA DE CARCAÇAS DE FRANGO:
OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO POR
METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E
UTILIZAÇÃO NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES**

Londrina
2011

CLOVIS INOCENTE FILHO

**SILAGEM ÁCIDA DE CARCAÇAS DE FRANGO:
OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO POR
METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E
UTILIZAÇÃO NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, da Universidade Estadual de
Londrina, como requisito à obtenção do título de
Doutor em Ciência Animal, área de concentração:
Produção Animal.

Orientadora: Dra. Ivone Yurika Mizubuti

Londrina
2011

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca
Central da Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

158s Inocente Filho, Clovis.

Silagem ácida de carcaças de frango : otimização do processo de obtenção por metodologia de superfície de resposta e utilização na alimentação de peixes / Clovis Inocente Filho. – Londrina, 2011.
95 f. : il.

Orientador: Ivone Yurika Mizubuti.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2011.

Inclui bibliografia.

1. Produção animal – Teses. 2. Frango de corte – Carcaça – Silagem – Teses. 3. Peixe – Alimentação e rações – Teses. 4. Superfícies de resposta (Estatística) – Teses. 5. Tilápia (Peixe) – Teses. I. Mizubuti, Ivone Yurika. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636.085

CLOVIS INOCENTE FILHO

**SILAGEM ÁCIDA DE CARCAÇAS DE FRANGO:
OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE OBTENÇÃO POR METODOLOGIA DE
SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E UTILIZAÇÃO NA ALIMENTAÇÃO DE
PEIXES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, da Universidade Estadual de
Londrina, como requisito à obtenção do título de
Doutor em Ciência Animal, área de concentração:
Produção Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª orientadora Dr^ª Ivone Yurika Mizubuti
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Edson Luis de Azambuja Ribeiro
UEL – Londrina – PR

Prof^ª Dra^a Vanerli Beloti
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Fábio Yamashita
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Agostinho Ludovico
UNOPAR – Arapongas – PR

Londrina, 05 de dezembro de 2011.

Dedico e ofereço

A minha esposa Ana Cecília e a minha filha Laís,
pelo companheirismo, amor, compreensão e apoio
em todos os momentos e decisões.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Londrina, ao departamento de Zootecnia, Fazenda Escola, Estação de Piscicultura e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal pela oportunidade de realização do trabalho de tese de Doutorado em Ciência Animal.

À professora *Dra. Ivone Yurika Mizubuti* pela orientação e confiança na realização dos trabalhos.

Ao professor *Dr. Fabio Yamashita* pelo auxílio, colaboração e enriquecimento dos trabalhos.

Aos demais professores doutores *Edson Luis de Azambuja Ribeiro, Valter Harry Bumbieris Junior e Rodrigo da Costa Gomes*, membros da banca de qualificação, pelas contribuições no refinamento deste trabalho.

Ao professor *Dr. Gustavo Adolfo Fregonezi*, pelo auxílio nas análises no Laboratório de solos do departamento Agronomia da UEL.

À Universidade Estadual de Maringá pela realização das análises de Energia bruta dos alimentos utilizados neste trabalho.

À equipe do laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, em especial ao colega de pós-graduação e técnico do laboratório, *Ronaldo Tamanini*, pela amizade e auxílio na execução deste trabalho.

Aos técnicos da Estação de Piscicultura da UEL *Mauro Caetano Filho e Heitor Frossard*, pela amizade e transmissão de conhecimentos desde os tempos de graduação, passando pelo mestrado e doutorado.

Aos técnicos do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal e do Laboratório de solos do departamento de Agronomia da UEL, pelo auxílio das análises laboratoriais.

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da UEL *Jurandir, Valdemar e Valdenir*, pelo auxílio na condução e montagem dos experimentos e boas conversas.

Ao colega de graduação, pós-graduação e amigo *Bruno Mazzer de Oliveira Ramos*, pelas conversas e divagações que renderam a tese de doutorado.

Ao Sr. Luis Antonio de Oliveira Ramos, pela colaboração e fornecimento da matéria prima para os experimentos.

Aos amigos e colegas de pós-graduação, pela convivência, troca de experiência e colaboração nos trabalhos laboratoriais.

Aos estagiários *Marcelo Ferreira Lima, Koiti Komura, Flavio Costa de Souza, Débora Dias de Carvalho e Juliana* pela ajuda na realização dos trabalhos.

A Cooperativa Integrada de Londrina em especial ao *Ingo Bartmeyer*, pelo fornecimento de material para a realização do experimento de engorda dos peixes.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram e participaram da execução do trabalho, ou que colaboraram no crescimento pessoal e científico, meus sinceros agradecimentos.

INOCENTE FILHO, Clovis. **Silagem ácida de carcaças de frango**: otimização do processo de obtenção por metodologia de superfície de resposta e utilização na alimentação de peixes. 2011. 95f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2011.

RESUMO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de frango, com produção média de 11,42 milhões de toneladas em 2010. Estima-se que as perdas devido à mortalidade por causas naturais podem chegar a 5% do plantel. Isto representa uma grande quantidade de material biológico não aproveitado, que quando bem manejado, pode ser transformado em alimento. Com o objetivo de aproveitar essas carcaças de frangos, transformando o resíduo em fonte de proteína para alimentação de peixes, foram realizados três experimentos, como descritos a seguir. **EXPERIMENTO 1: Otimização do processo de obtenção da silagem ácida de carcaças de frango por metodologia de superfície de resposta (MSR)**. O objetivo desse trabalho foi otimizar as melhores condições de obtenção de silagem ácida de carcaças de frango por MSR. Para o preparo da silagem, foram utilizadas carcaças inteiras de frango, moídas em moedor elétrico, homogeneizadas e colocadas em 45 recipientes de polietileno contendo 2 kg cada. Utilizou-se o delineamento fatorial incompleto 3^3 da MSR, com 15 tratamentos e 3 repetições no ponto central. As variáveis otimizadas foram concentração de ácidos (X_1), tempo de armazenamento em dias (X_2) e número de revolvimentos diários (X_3). Os níveis das variáveis foram: $X_1= 3, 5$ e 7% (ácido fosfórico e acético na proporção 4:6); $X_2= 10, 20$ e 30 dias de armazenamento e $X_3= 0, 1$ e 2 revolvimentos diários. As variáveis avaliadas foram: pH, proteína bruta, oxidação lipídica, extração de óleo e contagem de mesófilos. O pH da massa ensilada foi influenciado principalmente por X_1 apresentando efeito linear negativo e quadrático positivo. O tempo de armazenamento apresentou efeito positivo sobre o pH. Para a proteína bruta foi observado efeito linear e quadrático negativo, de X_1 indicando uma região de máximos valores de proteína no ponto central. Na oxidação lipídica, o modelo de predição indicou uma região de mínimos valores próximos ao ponto central. O modelo gerado para extração de óleo indicou máximos valores de extração quando a silagem é armazenada por longos períodos e com utilização de altas concentrações de ácidos. O modelo gerado para contagem de mesófilos mostrou varias interações entre as variáveis, sendo que a superfície de resposta indicou uma região com maior número de microrganismos quando se utiliza baixas concentrações de ácidos e poucos dias de armazenamento da silagem. A MSR permitiu a otimização das variáveis independentes. A concentração de ácidos que melhor representa os valores ideais de pH ficou em 5% (2% ácido fosfórico, 3% ácido acético), sendo necessário o armazenamento por pelo menos 20 dias e com apenas um revolvimento diário. **EXPERIMENTO 2: Inoculação experimental de *Salmonella* sp em silagem ácida de carcaças de frango** - Este trabalho foi realizado para avaliar a eficiência de eliminação de microrganismos patogênicos na ensilagem de carcaças de frangos. Para a ensilagem, as carcaças de frango foram moídas, homogeneizadas e adicionadas de 2% de ácido fosfórico, 3% de ácido acético, $0,1\%$ de BHT (Hidroxibutilanisol) e $0,1\%$ de antifúngico (ácido sórbico). Em seguida, foram acondicionadas em minissilos, com inóculo de *Salmonella*, sendo: T0 - controle (sem inóculo); T1 - com 10^2 UFC/g; T2 - com 10^3 UFC/g e T3 - com 10^4 UFC/g, revolvidos uma vez ao dia. A silagem foi monitorada por 45 dias com aferições de pH e temperatura diariamente. Foram realizadas análises químicas e microbiológicas (coliformes a 30 e 45°C e *Salmonella*). O pH médio das silagens foi de $4,2$ ao final de 45 dias de armazenamento e temperatura média de $26,6^\circ\text{C}$. Os resultados

microbiológicos demonstraram que, após 3 dias de ensilagem já não era observada presença de *Salmonella*. O número de coliformes a 30 e 45°C apresentaram valores inferiores a 0,3NMP/g em todos os tratamentos aos 20 dias de armazenamento. O tratamento ácido da silagem foi eficaz na inibição microbiana tornando o produto seguro para ser utilizado na alimentação animal. **EXPERIMENTO 3: Silagem ácida de carcaças de frango na alimentação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).** O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de silagem ácida de carcaças de frangos na alimentação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). A silagem foi preparada utilizando-se carcaças de frango inteiras sem evisceração e com penas pela adição de ácido fosfórico (2%), ácido acético (3%), antioxidante (Hidroxibutilanisol) (0,1%) e ácido sórbico (0,1%). A massa ensilada foi revolvida uma vez ao dia e permaneceu armazenada por 30 dias sendo monitorada a temperatura e pH diariamente. Foram utilizados 120 peixes com peso médio inicial de 146,8 gramas, distribuídos em 12 caixas de 500L, em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições por tratamento. As rações experimentais foram calculadas para serem isoprotéicas (35% de proteína bruta) e isocalóricas (4600 kcal/kg) com a inclusão de 0, 10, 20 e 30% de silagem de frango (em base seca). Foram avaliadas a taxa de sobrevivência, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, rendimento de filé e porcentagem de vísceras. A qualidade da silagem foi avaliada por meio de análises microbiológicas. Os resultados mostraram que após 30 dias de armazenamento, a silagem estava isenta de microrganismos patogênicos, com contagem de coliformes a 30 e 45°C abaixo de 0,3NMP/g e ausência de *Salmonella*. As análises limnológicas mostraram boa qualidade da água com valores atendendo aos requeridos por tilápia do Nilo. Não houve efeito significativo dos diferentes níveis de silagem de frango nas rações, indicando que a silagem pode ser incorporada até 30% na ração sem prejuízo ao desempenho produtivo dos animais.

Palavras chave: Ácido acético. Ácido fosfórico. Metodologia de superfície de resposta. Coliformes. Salmonela. Silagem ácida de frango. Tilápia.

INOCENTE FILHO, Clovis. **Acid silage from poultry carcasses**: Optimization of obtaining process by response surface methodology and its use in Nile tilapia feeding. 2011. 95f. Thesis (Doctorate in Animal Science) – State University of Londrina, Londrina, 2011.

ABSTRACT

Brazil is the third largest producer of poultry meat in the world, with an average production of 11.42 million tons in 2010. It is estimated that losses due to natural deaths could reach 5% of total poultry. This represents a lot of untapped biological material, which when well managed, can be transformed in food. In order to take advantage of these poultry carcasses, turning the waste in a protein source for fish feeding, three experiments were carried out as described below. **EXPERIMENT 1: Optimization of obtaining process of acid silage from poultry carcasses by response surface methodology (RSM).** The aim of this study was to optimize the best conditions for obtaining acid silage from poultry carcasses by SRM. Whole poultry carcasses, grounds into electric grinder, homogenized, were used for silage preparation, that were placed in 45 polyethylene containers containing 2 kg each. A Incomplete factorial design 3^3 of SRM with 15 treatments and three repetitions at the central point, was used. The optimized variables were acid concentration (X_1), storage time in days (X_2) and daily number of turnings (X_3). The levels of variables were $X_1 = 3, 5$ and 7% (phosphoric acid and acetic acid in the ratio 4:6), $X_2 = 10, 20$ and 30 storage days and $X_3 = 0, 1$ and 2 daily turnings. The evaluated variables were: pH, crude protein, lipid oxidation, oil extraction and counting of mesophiles. The pH of ensiled mass was mainly influenced by X_1 showing a negative linear effect and positive quadratic effect. The storage time had a positive effect on pH. For crude protein was observed a negative linear and quadratic effect of X_1 indicating a region of maximum protein values at the midpoint. In lipid oxidation, the prediction model indicated a region of minimum values near the midpoint. The generated model for oil extraction indicated maximum values when the silage is stored for long periods and when high acids concentrations were used. The generated model for mesophilic count showed several interactions among variables, and the response surface indicated a region with highest microorganisms number when using low acids concentrations and a few storage days of silage. The RSM allowed the optimization of independent variables. The acids concentration that best represents the optimal pH was 5% (2% phosphoric acid, 3% acetic acid), requiring storage for at least 20 days and with only one turning day. **EXPERIMENT 2: Experimental inoculation of *Salmonella sp* in acid silage from poultry carcasses.** This study was carried out to evaluate the efficiency of pathogenic microorganism elimination in poultry carcasses silage. For ensilage, poultry carcasses were ground, homogenized and added 2% phosphoric acid, 3% acetic acid, 0.1% BHT (Butylated hydroxytoluene) and 0.1% antifungal (sorbic acid). They were then placed in mini-silos with *Salmonella* inoculum: T0 - control (without inoculum) T1 - with 10^2 CFU/g, T2 - with 10^3 CFU/g T3 - with 10^4 CFU/g, turned once a day. The silage was monitored for 45 days with daily measurements of pH and temperature. Chemical and microbiological analyses were carried out (total coliforms at 30 and 45°C and salmonella). The average pH of the silage was 4.2 at the end of 45 storage days and average temperature of 26.6°C . The microbiological results showed that after 3 days of ensiling was not observed the presence of *Salmonella*. The coliforms number at 30°C and 45°C showed lower values than 0.3 MPN/g in all treatments at 20 storage days. The acid treatment was effective in silage microbial inhibition making a safe product for use in animal feeding. **EXPERIMENT 3: Acid-preserved poultry carcasses silage to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) feeding.** The objective of this study was to evaluate the use of acid silage of poultry

carcasses to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) feeding. The silage was prepared using whole poultry carcasses without evisceration, with feathers, by addition of phosphoric acid (2%), acetic acid (3%), antioxidant (Butylated hydroxytoluene) (0.1%) and sorbic acid (0.1%). The ensiled mass was turned once a day and remained stored for 30 days with daily monitoring of temperature and pH. 120 fish with initial average weight of 146.8 grams, divided into 12 boxes of 500L in a completely randomized design with four treatments and three replicates per treatment, were used. The experimental diets were calculated to be isonitrogenous (35% crude protein) and isocaloric (4600 kcal/kg⁻¹) with inclusion of 0, 10, 20 and 30% of poultry silage (dry basis). The survival rate, weight gain, feed conversion, specific growth rate, fillet yield and viscera percentages were evaluated. The quality of silage was evaluated by microbiological analysis. The results showed that after 30 storage days, the silage was free from pathogenic microorganisms, with coliforms count below 0.3 MPN/g at 30 e 45°C and free of Salmonella. The limnological analysis showed good water quality meeting the required values for Nile tilapia. There was no significant effect of different levels of poultry silage in feeding, indicating that silage can be included up to 30% in diets without prejudice to the productive performance of animals.

Keywords: Acetic acid. Phosphoric acid. Coliforms. Poultry acid silage. Response surface methodology. Salmonella. Tilapia.

LISTA DE FIGURAS

Otimização do processo de obtenção da silagem ácida de carcaças de frango por metodologia de superfície de resposta.

- Figura 1** – Superfície de resposta do pH da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários 43
- Figura 2** – Valores observados e preditos de pH da silagem ácida de carcaças de frango, fixando-se X3 (número de revolvimentos diários) em nível 0 e variando X1 (ácidos,%) e X2 (dias de armazenamento) 45
- Figura 3** – Superfície de resposta da proteína bruta da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários..... 46
- Figura 4** – Superfície de resposta da oxidação lipídica da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários..... 49
- Figura 5** – Superfície de resposta da extração de óleo da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários..... 51
- Figura 6** – Superfície de resposta da contagem de mesófilos (em log) da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários 54

Efeito da acidificação na eliminação de *Salmonella* em silagem ácida de carcaças de frango.

- Figura 1** – Valores de pH da silagem ácida de frango com diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*) 67

LISTA DE TABELAS

Otimização do processo de obtenção da silagem ácida de carcaças de frango por metodologia de superfície de resposta.

- Tabela 1** – Delineamento experimental utilizando três variáveis independentes: concentração da mistura de ácidos (X1); dias de armazenamento da silagem (X2) e número de revolvimentos da massa ensilada por dia (X3) 40
- Tabela 2** – Composição química da silagem ácida de carcaças de frango, obtida a partir da adição de diferentes concentrações de ácidos fosfórico e acético..... 41

Efeito da acidificação na eliminação de *Salmonella* em silagem ácida de carcaças de frango.

- Tabela 1** – Análises químicas da silagem de carcaças de frango com diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*)..... 67
- Tabela 2** – Perfil microbiano da silagem ácida de carcaças de frango com diferentes concentrações de inóculo de *Salmonella* em diferentes tempos de armazenamento 68

Silagem ácida de carcaças de frango na alimentação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

- Tabela 1** – Composição percentual e química das rações experimentais com inclusão de silagem ácida de frango utilizando ácidos fosfórico (2%) e acético (3%), na base da matéria seca..... 76
- Tabela 2** – Desempenho produtivo de tilápias alimentadas com diferentes níveis de inclusão de silagem ácida de carcaça de frango na ração..... 79

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
RESÍDUO	17
MANEJO DAS CARÇAÇAS DE FRANGO	18
Enterramento	18
Digestão	18
Incineração	18
Compostagem	19
Transformação ou Reciclagem, “Rendering”	19
SILAGEM DE RESÍDUOS DE FRANGO	21
SILAGEM NA ALIMENTAÇÃO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS	23
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SILAGEM DE FRANGO	24
PERFIL MICROBIOLÓGICO DA SILAGEM DE FRANGO	25
METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
3 OBJETIVOS	32
OBJETIVO GERAL	32
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4 ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO	33
Artigo 1: Otimização do Processo de Obtenção de Silagem Ácida de Carcaças de Frango por Metodologia de Superfície de Resposta	33
Resumo	33
Abstract	33
Introdução	34
Material e Métodos	36
Resultados e Discussão	40
Conclusão	55
Referências Bibliográficas	56

Artigo 2: Efeito da Acidificação na Eliminação de Salmonella em Silagem Ácida de Carcaças de Frango	59
Resumo	59
Abstract	59
Introdução	60
Material e Métodos	61
Resultados e Discussão	65
Conclusão	68
Referências Bibliográficas	68
Artigo 3: Silagem Ácida de Carcaças de Frango na Alimentação de Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	71
Resumo	71
Abstract	71
Introdução	72
Material e Métodos	73
Resultados e Discussão	77
Conclusão	80
Referências Bibliográficas	81
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
ANEXO	84
ANEXO A – Figura 1: Carcaças de frangos de corte mortos durante o processo de engorda e armazenados congelados para o preparo da silagem ácida	85
ANEXO B – Figura 2: Moagem das carcaças de frango para o preparo da silagem ácida	86
ANEXO C – Figura 3: Distribuição da carcaça moída em silos de polietileno, conforme os diferentes tratamentos experimentais	87
ANEXO D – Figura 4: Aferição do pH e da temperatura da silagem ácida de carcaças de frango	88
ANEXO E – Figura 5: Preparo das rações experimentais com inclusão de silagem ácida de carcaças de frango	89

ANEXO F – Figura 6: Secagem das rações experimentais em estufa de circulação forçada de ar	90
ANEXO G – Figura 7: Vista geral do experimento de engorda de tilápias-do-Nilo, alimentadas com rações experimentais contendo diferentes níveis de silagem ácida de carcaças de frango.....	91
ANEXO H – Figura 8: Analgesia das tilápias com solução alcoólica de cravo diluída em água.....	92
ANEXO I – Figura 9: Retirada do filé das tilápias ao final do experimento de desempenho produtivo.....	93
ANEXO J – Figura 10: Separação das vísceras das tilápias para pesagem.....	94
ANEXO K – Figura 11: Tilápias ao final do período de engorda.....	95

1 INTRODUÇÃO

A criação de peixes é a área da produção animal que mais tem se desenvolvido no Brasil. Para atender à expansão desta agroindústria, as técnicas de produção demandam maior nível de intensificação. As tilápias são os teleósteos mais bem sucedidos na piscicultura brasileira (FURUYA, 2010). Seu hábito alimentar é bastante diversificado, ingerindo principalmente fitoplâncton e zooplâncton, além de se alimentar de bentos, detritos, alimentos artificiais e resíduos orgânicos (LEONHARDT; FROSSARD; CAETANO, 2003). Essa diversidade alimentar aliada à rusticidade foram as principais características para o desenvolvimento da tilápia, nas mais variadas formas de criação, tornando-se um dos peixes mais cultivados no mundo (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986; FITZSIMMONS, 2000). A criação de tilápias e o número de pesquisas realizadas com a espécie vêm se expandindo a cada ano (FURUYA, 2010).

Estudos sobre nutrição de peixes demonstraram que a qualidade protéica das dietas apresenta importância predominante no seu desenvolvimento, sobretudo, para as espécies de clima tropical que têm menos problemas para regular a sua ingestão em atendimento às necessidades diárias. A farinha de peixe tem sido a principal fonte de proteína de origem animal utilizada pelos países em desenvolvimento, ainda que, invariavelmente apresente baixa qualidade nutricional, com produção sazonal e custo elevado, levando ao aumento do custo de produção, pois os gastos com alimentação podem chegar a 70% do custo total (VIDOTTI, 2001).

A utilização de subprodutos na aquicultura é uma prática antiga segundo Castagnolli e Cyrino (1986). A busca por formas alternativas de uso de subprodutos industriais na alimentação de peixes torna as dietas mais eficientes e reduz o custo, uma vez que, freqüentemente, surgem novos produtos, e com eles os resíduos, que devem ter o máximo de aproveitamento, diminuindo o impacto ambiental por eles provocado (TORELLI et al., 2010).

Segundo Kompang (1981), uma alternativa para o aproveitamento de resíduos da indústria pesqueira na elaboração de dietas para organismos aquáticos, é o ensilado de pescado, produto que possui alto valor biológico e, praticamente, a mesma composição da matéria-prima que o origina.

Duas metodologias básicas podem ser utilizadas na obtenção de ensilado de pescado: por meio da adição de ácidos minerais e ou orgânicos, tais como, fórmico, sulfúrico,

clorídrico, propiônico, cítrico, acético muriático (TATTERSON, 1982; SEIBEL; SOUZA-SOARES, 2003; ARRUDA, 2004; BEERLI et al., 2004; VIDOTTI, 2006; BOSCOLO, 2010) ou com emprego de microrganismos produtores de ácido lático e com uma fonte de carboidratos (SAMUELS et al., 1992; FAGBENRO; JAUNCEY, 1994; AHAMED; MAHENDRAKAR, 1996).

Outras fontes de proteínas podem ser utilizadas para ensilagem, como o resíduo de frango, utilizando metodologia semelhante à observada na ensilagem de peixe. Pode-se elaborar a silagem a partir da adição de ácidos no resíduo de frango (FAGBENRO; FASAKIN, 1996) ou adição de fontes distintas de carboidratos e inóculo microbiana produtor de ácido lático (MURPHY; SILBERT, 1992).

Por se tratar de resíduos e carcaças de animais mortos durante o manejo ou procedimento de transporte, o material apresenta grande contaminação bacteriana. Entretanto, as análises microbiológicas das silagens de resíduos de abatedouros de frango ou carcaças de frango demonstraram que o tratamento ácido ou a fermentação, além de promover a hidrólise do material, foi capaz de eliminar os possíveis patógenos presentes na matéria prima (CAI; PANCORBO; BARNHART, 1994; KHERRATI et al., 1998).

Este trabalho teve como objetivo otimizar o processo de preparo de silagens ácida de carcaças de frango utilizando combinações de diferentes variáveis, como: concentrações de ácidos (fosfórico e acético); tempo de armazenamento e número de revolvimento da massa ensilada. Para tal, foi proposto um modelo utilizando a metodologia de superfície de resposta com três repetições no ponto central. A escolha dos ácidos, bem como as concentrações iniciais, foi baseada na metodologia descrita por Vidotti e Gonçalves (2006).

2 REVISÃO DE LITERATURA

RESÍDUO

A produção de frangos de corte é a forma mais eficiente e barata de produzir proteína animal para alimentação humana no mundo. Os frangos são os animais mais eficientes para transformar grãos em proteína animal, em curto tempo, com utilização de pouco espaço, pouca água e energia e, adicionalmente, é possível utilizar o animal inteiro após o abate. No entanto, como em todas as atividades de produção, existem resíduos na avicultura. Estes resíduos quando aproveitados ou tratados de forma incorreta, representam alto risco de contaminação aos recursos hídricos, incluindo o solo e o ar (OVIÉDO-RONDÓN, 2008).

Alguns dos maiores problemas enfrentados pela indústria avícola são a gestão de resíduos e as questões ambientais. Hoje, a indústria avícola está maior, mais concentrada e tecnicamente mais avançada do que a uma ou duas décadas atrás. A concentração da indústria avícola resultou na produção de grandes volumes de resíduos (BLAKE, 2004). Práticas adequadas de manejo de resíduos são essenciais para que a indústria avícola cresça e se desenvolva sob as condições de restrições legais. As operações de produção de frangos e poedeiras, além de carne e ovos, geram anualmente um grande volume de resíduos na forma de esterco, efluentes, camas de aves e aves mortas (SEIFFERT, 2000).

A mortalidade das aves por causas naturais durante o processo de engorda requer cuidados diários. O descarte de carcaças foi identificado como um dos maiores problemas enfrentados pelo produtor (BLAKE, 2004). As perdas por mortalidade na granja podem chegar à taxa de 5% do plantel (ABREU; ABREU, 2000). O total de carcaças de aves mortas por causas naturais na granja pode ser estimado com base na produção dos galpões. Por exemplo: supondo-se uma mortalidade diária de 0,1% (4,5% no ciclo) em uma granja com 50.000 aves alojadas em ciclo de 45 dias, e com peso médio de 1kg de peso vivo, produz aproximadamente 2,2 toneladas de carcaças.

MANEJO DAS CARÇAÇAS DE FRANGO

Enterramento

O enterro tem sido a forma básica e conveniente para descarte das carcaças de frango. Um reservatório escavado, mantido ao nível do solo com paredes de concreto e piso aberto sobre a terra é utilizado para acomodar as carcaças descartadas. Sua dimensão pode variar de acordo com a demanda. A tampa é feita de concreto reforçada com cavidade de 25 cm de diâmetro, na qual é encaixado um tubo de policloreto de vinila (PVC) de 25 cm de diâmetro e 1,0 m de comprimento, o qual é mantido na posição vertical através da terra que envolve a tampa do depósito. O tubo é utilizado como porta de entrada, para introdução de aves mortas e deve ser coberto com um tampão removível. O ambiente dentro do reservatório permite a decomposição aeróbica e anaeróbica da matéria orgânica e não produz odores desagradáveis (SEIFFERT, 2000; BLAKE, 2004).

Devido ao risco de contaminação do solo, lençol freático e permanência do resíduo por vários anos, esta prática está em desuso sendo permitida sua utilização apenas quando houver perdas catastróficas (BLAKE, 2004).

Digestão

Uma alternativa ao enterro é a utilização de sistemas fechados em reservatórios de grande capacidade. O sistema é dimensionado para deposição de carcaças a fim de promover a degradação microbiana do material orgânico. Culturas de bactérias e enzimas são adicionadas para facilitar a decomposição. Entretanto, foi verificada a presença de enterobactérias e outras potenciais bactérias patogênicas do material processado. O seu uso é proibido em alguns países devido à ineficácia do tratamento (CAST, 2008).

Incineração

A incineração é um método biologicamente seguro de eliminação de resíduos. Os resíduos são eliminados rapidamente assim que gerados e não atraem animais e insetos. Elimina os riscos de doenças e não causa contaminação do lençol freático. Geralmente, utilizam óleo ou gás para a queima e a fumaça produzida pode ser reduzida

através de filtros que diminui os odores (BLAKE, 2004). Entretanto tem alto custo com combustível para queima (OVIEDO-RONDÓN, 2008).

Compostagem

A compostagem é um processo controlado onde bactérias e fungos atuam transformando o resíduo orgânico em um composto. O método é econômico e biologicamente seguro com duração aproximada de 60 dias. O produto final é um material sem odor, esponjoso, semelhante ao húmus, com apenas uma pequena proporção de material sólido (ossos e penas) remanescentes, que pode ser utilizado como fertilizante agrícola (SEIFFERT, 2000; BLAKE, 2004; OVIEDO-RONDÓN, 2008).

Esta prática envolve a mistura de aves mortas com cama de aviário ou outra fonte qualquer de carbono (serragem, palha) e água, de acordo com as proporções em base de peso: cama de frango (3/10), carcaça de aves (1/10), palha úmida ou serragem (1/10) e água através de aspersão (5/10). Há necessidade de se manter o material úmido. Normalmente, um litro de água é adicionado para cada 2 kg de carcaças. Conforme avança a mortalidade, sucessivas camadas de material são adicionadas ao depósito. A temperatura tende a aumentar rapidamente poucos dias após a deposição, devido a ação bacteriana, podendo atingir 60 a 75°C. Quando a temperatura diminui, o material pode ser removido para um depósito adjacente. O revolvimento produzido por esta ação introduz nova aeração no material, reiniciando a ação das bactérias e retomando a elevação da temperatura. Após o segundo aquecimento, repete-se a remoção para um terceiro reservatório para repousar (SEIFFERT, 2000).

Alguns testes indicaram que os patógenos bacterianos e virais não sobrevivem ao processo de compostagem desde que seja respeitado os dois estágios da compostagem. Se for omitido a segunda fase do processo ou descuido das proporções dos resíduos adicionados, ocorre a diminuição da eficácia e segurança do processo (DONALD et al., 1994).

Transformação ou Reciclagem, “Rendering”

É o processo de reciclagem do resíduo de forma a transformá-lo em subproduto protéico, geralmente em forma de farinha. A propagação de microrganismos

patogênicos durante a coleta e transporte do resíduo é um risco eminente. Vários métodos podem ser desenvolvidos para o tratamento de patógenos e transformação do material em produto seguro para formulação de rações para animais (BLAKE, 2004).

Refrigeração

Pode-se efetuar o congelamento das carcaças para posterior tratamento e reciclagem. Entretanto, o custo desse método de armazenamento é alto devido à estrutura elaborada para acomodação das carcaças até o processamento, além da energia consumida na armazenagem. Esse método se refere apenas à armazenagem, portanto, há necessidade de associação de outra metodologia para transformação do resíduo (CAST, 2008).

Preservação ácido/básico

O método envolve a preservação das carcaças em ácidos e conseqüente transformação (preparo de farinha). Soluções de ácido sulfúrico a 3% previnem o crescimento microbiano e o subproduto gerado a partir do resíduo apresenta características semelhantes às farinhas convencionais. Outros ácidos podem ser utilizados, tais como, ácido acético, propiônico e fórmico (BLAKE, 2004).

Os ácidos em geral têm sido utilizados para preservação de resíduo (carcaças de frango com adição de ácido fosfórico, inclusive) em forma de silagem por longos períodos, transformando o resíduo em produto protéico isento de contaminantes (MIDDLETON; FERKET, 2001).

O processo de hidrólise alcalina transforma as carcaças em produto estéril de aminoácidos, peptídeos, ácidos nucléicos e gorduras que podem ser utilizadas como fertilizantes. A tecnologia destrói os microrganismos sem exibir deterioração ou odores. Pode ser utilizado soluções a 2 molar de hidróxido de sódio na proporção 1:1 na carcaça (BLAKE, 2004).

Fermentação ácido lática

É um método utilizado com sucesso para a preservação de alimentos (BLAKE, 2004). As carcaças são estocadas por determinado tempo até o transporte e

processamento. Com a fermentação láctica ocorre a estabilização do resíduo eliminando os patógenos (MURPHY; SILBERT, 1992; CAI et al., 1994a). A fermentação é combinada com adição de uma fonte de carboidrato (melaço, sacarose, soro de leite) e inóculo bacteriano (CAI et al., 1994b; CAI; SANDER, 1995). As bactérias lácticas inseridas no processo consomem o carboidrato e produzem ácido láctico, que induz a redução do pH e preserva os nutrientes, com eliminação dos patógenos (MURPHY; SILBERT, 1992; BLAKE, 2004).

Fermentação por leveduras

Similar à fermentação láctica, inclui uma fonte de carboidrato e culturas de leveduras (*Hansenula montrevideo*). Reduz também os valores de pH e elimina os patógenos (CAST, 2008).

SILAGEM DE RESÍDUOS DE FRANGO

A silagem ou processo de ensilagem é uma alternativa de preservação e transformação do resíduo de frango de forma barata, obtendo um produto de qualidade, rico em proteínas e semelhante nutricionalmente às farinhas tradicionais (FAGBENRO; FASAKIN, 1996). Segundo Oetterer (1994), as vantagens da silagem de peixe sobre a farinha de peixe são: a produção é independente de escala, a tecnologia é simples e o capital investido é pequeno mesmo para produção em larga escala.

A silagem de vísceras e carcaças de frango apresenta coloração que varia de rosa a marrom e tem consistência semi-sólida, que diminui com o tempo de estocagem. Enzimas digestivas presente no material promovem a autólise e liquefazem a silagem, da mesma forma que ocorre na silagem de peixe (CAI et al., 1994a). Tatterson e Windsor (1974) descreveram a silagem de peixe como um produto líquido feito a partir de peixes ou partes de peixe, liquefeito pela ação de enzimas presente nos peixes e ativada pela presença do ácido. O ácido quebra a cadeia da proteína em porções solúveis e previne o crescimento bacteriano. O processo de liquefação ocorre rapidamente em temperaturas de 20 a 30°C mas diminui progressivamente com a decréscimo da temperatura (TATTERSON, 1982).

A silagem pode ser obtida pela ação de ácidos minerais e/ou orgânicos (silagem química), por fermentação microbiana induzida pelos carboidratos com subsequente produção de ácido láctico, e por introdução de inóculo microbiano (silagem microbiológica) ou

combinação dos dois métodos. A liquefação é realizada pela atividade de enzimas proteolíticas, naturalmente presente no material, ou adicionadas (silagem enzimática) com o objetivo de acelerar o processo (TATTERSON; WINDSOR, 1974; KOMPIANG, 1981).

A silagem ácida foi descrita por alguns pesquisadores (FAGBENRO; FASKIN, 1996) que elaboraram silagem de vísceras de frango desengorduradas com adição de 4,5% de ácido cítrico e 0,5% de ácido propiônico. O material foi incubado a temperatura de 30-32°C por 30 dias e posteriormente foi utilizado na alimentação de peixes. Middleton e Ferket (2001) testaram diferentes concentrações de ácido fosfórico e compararam com a silagem de fermentação láctica. Verificaram que na silagem preparada com ácido fosfórico houve menor degradação da proteína em relação à silagem de fermentação láctica.

Vários ácidos e combinações podem ser utilizados no preparo da silagem ácida, como ácido fórmico (CAI et al., 1995), ácido fórmico e ácido cítrico (GAO et al., 1992); ácido fórmico e ácido sulfúrico (VIDOTTI et al., 2003); ácido acético (SEIBEL; SOUZA-SOARES, 2003); ácido muriático (BEERLI et al., 2004); ácido fórmico e propiônico (FERRAZ DE ARRUDA et al., 2004); ácido fosfórico e ácido acético (VIDOTTI et al., 2006).

A silagem biológica é relatada com mais frequência nos trabalhos de resíduos de frango, seja com silagem das vísceras (SHAW; NARASIMHA RAO; MAHENDRAKAR, 1998), silagem de vísceras, miúdos, penas, pés e cabeças (KERRATI et al., 1998) ou até mesmo com a utilização da carcaça inteira (MURPHY; SILBERT, 1992; CAI et al., 1994b; CAI; SANDER, 1995). Varias fontes de carboidratos são utilizadas no preparo das silagens, como o melaço líquido, melaço desidratado, farinha de milho, soro de leite desidratado, levedura de cerveja e cana de açúcar. A farinha de milho como única fonte de carboidrato não produz uma boa silagem (CAI et al., 1994b). Batatas também podem ser utilizadas como fonte de carboidratos para silagem biológica (MIDDLETON et al., 2001b). Para inóculo microbiano são utilizados culturas de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bacillus subtilis* e *Aspergillus oryzae* (CAI; PANCORBO, 1994).

A função dos ácidos, seja adicionados ou produzidos no processo de fermentação, é diminuir o pH para promover a hidrólise, prevenindo assim o desenvolvimento microbiano e promovendo a eliminação de organismos patogênicos. Para que isto ocorra, o pH deve estar próximo de 4, e sempre menor que 4,5 (TATTERSON, 1982; MURPHY;

SILBERT, 1992; MIDDLETON; FERKET, 2001). pH acima de 4,5 não inibe o crescimento de microrganismos patogênicos nas silagens (CAI; PANCORBO; BARNHART, 1994).

Segundo Oetterer (1999), a silagem de peixe pode ser utilizada de 7 a 30 dias após o preparo, apresentando composição semelhante à da matéria-prima, alta digestibilidade com presença integral dos aminoácidos constituintes do pescado e, portanto, pode ser utilizada em ração animal. Por outro lado, se a estocagem for mais longa, constitui-se em um ponto crítico nutricional, pois os aminoácidos e os lipídios passam a sofrer alterações devido a hidrólise excessiva.

O armazenamento prolongado aumenta a proporção de aminoácidos livres na silagem devido à atividade das enzimas endógenas presente nos tecidos dos peixes. Essas enzimas são na maioria proteases, tais como pepsina do estômago, enzimas lisossomais e catepsina D. (VIANA et al., 1996).

SILAGEM NA ALIMENTAÇÃO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS

A silagem de pescado vem sendo produzida na Polônia e na Dinamarca em escala comercial desde os anos 60, para produção de alimentos para aves e suínos, ou incorporada às rações como complemento protéico, compondo rações para animais domésticos e peixes. Na Indonésia, a silagem é produzida em escala experimental e incorporada às rações em substituição à farinha de peixe e farelo de soja na alimentação de suínos, aves e peixes (OETTERER, 1994).

O aproveitamento dos resíduos da indústria ou comercialização de pescado para preparo de silagem e aproveitamento como ingrediente na ração de peixes tem sido amplamente discutida. A silagem de peixe tem demonstrado potencial para utilização na aquicultura, pois apresenta características semelhantes às farinhas de peixes com a vantagem de ser mais barata (FAGBENRO; JAUNCEY, 1993; 1994; ESPÍCOLA FILHO, 1998; CARVALHO et al., 2006; SOLTAN; HANAFY; WAJA, 2008).

Abimorad et al. (2009) desenvolveram uma ração artesanal a base de silagem de resíduo de filetagem de pescado e alimentaram tilápia-do-Nilo. Verificaram que o desempenho dos animais foi igual ao do tratamento com ração comercial, com a vantagem de economizar 42% do custo da ração.

Fernandes et al. (2007) testaram a inclusão de silagem ácida de resíduos de filetagem de tilápias em rações para juvenis de piauçu. Foram formuladas rações isoprotéicas

(32% PB) e isoenergéticas (4150 kcal kg⁻¹ EB) com níveis de inclusão de 0, 2, 4, 6 e 8% com base seca de silagem. O desempenho dos animais demonstrou que a inclusão de até 8% de silagem não causou prejuízo ao crescimento e qualidade da carcaça.

Carvalho et al. (2006) elaboraram silagem biológica a partir de resíduos de filetagem de tilápia com adição de 30% de farelo de soja. A silagem após armazenamento de 30 dias foi acrescida na ração para alevinos de tilápia. Os autores concluíram que a inclusão de até 30% da silagem na ração não causou alteração no desempenho dos animais.

Existem poucos trabalhos utilizando silagem de frango na alimentação de peixes. Fagbenro e Fasakin (1994) utilizando resíduo de abatedouro comercial na Nigéria elaboraram uma silagem ácida com as vísceras desengorduradas e adição de 4,5% de ácido cítrico e 0,5% de ácido propiônico. A silagem foi incubada à temperatura de 30-32°C por 30 dias. Após esse período foi adicionado farelo de soja (85:15) à silagem para reduzir o teor de umidade. Foi preparada então a ração para catfish (*Clarias gariepinus*), que foi comparada com farinha de vísceras de frango. Não foi observada diferença significativa no desempenho dos peixes com a inclusão de 15 e 30% (85:15 silagem e farelo de soja), podendo-se concluir que a silagem pode ser um substituto à farinha de vísceras convencional.

Middleton et al. (2001) utilizaram carcaças de patos para elaborar silagem biológica com adição de sacarose. Após 60 dias de fermentação, a silagem foi misturada com batata doce picada na proporção de 40:60 e em seguida o material foi extrusado. O produto resultante (ESPFP) foi incluído na formulação de ração para tilápia nas proporções de 0, 11, 22 e 33%. Não foi verificado prejuízo sobre o desempenho produtivo dos animais na utilização de até 33% do ESPFP.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SILAGEM DE FRANGO

A composição da silagem de frango pode variar de acordo com a metodologia empregada na fermentação, a origem e o tipo de resíduo. Fagbenro e Fasakin (1996) verificaram valores de 23,9% de matéria seca (MS), 54,1% de proteína bruta (PB), 38,5% de extrato etéreo (EE) e 4,3% de matéria mineral (MM) em silagem de vísceras desengorduradas de frango, preparadas com adição de 4,5% de ácido cítrico e 0,5% de ácido propiônico.

Middleton et al. (2001a) comparando diferentes concentrações de ácido fosfórico e a fermentação láctica na conservação e transformação da silagem de carcaças de

frango, encontraram valores de 37 a 41% de MS; 41,06 a 47,48% de PB; 29,29 a 35,27% de EE; 5,8 a 25% de MM; 0,1 a 1,7% de Cálcio (Ca) e 0,9 a 7,1% de fósforo (P). Silagens preparadas por fermentação láctica demonstraram menores valores de MM, Ca e P. Valores próximos foram observados por Cai e Sander (1995) em silagem de carcaças de frango com adição de soro de leite e farinha de milho, nas proporções de 5 a 8%. Os valores encontrados foram de 41 a 48% de PB; 22,8 a 24,1% de EE; 10,4 a 11,4% de MM e 40 a 41% de MS.

Cai et al. (1994b) encontraram valores de 63 a 67% de umidade; 11 a 14% de PB e 2 a 3% de MM, com base na matéria natural, em silagem de carcaças de frango com adição de 15% de levedura de cerveja.

Kherrati et al. (1998) utilizaram resíduos de abatedouro de frango, como miúdos, vísceras, penas, cabeça e pés moídos, homogeneizados e com adição de 15% de melação e ácido sulfúrico até a massa atingir pH inicial de 5,5, no processo de ensilagem, e encontraram valores de 35 a 37,29% de MS; 12,01 a 18,24% de EE e 10,75 a 15,62% de PB, com base na matéria natural.

Podem ocorrer variações na composição quando a silagem é misturada a outros alimentos como forma de reduzir a umidade e facilitar sua utilização, como observado por Murphy e Silbert (1992) que extrusaram a silagem de carcaças de frango com farelo de soja (75% soja e 25% carcaças) e milho (75% milho e 25% de carcaças).

Os dados obtidos na literatura mostram que a silagem de frango tem relativamente grandes quantidades de proteínas, gorduras e minerais, tornando o produto atrativo e com potencial para utilização como ingrediente na formulação de rações animais.

PERFIL MICROBIOLÓGICO DA SILAGEM DE FRANGO

Por se tratar de resíduos, a matéria prima pode conter alta contaminação bacteriana, o que a caracteriza como produto impróprio ao consumo humano. A pesquisa de microrganismos mesófilos, *Salmonella*, coliformes a 30 e 45°C indicam o grau de contaminação do material. O resultado geralmente é expresso em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g), exceto para a *Salmonella* que se expressa como presente ou ausente.

A pesquisa de *Salmonella* é importante devido a possibilidade de infectar o homem e os animais. O microrganismo está amplamente difundido na natureza. As aves

podem desenvolver a doença clinicamente ou de forma assintomática albergando esses agentes e tornando-se fonte em potencial da bactéria para seres humanos (BARROW, 1993).

A contaminação inicial verificada em resíduos de abatedouro de aves para microrganismos mesófilos foi de 10^6 UFC/g, coliformes a 30 e 45°C de 10^6 UFC/g e presença de *Salmonella* (Kerratti et al., 1998). Cai et al. (1994) encontraram contaminação inicial semelhante em carcaças de frangos recém mortas. Middleton e Ferket (2001) encontraram contaminação inicial de coliformes a 30 e 45°C de 10^5 UFC/g em carcaças de frango.

A Agencia Nacional de Vigilância Sanitária por meio da resolução RDC nº 12 preconiza que em alimentos cárneos crus ou cozidos, o aceitável é de até 10^3 número mais provável por grama (NMP/g) para coliformes a 30 e 45°C e ausência de *Salmonella*, ficando o resíduo de frango qualificado como impróprio (BRASIL, 2001).

Cai et al. (1994a) verificaram que após a transformação do resíduo em silagem, ocorreu a eliminação dos patógenos na silagem biológica de carcaças de frango, com $\text{pH} \leq 4,1$. Os resultados foram encontrados após 7 dias de fermentação e indicaram que a silagem estava livre de *Salmonella* e os coliformes a 30 e 45°C, foram reduzidos a níveis insignificantes. Da mesma forma, Kerratti et al. (1998) observaram que em 10 dias de fermentação, a silagem estava isenta de *Salmonella* e com contagem de coliformes próximo de 1 UFC/g. Shaw, Narasimha Rao e Mahendrakar (1998), também verificaram que a silagem elaborada a partir de intestinos de frango com adição de 10% de melaço e 0,5% de ácido propiônico estava livre de patógenos em 48 horas.

Middleton e Ferket (2001) avaliando silagem biológica de carcaças de frango com adição de 7,5% de sacarose e inóculo bacteriano, obtiveram resultados diferentes pois a fermentação da silagem biológica não foi capaz de eliminar a *Salmonella*, sendo este resultado atribuído ao valor de pH da silagem, próximo de 5.

METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é o mais popular conjunto de técnicas para a otimização de processos, devido a sua completa teoria, eficiência e simplicidade (CAMILIOS NETO et al., 2005). A MSR consiste em um grupo de procedimentos estatísticos e matemáticos que podem ser usados no estudo das inter-relações entre uma ou mais respostas (variáveis dependentes) com inúmeros fatores (variáveis

independentes), definindo os efeitos das variáveis independentes de forma isolada ou combinadas, gerando um modelo que descreve o processo (DINIZ; MARTIN, 1996).

O delineamento fatorial de Box-Behnken é um planejamento experimental utilizado para procedimentos de otimização e o modelo consiste na repetição do ponto central, para se medir a variabilidade experimental, mais um conjunto de pontos fatoriais ancorados no ponto central definindo a região de interesse (BOX; BEHNKEN, 1960).

A metodologia de Box-Behnken tem sido utilizada em vários experimentos visando a otimização de processos de produção ou obtenção de produtos. Santos et al. (2009) utilizaram a MSR para determinar a faixa de blends entre os óleos de mamona e babaçu para produção de Biodiesel, encontrando valores de 56% de mamona e 44% de babaçu.

Camílios-Neto et al. (2005) utilizaram a MSR para otimizar o processo de produção de etanol a partir da fermentação do melão por *Zymomonas mobilis*. A superfície de resposta mostrou-se como ferramenta eficiente para otimização convertendo o bioprocessamento a um modelo matemático que prediz onde o provável ponto ótimo está localizado.

Haully et al. (2003) através da MSR determinaram a melhor composição do meio de cultivo para a produção de ácido láctico pelo *Lactobacillus curvatus* por fermentação descontínua, utilizando como meio de cultivo melão de cana-de-açúcar enriquecido com extrato de levedura e peptona. A melhor composição de meio de cultivo, indicada por meio da MSR, foi 10% (m/v) melão de cana-de-açúcar; 2% (m/v) extrato de levedura e 4% (m/v) peptona.

Fogaça e Legat (2009) com o objetivo de aproveitar os resíduos do processamento do camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*), utilizaram a MSR para otimizar o processo de silagem ácida. Foram adicionados ao resíduo ácido acético (0,5 %, 1,0 % e 1,5 %) e de ácido fosfórico (0,5 %, 1,0 % e 1,5 %). A análise dos resultados preliminares mostrou que as quantidades de ácidos utilizados não foram suficientes para manter o pH das silagens abaixo de 5,0, sendo necessário calcular novas proporções para garantir a qualidade e estabilidade da silagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMORAD, E. G.; STRADA, W. L.; SCHALCH, H. C.; GARCIA, F.; CASTELLANI, D.; MANZATTO, M. R. Silagem de peixe em ração artesanal para tilapia-do-Nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 519-525, 2009.
- ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. Planejamento de aviários para criação de frangos de corte. **Embrapa Suínos e Aves**, CT 262, p. 1-4, Nov./2000. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cot262.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2011.
- AHAMED, J.; MAHENDRAKAR, N. S. Chemical and microbial changes in fish viscera during fermentation ensiling at different temperatures. **Bioresource Technology**, v. 59, n. 1, p. 45-46, 1996.
- BARROW, P. A. *Salmonella* - present, past and future. **Avian Pathology**, v. 22, n. 4, p. 651-669, 1993.
- BEERLI, E. L.; BEERLI, K. M. C.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 195-198, 2004.
- BLAKE, J. P. Methods and technologies for handling mortality losses. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 4, p. 489-499, 2004.
- BOSCOLO, W. R.; SANTOS, A. M.; MARTINS, C. V. B.; FEIDEN, A.; BITTENCOURT, F.; SIGNOR, A. A. Avaliação microbiológica e bromatológica da silagem ácida obtida de resíduos da indústria de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 515-522, 2010.
- BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometrics**, Washington, v. 2, n. 4, p. 455-475, 1960.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Brasília, 10 jan. 2001.
- CAI, T.; PANCORB, O. C.; MERKA, W. C.; SANDER, J. E.; BARNHART, H. M. Stabilization of poultry processing by-products and waste and poultry carcasses through lactic acid fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 17-25, 1994a.
- _____. Stabilization of poultry processing by-products and poultry carcasses through direct chemical acidification. **Bioresource Technology**, v. 52, n. 1, p. 69-77, 1995.
- CAI, T.; PANCORBO, O. C.; BARNHART, H. M.; SANDER, J. E.; MERKA, W. C. Chemical and microbiological characteristics of poultry processing by-products, waste, and poultry carcasses during lactic acid fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 49-60, 1994b.
- CAI, T.; SANDER, J. E. Fermentation mixture formulation and preservation of poultry carcasses. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 4, n. 1, p. 88-93, 1995.

- CAMILIOS NETO, D.; BUZATO, J.B.; CELLIGOI, M.A.P.C.; OLIVEIRA, M.R. Otimização da produção de etanol por *Zymomonas mobilis* na fermentação do melaço de cana-de-Açúcar. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v.26, n.1, p. 17-22, 2005.
- CARVALHO, G. P.; PIRES, A. J. V.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F.; CARVALHO, B. M. A. Silagem de resíduo de peixes em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 126-130, 2006.
- CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J. E. P. **Piscicultura nos trópicos**. São Paulo: Manole, 1986, 152p.
- COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (CAST). **Poultry Carcass Disposal Options for Routine and Catastrophic Mortality**. Issue Paper 40. CAST, Ames, Iowa. 2008, Disponível em: <<http://www.cast-science.org>>. Acesso em: 15 maio 2009.
- DINIZ, F.; MARTIN, A. M. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. **International Journal of Food Science and technology**, v. 31, n. 5, p. 419-426, 1996.
- DONALD, J. O.; BLAKE, J. P.; TUCKER, K.; HARKINS, D. Mini-composters in poultry production. **Alabama Cooperative Extension Service**. Circular ANR-804, Auburn University, AL. 1994.
- ESPÍNDOLA FILHO, A. **Aproveitamento de resíduos sólidos de pescado como fertilizante marinho**. 1998. 98p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo. 1998.
- FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K. Chemical and nutritional quality of stored fermented fish (tilapia) silage. **Bioresource Technology**, v. 46, n. 3, p. 207-211, 1993.
- _____. Growth and protein utilization by juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) fed moist diets containing autolysed protein from stored lactic-acid-fermented fish-silage. **Bioresource Technology**, v. 48, n. 1, p. 43-48, 1994.
- FAGBENRO, O. A.; FASAKIN, E. A. Citric-acid-ensiled poultry viscera as protein supplement for catfish (*Clarias gariepinus*) **Bioresource Technology**, n. 58, n. 1, p. 13-16, 1996.
- FERNANDES, J. B. K.; BUENO, R. J.; RODRIGUES, L. A.; FABREGAT, T. E. H. P.; SAKOMURA, N. K. Silagem ácida de resíduos de filetagem de tilápias em rações de juvenis de piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 339-344, 2007.
- FITZSIMMONS, K. Tilápia: The most important aquaculture species of the 21st century. In: Internacional symposium on Tilapia Aquaculture, 5, 2000, Rio de Janeiro-Brasil: **Anais...** Botafogo – Rio de Janeiro: Panorama de aquicultura, 2000, v.2, p.545-551.

FOGAÇA, F. H. S.; LEGAT, J. F. A. Ensilagem de resíduos do beneficiamento do camarão marinho. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE ANIMAIS ORDENAMENTO TERRITORIAL DAS PRODUÇÕES ANIMAIS E POLÍTICAS PÚBLICAS RELACIONADAS AO GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS DE ANIMAIS, 1., 2009. Florianópolis. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2009. p. 607-611.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; BOSCOLO, W. R.; CYRINO, J. E. P.; FURUYA, V. R. B.; FEIDEN, A. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. 1. ed. São Paulo: Ajinomoto Animal Nutrition, v. 1. 2010. 98p.

GAO, Y.; LO, K. V.; LIAO, P. H. Utilization of Salmon Farm Mortalities: Fish Silage. **Bioresource Technology**, v. 41, n. 2, p. 123-127, 1992.

HAULY, M. C. O.; OLIVEIRA, A. R.; OLIVEIRA, A. S. Produção de ácido láctico por *Lactobacillus curvatus* em melão de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 133-142, 2003.

KHERRATI, B.; FAID, M.; ELYACHIOUI, M.; WAHMANE, A. Process for recycling slaughterhouses waste and by-products by fermentation. **Bioresource Technology**, v. 63, n. 1, p. 75-79, 1998.

KOMPIANG, I. P. Fish silage: its prospect and future in Indonesia. **Indonesian Agriculture Resource & Development Journal**, v. 3, n. 1, p. 9-12, 1981.

LEONHARDT, J. H.; FROSSARD, H.; CAETANO-FILHO, M. Piscicultura. In MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; SHIBATA, O. A.; PIMENTA, J. A. **A bacia do rio Tibagi**. 505p.

MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R. Effect of level of acidification by phosphoric acid, storage temperature, and length of storage on the chemical and biological stability of ground poultry mortality carcasses. **Poultry Science**, v. 80, n. 8, p. 1144-1153, 2001.

MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R.; BOYD, L. C. The Effect of Ethoxyquin on the Quality of Ground Poultry Mortality Carcasses Preserved by Lactic Acid Fermentation and Phosphoric Acid Stabilization. **Poultry Science**, v. 80, n. 8, p. 1154-1163, 2001a.

MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R.; BOYD, L. C.; DANIELS, H. V.; GALLAGHER, M. L. An evaluation of co-extruded poultry silage and culled jewel sweet potatoes as a feed ingredient for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). **Aquaculture**, v. 198, n. 3-4, p. 269-280, 2001b.

MURPHY, D. W.; SILBERT, S. A. Preservation of and nutrient recovery from poultry carcasses subjected to lactic acid bacteria fermentation. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 1, n. 1, p. 66-74, 1992.

OETTERER, M. **Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado**: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais. 1999. 196p. Tese (Livre-Docência) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1999.

_____. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. **Alimentos e nutrição**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 119-134, 1994.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Technologies to mitigate the environmental impact of broiler production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. spe, p. 239-252, 2008

SAMUEL, W. A.; FONTENOTS, J. P.; ALLENB, V. G.; FLICK, G. J. Fermentation characteristics of ensiled seafood wastes and low-quality roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 305-317, 1992.

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

SEIFFERT, N. F. Planejamento da atividade avícola visando qualidade ambiental. **Simpósio sobre Resíduos da Produção Avícola** – Concórdia, SC, 12 de abril de 2000.

SHAW, D. M.; NARASIMHA RAO, D. N.; MAHENDRAKAR, N. S. Effect of different levels of molasses, salt and antimycotic agents on microbial profiles during fermentation of poultry intestine. **Bioresource Technology**, v. 63, n. 3, p. 237-241, 1998.

SOLTAN, M. S.; HANAFY, M. A.; WAFI, M. I. A. An evaluation of fermented silage made from fish by-products as a feed ingredient for African catfish (*Clarias gariepinus*). **Global Veterinária**, v. 2, n. 2, p. 80-86, 2008.

TATTERSON, I. N.; WINDSOR, M. L. Fish silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 25, n. 1, p. 369-379, 1974.

TATTERSON, I. N. Fish silage preparation, properties and uses. **Animal Feed Science and Technology**, v. 7, n. 4, p. 153-159, 1982.

TORELLI, J. E. R.; OLIVEIRA, E. G.; HIPÓLITO, M. L.; RIBEIRO, L. L. Uso de resíduos agro-industriais na alimentação de peixes em sistema de policultivo. **Revista Brasileira Engenharia de Pesca**, v. 3, n. 5, p. 1-15, 2010.

VIANA, M. T.; LOPEZ, L. M.; ESQUIVEL, Z. G. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. **Aquaculture**, v. 140, n. 1-2, p. 87-98, 1996.

VIDOTTI, R. M. **Produção e utilização de silagens de peixe na nutrição do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2001. 64f. Tese (Doutor) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, Jaboticabal, 2001.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilapia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de pesca – APTA-SAA**, out, 2006. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

VIDOTTI, R.M.; VIEGAS, E.M.M; CARNEIRO, D.J. Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. **Animal Feed Science and Technology**. v.105, n.1-4, p.199-204, 2003.

3 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Aproveitar as carcaças de frangos de corte, com vísceras e penas, mortos durante o processo de engorda, transformando-as em silagem ácida, mediante adição de ácidos fosfórico e acético e sua utilização na alimentação de peixes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Otimizar o processo de obtenção de silagem ácida de carcaças de frango utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta;

Avaliar as características químicas, biológicas e nutricionais da silagem ácida de carcaça de frango;

Avaliar as condições microbiológicas das silagens ácidas de frango;

Avaliar a utilização da silagem ácida de carcaça de frango na alimentação de peixes.

4 ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO

Artigo 1

Otimização do Processo de Obtenção de Silagem Ácida de Carcaças de Frango por Metodologia de Superfície de Resposta.

Resumo: O objetivo desse trabalho foi a otimização do processo de obtenção de silagem ácida de carcaças de frango por metodologia de superfície de resposta. Para o preparo da silagem de frango, foram utilizados animais mortos durante o processo de criação em granja comercial. As carcaças foram moídas em moedor elétrico, homogeneizadas e colocadas em 45 recipientes de polietileno com capacidade de 2kg cada, distribuídas em delineamento fatorial incompleto 3^3 da metodologia de superfície de resposta, com 15 tratamentos e 3 repetições no ponto central. As variáveis avaliadas foram concentração de ácidos (x_1), tempo de armazenamento em dias (x_2) e número de revolvimentos diários da massa ensilada (x_3). Os níveis das variáveis foram: $x_1= 3, 5$ e 7% (ácido fosfórico e ácido acético na proporção 4:6); $x_2= 10, 20$ e 30 dias de armazenamento e $x_3= 0, 1$ e 2 revolvimentos diários. As variáveis dependentes avaliadas foram o ph; proteína bruta; oxidação lipídica; extração de óleo e contagem de mesófilos. O ph da massa ensilada foi influenciado principalmente por x_1 apresentando efeito linear negativo e quadrático positivo. O tempo de armazenamento apresentou efeito positivo sobre o ph. Para proteína bruta foram observados efeitos lineares e, também, quadrático negativos de x_1 , indicando uma região de máximos valores de proteína no ponto central. Na oxidação lipídica, o modelo indicou uma região de mínimos valores, próximo ao ponto central. O modelo gerado para extração de óleo indica máximos valores quando a silagem é armazenada por longos períodos e com altas concentrações de ácidos. Observou-se pelo modelo gerado para contagem de mesófilos, varias interações entre as variáveis, sendo que a superfície de resposta indicou uma região com maior número de microrganismos em concentrações baixas de ácidos e poucos dias de armazenamento. A metodologia de superfície de resposta permitiu a otimização das variáveis: concentração de ácidos, tempo de armazenamento e número de revolvimentos diários, no preparo de silagem de carcaças de frangos. A concentração de ácidos que melhor representa os valores ideais de ph foi de 5% (2% ácido fosfórico, 3% ácido acético), sendo necessário o armazenamento por pelo menos 20 dias e com apenas um revolvimento diário.

Palavras chaves: Ácido acético. Ácido fosfórico. Metodologia de superfície de resposta. Silagem ácida de frango.

Optimization Of Obtaining Process Of Acid Silage From Poultry Carcasses By Response Surface Methodology

Abstract: This study aims to optimize the process of obtaining acid silage from poultry carcasses by response surface methodology. For poultry silage preparation, dead animals during the production process in broiler commercial farm, were used. The carcasses were ground in an electric grinder, homogenized and placed in 45 polyethylene containers with a capacity of 2 kg each, distributed in 3^3 incomplete factorial design of response surface

methodology, with 15 treatments and three repetitions at the central point. The independent variables were acid concentration (x_1), days of storage (x_2) and daily number of turnings (x_3). The levels of the independent variables were, $x_1= 3, 5$ and 7 (phosphoric and acetic acids in the ratio 4:6); $x_2= 10, 20$ and 30 days of storage and $x_3= 0, 1$ and 2 daily turnings. The dependent variables evaluated were pH, crude protein, lipid oxidation, oil extraction and mesophiles counting. The pH of the ensiled mass was influenced mainly by x_1 presenting negative linear effect and positive quadratic effect. The storage time had a positive effect on pH. For crude protein, a negative linear and quadratic effect of x_1 , were observed, indicating a region of maximum protein values at the midpoint. In lipid oxidation, the model indicated a region of minimum values near the midpoint. The generated model for oil extraction indicates maximum values when the silage is stored for long periods and with high acids concentrations. Various interactions among variables, was observed by generated model for mesophilic count and the response surface indicated a region with highest microorganisms number in low acids concentrations and a few storage days. The response surface methodology allowed the optimization of the variables: acid concentration, storage time and daily turnings number, in the preparation of poultry carcasses silage. The best acids concentration that represents the optimal pH was 5% (2% phosphoric acid, 3% acetic acid), requiring storage for at least 20 days with only one daily turning.

Keywords: Acetic acid. Phosphoric acid. Response surface methodology. Acid poultry silage.

Introdução

A crescente preocupação com resíduos contendo alto teor de proteína animal que não é aproveitada pelas indústrias tem chamado a atenção. Uma das alternativas de se minimizar os problemas ambientais gerados pelos resíduos é transformá-los em produto que possa ser incorporado como ingrediente em ração animal, tais como os resíduos de pescado (RISTIC et al., 2002).

A ensilagem de resíduos de pescado é uma técnica antiga de preservação da matéria orgânica (HAMMOUMI et al., 1998) e representa uma alternativa de fácil elaboração e que não exige alto investimento. A silagem apresenta boa qualidade nutritiva e características antimicrobianas, podendo, portanto, ser de grande utilidade para a alimentação animal (BERENZ, 1994).

A silagem pode ser utilizada de 7 a 30 dias após o preparo, apresentando composição semelhante à da matéria-prima, alta digestibilidade com presença integral dos aminoácidos constituintes do pescado e, portanto, ser destinada ao uso como ração. A estocagem, se mais longa, constitui-se em ponto crítico nutricional, pois os aminoácidos e os lipídios passam a sofrer alterações (OETTERER, 1999).

A transformação do resíduo em silagem ocorre pela redução de pH provocada pela adição de ácidos orgânicos e/ou minerais (silagem ácida), pela adição de

inoculo microbiano produtor de ácido lático (silagem biológica) ou a combinação de ambos. Com a redução do pH, as enzimas naturalmente presentes no pescado ou intencionalmente adicionadas (silagem enzimática) promovem a hidrólise de proteínas. Este processo mantém o pH abaixo de 4 prevenindo a ação microbiana (TATTERSON; WINDSOR; 1974; KOMPIANG, 1981; BORGHESI et al., 2007).

Vários ácidos, em associação ou não, podem ser utilizados na confecção de silagem ácida, tais como: ácido fórmico e ácido cítrico (GAO et al., 1992); ácido fórmico e ácido sulfúrico (VIDOTTI et al., 2003); ácido acético (SEIBEL; SOUZA-SOARES, 2003); ácido muriático (BEERLI et al., 2004); ácido fórmico e propiônico (FERRAZ DE ARRUDA et al., 2004); ácido fosfórico e ácido acético (VIDOTTI et al., 2006).

Outras fontes de proteínas podem compor a silagem ácida como o resíduo de frango, que pode ser utilizado na formulação de ração para peixes (FAGBENRO; FASAKIN, 1996). Alguns ingredientes podem ser adicionados para facilitar a fermentação, como melão, amido, cevada e sacarose (MURPHY; SILBERT, 1992).

A produção de silagem utilizando carcaças de frango por meio de fermentação láctica suplementada com 15% de levedura desidratada de cerveja é uma alternativa economicamente viável, de baixo custo e alta qualidade, além de reduzir o impacto ambiental provocado pelo descarte inadequado (CAI et al., 1994). A biotransformação de resíduos e subprodutos de abatedouros de frangos por meio da fermentação láctica gera um produto isento de contaminação microbiana (KHERRATI et al., 1998).

Fagbenro e Fasakin (1996) utilizaram vísceras de aves frescas para o preparo de silagem ácida de frango, adicionados de ácido cítrico e ácido propiônico, mais um antioxidante comercial (enthoyquin 25mg/kg), para a fermentação. A silagem foi misturada posteriormente, ao farelo de soja para ser incorporada à ração de catfish. Os autores relataram que obtiveram bons desempenhos no crescimento dos peixes.

Middleton et al. (2001) ensilaram carcaças de pato com adição de sacarose e resíduo de batata doce, e a silagem foi utilizada na formulação de ração para tilápia em crescimento. A porcentagem de silagem utilizada atingiu 33% da ração. Foram estudadas a taxa de crescimento e palatabilidade da ração comparando a ração comercial pura com ração contendo silagem. Os resultados mostraram que não houve diferença na palatabilidade e nem no crescimento dos peixes.

Tendo em vista que a taxa de mortalidade dos frangos de corte pode atingir até 5% do plantel (ABREU; ABREU, 2000), isto representa uma quantidade significativa de resíduo biológico que poderia ser aproveitado como fonte de proteína.

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é o mais popular conjunto de técnicas para otimização de processos, devido a sua completa teoria, eficiência e simplicidade (CAMILIOS NETO et al., 2005). A MSR consiste em um grupo de procedimentos estatísticos e matemáticos que podem ser usados no estudo das inter-relações entre uma ou mais respostas (variáveis dependentes) com inúmeros fatores (variáveis independentes), definindo os efeitos das variáveis independentes de forma isolada ou combinadas, gerando um modelo que descreve o processo (DINIZ; MARTIN, 1996).

Este trabalho teve como objetivo otimizar o processo de obtenção de silagem de carcaças de frango utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta possibilitando o aproveitamento das carcaças de frango que vem a óbito nas granjas comerciais.

Material e Métodos

Matéria prima

Para o preparo da silagem foram utilizadas carcaças de frangos de corte que vieram a óbito durante o processo de criação em uma granja comercial localizada no município de Cambé-PR. A coleta dos animais mortos foi feita diariamente, logo após o óbito, pelo funcionário da granja e armazenadas em freezer. Posteriormente, as carcaças foram trazidas ao laboratório da Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina para moagem, preparação e produção de silagem.

Produção de silagem

As carcaças inteiras sem evisceração e nem a retirada das penas, foram descongeladas e trituradas em moedor elétrico de carne, modelo 1970, com peneira de 8mm. O produto obtido da trituração das carcaças foi misturado de modo a obter uma massa homogênea. Esta massa homogênea totalizando 90 quilos foi então dividida em 45 lotes e acondicionada em silos de polietileno, que constituíram os tratamentos experimentais. Cada

um dos silos recebeu, 2 quilos de massa homogênea e os ácidos conforme os tratamentos constantes na Tabela 1.

Pelo fato de terem sido encontrados apenas alguns trabalhos (MIDDLETON; FERKET, 2001; MIDDLETON et al., 2001a) descrevendo a utilização de ácidos (ácido fosfórico) no preparo de silagem de carcaças de frango, aliado ao fato da inexistência de literatura relatando a utilização de associação de ácidos no processo de ensilagem de carcaça de frango, optou-se por utilizar neste trabalho, os ácidos fosfórico e acético baseado nas informações descritas por Vidotti e Gonçalves (2006), que prepararam silagens de peixes.

Foram adicionados à massa ensilada 0,1% de antioxidante BHT (Hidroxibutilanisol) na diluição 20g/100ml de álcool etílico e 0,1% de antifúngico (ácido sórbico) na diluição 10g/100ml de álcool etílico (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006). Os silos foram identificados e deixados em repouso. O produto foi revolvido com um bastão, conforme o tratamento respectivo (Tabela 1), visando misturar melhor o ácido à massa. O tempo de armazenamento dos silos respeitaram os devidos tratamentos (Tabela 1) e os mesmos ficaram a temperatura ambiente, com média mínima e máxima de 20,26°C e 31,79°C, respectivamente.

Análises químicas e microbiológicas

Para as análises químicas foram coletadas aproximadamente 150 gramas de amostras de cada unidade experimental, com 10, 20 e 30 dias de armazenamento. Cada unidade experimental foi homogenizadas antes da retirada das amostras, a fim de obter uma partida uniforme. Nos laboratórios de Nutrição animal e de Solos dos Departamentos de Zootecnia e de Agronomia/UEL, respectivamente, foram realizadas as determinações de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), conforme AOAC (1990) e macroelementos minerais (Ca e P), segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Para determinação do pH foi utilizado o potenciômetro digital, marca Hanna, realizando-se leituras diárias, uma no período da manhã e outra no período da tarde, durante todo o período experimental.

A oxidação lipídica da silagem foi avaliada pelo método do ácido 2-tiobarbitúrico, TBARS (BRID; SILVA, 2009). O padrão utilizado foi o 1,1,3,3

tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gera malonaldeído na proporção de 1mol: 1 mol; tornando possível, desta forma, expressar os resultados em termos de “valor de TBARS” sendo apresentado como mg de malonaldeído/kg de amostra.

Para extração de óleo das amostras de silagem de cada unidade experimental realizou-se a centrifugação a 3000xG, durante 30 minutos. A fração lipídica sobrenadante foi mensurada com auxílio de proveta e pipeta graduadas.

No laboratório de Inspeção de produtos de Origem Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/UEL foram realizadas as análises microbiológicas de enumeração de aeróbios mesófilos e número mais provável de coliformes a 30 e 45°C. Estas análises foram realizadas no momento da moagem das carcaças de frangos, consideradas como dia 0 (zero), antes da adição de ácidos, e após 3, 10, 20 e 30 dias de ensilagem. As metodologias utilizadas foram aquelas descritas na Instrução Normativa Nº 62 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

Enumeração de microrganismos aeróbios mesófilos

Uma alíquota de 25g de cada amostra foi adicionada a 225 mL de solução salina peptonada 0,1% que, após homogeneizadas em *stomacher*, foram diluídas serialmente em escala decimal utilizando solução salina peptonada 0,1% de 10^{-1} até 10^{-7} . Em seguida 1mL de cada diluição foi distribuída no centro de placas de Petri estéreis e identificadas, em duplicatas. Adicionou-se a cada placa de Petri, cerca de 15 a 20 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), que após solidificação, foram incubadas a 36°C por 48 horas.

Para contagem dos microrganismos, escolheram-se as duas placas da mesma diluição que apresentaram de 25 a 250 colônias, multiplicando-se a média do número de colônias contadas pelo fator de diluição correspondente e expressando-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de silagem. Para a análise estatística os valores foram transformados em log UFG/g.

Número mais provável de coliformes (a 30°C e 45°C)

Prova presuntiva

Utilizando-se as diluições previamente preparadas de 10^{-1} a 10^{-7} , distribuiu-se 10 mL da diluição 10^{-1} em série de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração dupla (corresponde à diluição 10^0). A seguir, inoculou-se 1 mL da diluição 10^{-1} em uma série de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração simples. As outras diluições escolhidas também foram inoculadas em uma série de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração simples até as diluições decimais de 10^{-6} .

As incubações ocorreram a 36°C por 24 a 48 horas. A leitura foi realizada após 24 horas de incubação e repetida com 48 horas quando existiam tubos negativos. Considerou-se suspeito de coliformes os tubos que apresentavam turvação do meio e presença de gás no tubo de Durhan.

Prova confirmativa

Coliformes a 30°C

O material dos tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio que foram considerados positivos, foram repicados para tubos contendo caldo verde brilhante bile com 2% lactose, que foram então, incubados a 36°C por 24 a 48 horas. A presença de coliformes a 30°C foi confirmada pela presença de gás nos tubos de Durhan. Para o cálculo do NMP (número mais provável) de coliformes (NMP/g), utilizou-se a Tabela do Anexo III (Procedimentos Básicos de Contagem), incluída na IN n° 62 (MAPA, 2003).

Coliformes a 45°C

Os materiais dos tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio e considerados positivos foram repicados para tubos contendo caldo EC (*Escherichia Coli*) e incubados em banho maria a 45°C por 24 a 48 horas. A presença de coliformes foi confirmada pela presença de gás nos tubos de Durhan. Para o cálculo do NMP (número mais provável) de coliformes (NMP/g), utilizou-se a Tabela do Anexo III (Procedimentos Básicos de Contagem), incluída na IN n° 62 (MAPA, 2003).

Planejamento experimental

Os experimentos foram planejados para avaliar o efeito da concentração de ácidos (X_1), tempo de armazenamento (X_2) e número de revolvimentos diários da massa ensilada (X_3) sobre o pH (Y_1), teor de proteína (Y_2), oxidação lipídica (Y_3), produção de óleo (Y_4) e contagem de mesófilos (Y_5) na massa ensilada. Foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta, em delineamento fatorial incompleto 3^3 com três repetições no ponto central (BOX e BEHNKEN, 1960), com conforme descrito na Tabela 1.

A análise do planejamento experimental foi realizada pelo programa Statistica 7.0 (Statsoft, 2004) e a escolha dos parâmetros do modelo de superfície de resposta, gerado pelo planejamento foi baseada no nível de significância (5%) das variáveis independentes.

Tabela 1 – Delineamento experimental utilizando três variáveis independentes: concentração da mistura de ácidos (X_1); dias de armazenamento da silagem (X_2) e número de revolvimentos da massa ensilada por dia (X_3).

Tratamentos	Variáveis não-codificadas			Variáveis codificadas		
	concentração de ácidos*	tempo de armazenamento	revolvimento da massa	X_1	X_2	X_3
	(%)	(dias)	(n° vezes/dia)			
1	3	10	1	-1	-1	0
2	7	10	1	1	-1	0
3	3	30	1	-1	1	0
4	7	30	1	1	1	0
5	3	20	0	-1	0	-1
6	7	20	0	1	0	-1
7	3	20	2	-1	0	1
8	7	20	2	1	0	1
9	5	10	0	0	-1	-1
10	5	30	0	0	1	-1
11	5	10	2	0	-1	1
12	5	30	2	0	1	1
13	5	20	1	0	0	0
14	5	20	1	0	0	0
15	5	20	1	0	0	0

*ácido fosfórico e ácido acético (4:6)v/v

Resultados e Discussão

A massa ensilada, sob ação dos ácidos fosfórico e acético, apresentou alteração da coloração avermelhada para marrom, com consistência pastosa. Estas características foram semelhantes àquelas observadas por Cai et al., (1994) em silagem biológica de resíduos de carcaças de frango. Verificou-se que o ácido incorporado à massa ensilada substitui a função bioquímica principal dos microrganismos, que durante fermentação produzem o ácido lático.

Em geral, o ácido lático, produzido pelos microrganismos, diminui os valores de pH da silagem provocando a hidrólise protéica (OLIVEIRA et al., 2006), da mesma forma que ocorre com a adição direta de ácidos.

Verificou-se que houve liquefação da massa ensilada na primeira semana de armazenamento pela ação das enzimas endógenas das carcaças dos frangos, potencializadas pelo meio ácido. Esta ocorrência de liquefação também foram relatadas por Tatterson (1982) ao trabalharem com silagem de peixe com temperaturas de 20 a 30°C.

Os valores médios das análises químicas das silagens dos diferentes tratamentos encontram-se na Tabela 2.

Pela análise de superfície de resposta foi possível evidenciar a influência das variáveis estudadas na elaboração da silagem ácida de frango, bem como obter valores precisos para estas variáveis maximizando o processo de produção.

Tabela 2 – Composição química da silagem ácida de carcaças de frango, obtida a partir da adição de diferentes concentrações de ácidos fosfórico e acético.

Tratamentos	UM	PB ¹	EE ¹	Ca ¹	P ¹	MM ¹
1	65,62	55,35	31,55	2,03	7,86	10,84
2	64,14	48,61	32,07	2,02	7,02	13,93
3	65,35	53,72	35,01	3,03	7,51	9,78
4	64,59	50,07	28,49	2,69	8,01	14,26
5	63,25	46,14	35,15	2,45	7,74	10,51
6	63,86	48,36	30,19	2,80	8,28	14,27
7	64,68	50,59	29,86	3,81	9,00	12,05
8	65,11	52,14	30,40	2,59	9,21	16,36
9	64,79	47,91	32,88	2,58	9,18	13,80
10	64,68	52,60	31,87	2,20	5,61	13,08
11	66,97	56,88	30,63	2,88	8,19	13,93
12	66,38	57,62	30,93	2,84	7,80	14,44
13	66,22	57,51	29,22	2,24	5,54	15,07

14	66,64	58,44	31,93	2,10	5,64	14,56
15	67,21	56,30	30,37	2,15	5,44	14,61
DP	1,59	5,20	2,78	0,72	0,97	1,92

¹ em base seca; UM=umidade; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; Ca=cálcio; P = fósforo; MM=matéria mineral; DP = desvio padrão.

pH da massa ensilada

O modelo obtido pela metodologia de superfície de resposta para representar o efeito das variáveis independentes (concentração de ácidos, tempo de armazenamento e número de revolvimentos diários) sobre o pH da massa ensilada, está representado pela equação 1 e pela Figura 1.

$$Y_1 = 3,9 - 0,58.X_1 + 0,14.X_1^2 + 0,04.X_2 - 0,05.X_1.X_3; \quad (1)$$

$$R^2 = 0,97$$

onde,

Y_1 = pH da massa ensilada;

X_1 = concentração de ácidos;

X_2 = tempo de armazenamento;

X_3 = número de revolvimentos diários;

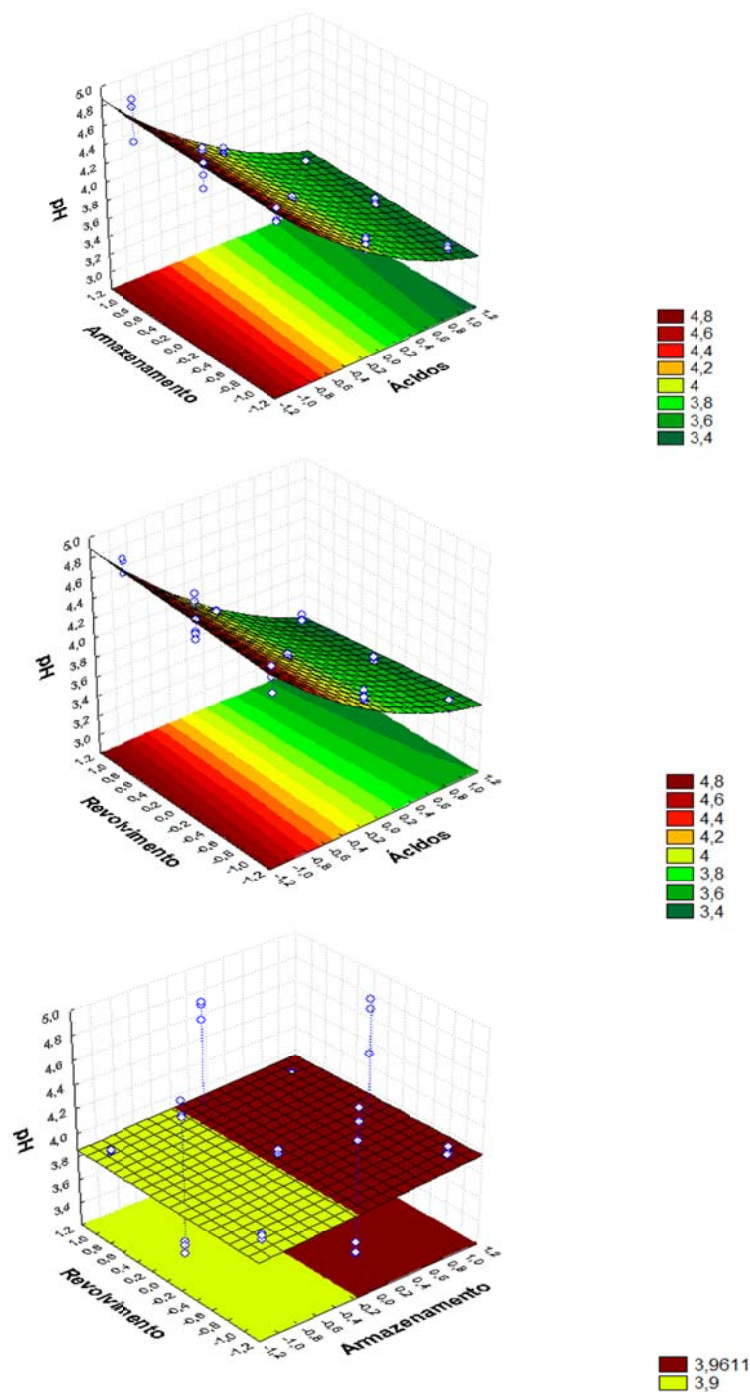
R^2 = coeficiente de determinação do modelo.

O coeficiente de determinação (R^2), observado para a resposta Y_1 (pH da massa ensilada) foi de 0,97, sugerindo um ajuste adequado do modelo aos dados experimentais.

Dentre as variáveis avaliadas, a concentração dos ácidos (X_1) foi a que apresentou maior influência sobre o pH da massa ensilada, com efeito linear negativo, ou seja, quanto maior a concentração de ácidos, menor o pH, e efeito quadrático positivo, indicando uma tendência de pH mínimo próximo ao ponto central. Entretanto o efeito linear foi mais importante, diminuindo o pH da massa com o aumento da concentração de ácidos, como pode ser observado na Figura 1. Middleton e Ferket (2001), também observaram valores decrescentes de pH a medida que se aumentava a concentração de ácido fosfórico, de 4,13 a 8,28%, para conservar as silagens de carcaças de frango. Os ácidos fornecem íons hidrogênio (prótons, H^+) à massa ensilada, diminuindo o pH.

O tempo de armazenamento (X_2) provocou efeito linear positivo, ou seja, houve aumento do pH ao longo do período de armazenamento da massa ensilada (Figura 1). Observações semelhantes quanto a variação de pH da silagem de resíduos de frango foram relatadas por Middleton et al. (2001), que observaram elevação de 4,2 para 4,75 no pH após 45 dias de armazenamento.

Figura 1 – Superfície de resposta do pH da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários.

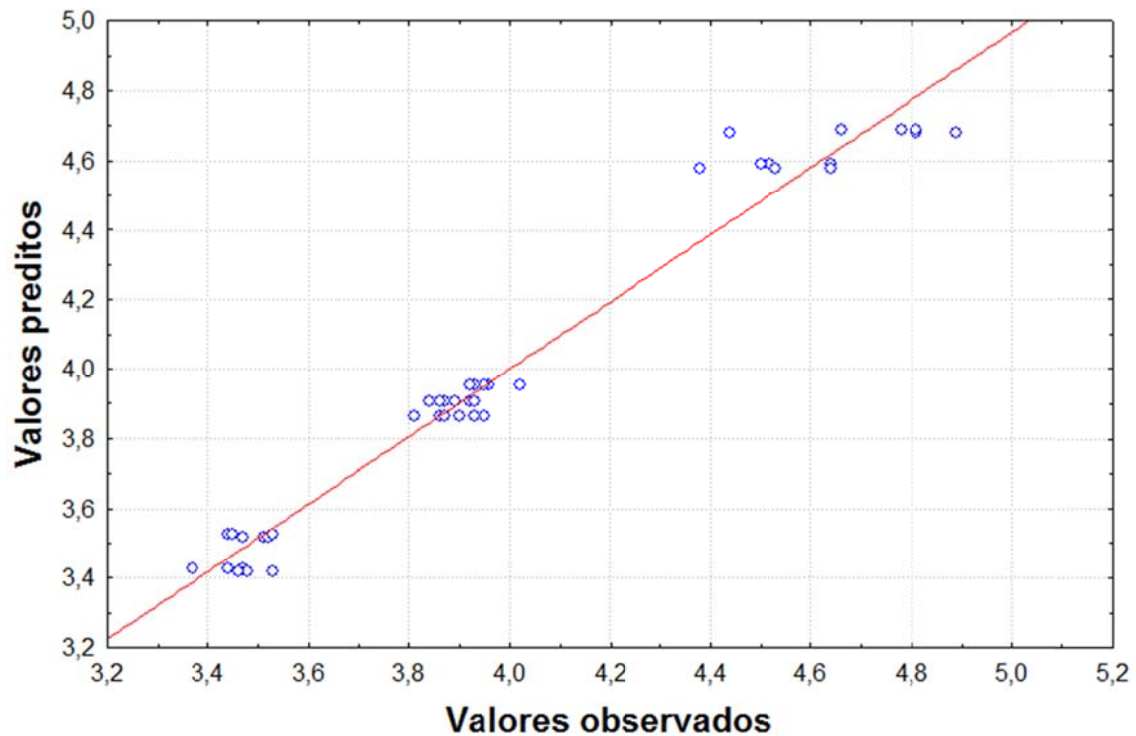


Não houve efeito do número de revolvimentos diários (X_3) sobre o pH, ou seja, o pH não foi afetado por esta variável. Entretanto a interação entre a concentração dos ácidos (X_1) e o número de revolvimentos (X_3) apresentou efeito negativo significativo, ou seja, houve diminuição do pH da massa quando associados concentrações mais altas de ácidos (X_1) com aumento do número de revolvimentos (X_3). Do ponto de vista prático, se o interesse for diminuir o pH da massa ensilada, é importante que sob concentrações mais altas de ácido, seja feito um maior número de revolvimentos desta massa. Segundo Oetterer (1994), após adição de ácidos na massa ensilada, faz-se necessário um revolvimento inicial da massa e posteriormente, revolvimentos ocasionais para uniformização da mesma, evitando, inclusive, a putrefação de regiões sem o contato com o ácido.

Tatterson (1982), preconizou que os valores ótimos de pH das silagens ficassem próximos de 4,0. Segundo Murphy e Silbert (1992), valores de $\text{pH} \leq 4,2$, foram suficientes para a preservação das carcaças de frango ensiladas, com adição de 7,5% ou 10% de glicose, ou 10 a 20% de carboidratos, no período de 45 dias. Relataram ainda que a eliminação dos patógenos presentes na matéria prima ocorreu nos primeiros dias de ensilagem. Condições de pH semelhantes foram descritas por Shaw, Narasimbha Rao e Mahendrakare (1998), em silagem com resíduo de frango (intestinos) adicionando 10% de melão e 0,5% de ácido propiônico.

Nas figuras 1 e 2, observa-se a superfície de resposta e os valores observados e preditos de valores de pH da silagem de frango, respectivamente. Ambos indicaram que a concentração de ácidos (X_1) estando no nível codificado 0, ou seja 5% de ácidos, o pH permanece na faixa de 4. Esse valor de pH é o mais indicado para o preparo e a preservação da silagem.

Figura 2 – Valores observados e preditos de pH da silagem ácida de carcaças de frango, fixando-se X_3 (número de revolvimentos diários) em nível 0 e variando X_1 (ácidos,%) e X_2 (dias de armazenamento).



Proteína bruta da massa ensilada

O modelo para representar o efeito das variáveis independentes sobre o valor da proteína da massa ensilada, está representado pela equação 2 e pela Figura 3.

$$Y_2 = 58,41 - 0,59.X_1 - 4,18.X_1^2 - 2,23.X_2^2 + 3,12.X_3 - 2,35.X_3^2 + 1,70.X_1.X_2 \quad (2)$$

$$R^2 = 0,78$$

onde,

Y_2 = proteína bruta da massa ensilada;

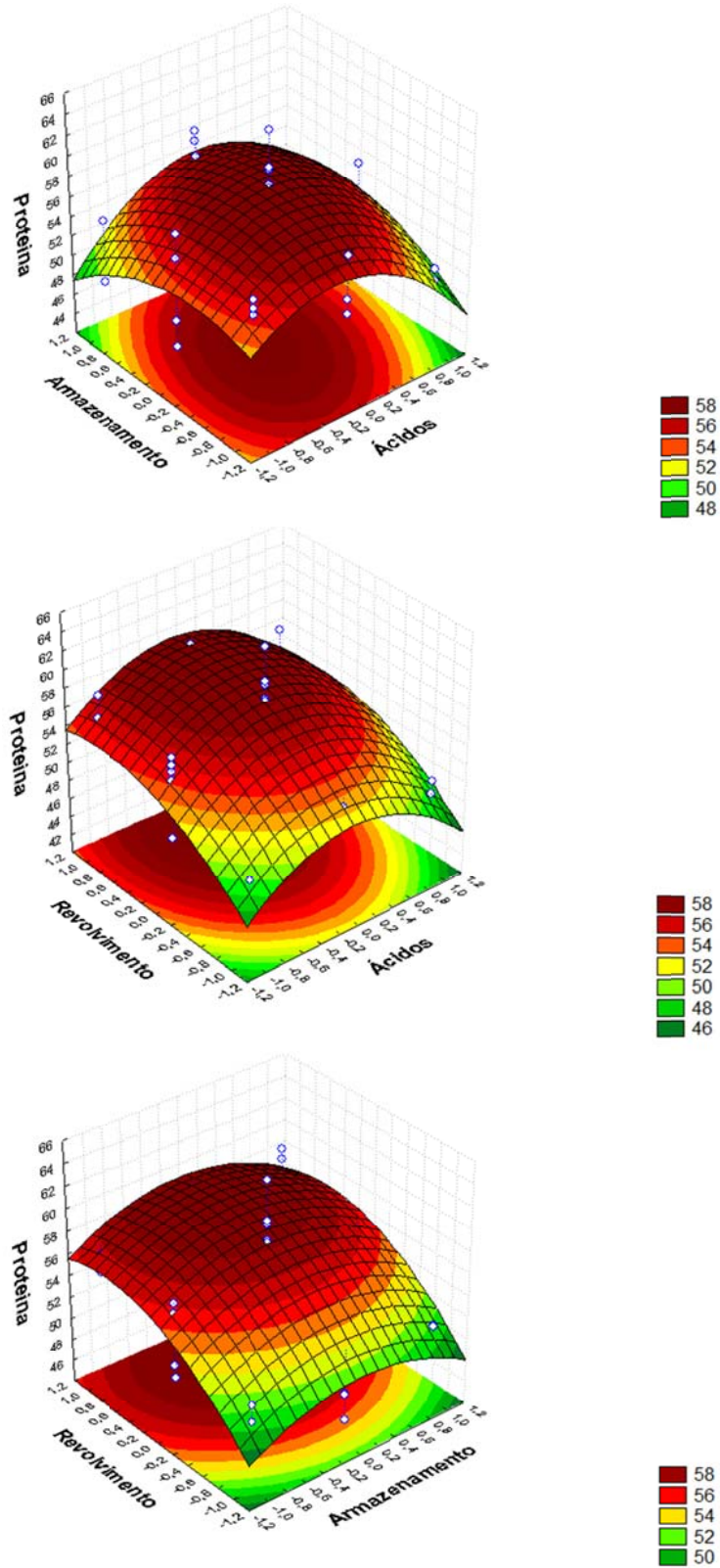
X_1 = concentração de ácidos;

X_2 = tempo de armazenamento;

X_3 = número de revolvimentos diários;

R^2 = coeficiente de determinação do modelo

Figura 3 – Superfície de resposta da proteína bruta da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários.



O coeficiente de determinação (R^2), observado para a resposta Y_2 (proteína bruta da massa ensilada) foi de 0,78 sugerindo um bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

A variável concentração de ácidos (X_1) apresentou efeito linear negativo, ou seja, quanto maior a concentração de ácidos utilizada, menor o teor de proteína bruta, e efeito quadrático negativo, indicando uma região de máximo valor de proteína, próximo ao ponto central, como pode ser observado na Figura 3. Possivelmente houve efeito da diluição causada pelo aumento de ácidos à massa ensilada, como observado por Middleton e Ferket (2001), em silagem de frango preparadas com ácido fosfórico, cujas concentrações maiores destes ácidos promoveram menores valores de proteína bruta. Os valores de proteína bruta encontrados nas silagens com maiores valores de ácido fosfórico (6,90 e 8,28%) foram semelhantes aos teores de proteína bruta encontrada na fermentação láctica das carcaças de frango.

O tempo de armazenamento (X_2) teve efeito quadrático negativo, indicando máximo valor de proteína no ponto central, ou seja, próximo de 20 dias de armazenamento (Figura 3). Segundo Oetterer (1994), na silagem ácida, a hidrólise provocada pelo ácido torna o nitrogênio mais solúvel. Durante a ensilagem, uma parte do nitrogênio protéico é convertida em amônia (RAGHUNATH; MCCURDY, 1987), podendo ser perdido por volatilização, o que poderia justificar a diminuição do teor de proteína em armazenamento prolongado.

O número de revolvimentos diários (X_3) teve efeito linear positivo, ou seja, quanto maior o número de revolvimentos, maior o teor de proteína; e efeito quadrático negativo, indicando um ponto de máxima próximo ao ponto central. Com o revolvimento da massa ensilada ocorre melhor distribuição dos ácidos, potencializando a hidrólise conforme observado por Oetterer (1994).

Houve interação entre X_1 e X_2 (concentração de ácidos e dias de armazenamento), apresentando efeito positivo significativo, ou seja, aumentou-se o valor de proteína bruta quando ambas as variáveis foram aumentadas.

Os valores encontrados para proteína bruta na silagem de frango estão próximos de valores encontrados para farinha de vísceras de frango, que apresentam 62% de proteína bruta na matéria seca, conforme observado por Rostagno (2005). Fagbenro e Faskin (1996) encontraram valores de 54,1% de proteína bruta em base seca, na silagem de vísceras de frango com adição de ácidos cítrico e propiônico (4,5 e 0,5%, respectivamente). Os valores de proteína da silagem podem alterar de acordo com a metodologia de ensilagem e composição da matéria prima. Cai e Sander (1995), combinando as concentrações de 5 a 8%

de farinha de milho e de 5 e 8% de soro de leite desidratado para compor a silagem de carcaça de frango, encontraram valores de proteína bruta variando de 41,5 a 49,2%. Valores inferiores também foram descritos por Kherrati et al. (1998), em resíduos de frango (visceras, penas, cabeça, pés) ensiladas com 15% de melaço e encontraram valores de proteína bruta na silagem de 30,5 a 41,9%.

Oxidação lipídica

O modelo para representar o efeito das variáveis independentes sobre o valor da oxidação lipídica da massa ensilada, está representado pela equação 3 e pela Figura 4.

$$Y_3 = 0,022 - 0,003X_1 + 0,007X_1^2 - 0,009X_2 - 0,002X_3 + 0,007X_3^2 ; \quad (3)$$

$$R^2 = 0,66$$

onde,

Y_3 = oxidação lipídica da massa ensilada;

X_1 = concentração de ácidos;

X_2 = tempo de armazenamento;

X_3 = número de revolvimentos diários;

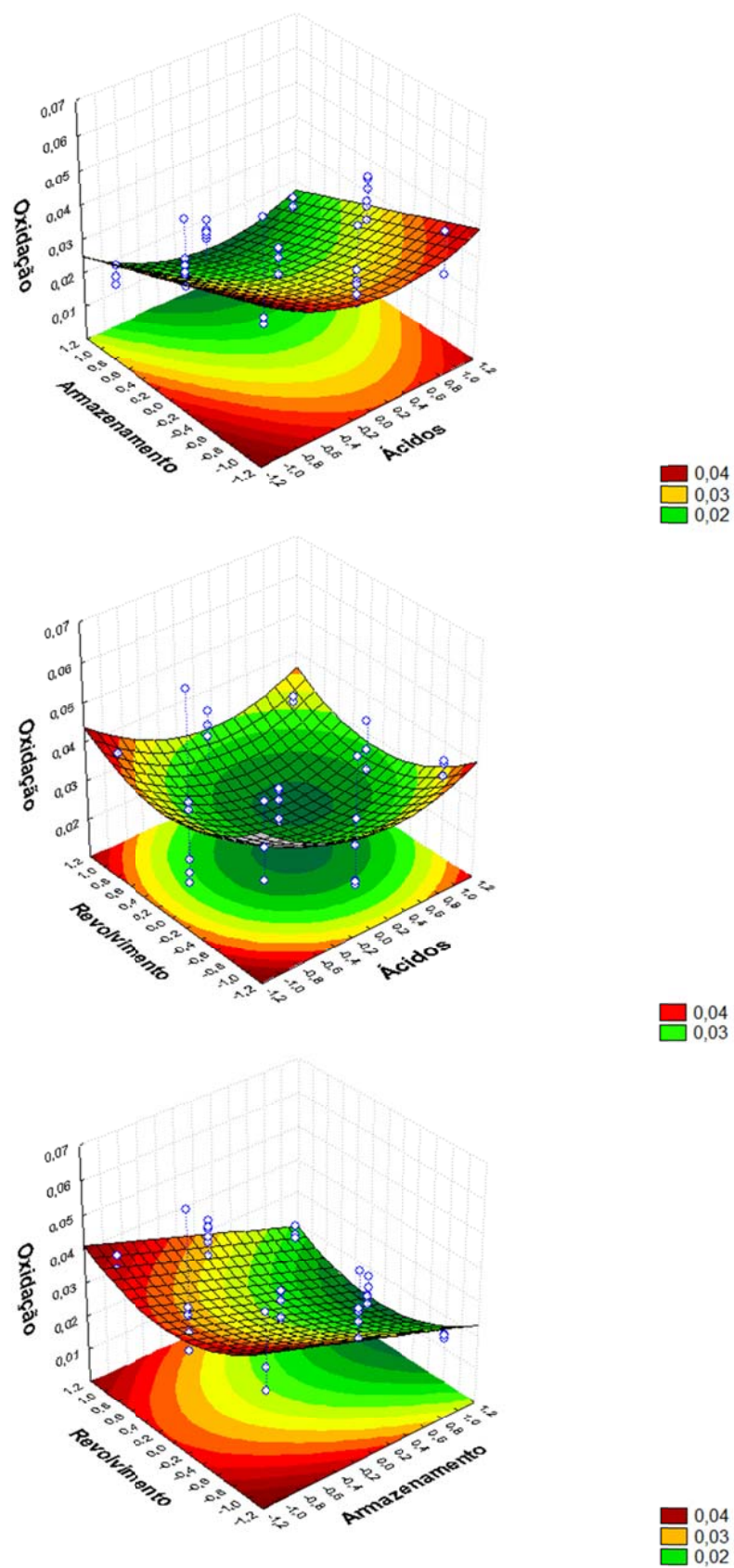
R^2 = coeficiente de determinação do modelo.

O coeficiente de determinação (R^2), observado para a resposta Y_3 (oxidação lipídica) foi de 0,66.

A concentração de ácidos (X_1) apresentou efeito linear negativo, ou seja, quanto maior a concentração de ácidos utilizada, menor a oxidação lipídica da massa ensilada; e efeito quadrático positivo, indicando uma tendência de oxidação mínima próximo ao ponto central (Figura 4). Possivelmente o ácido atuou como antioxidante primário. Segundo Queiroz (2006) a ação primária dos antioxidantes é exercida devido a sua capacidade de doar átomos de hidrogênio aos radicais livres formados.

O tempo de armazenamento (X_2) apresentou efeito linear, ou seja, quanto maior o período de armazenamento, menor a oxidação lipídica (Figura 4).

Figura 4 – Superfície de resposta da oxidação lipídica da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários.



O número de revolvimentos diários (X_3) apresentou efeito linear negativo. Observa-se que quanto maior o número de revolvimento, menor a oxidação lipídica. Entretanto, o efeito quadrático foi positivo, indicando uma tendência de oxidação mínima próximo ao ponto central (Figura 4).

Em geral, o longo tempo de armazenamento, afeta negativamente o valor nutricional e a eficiência de conservação da silagem. A perda do valor nutritivo está relacionada com o escurecimento, provocado por reações lipídicas. A oxidação lipídica altera o sabor, cor, textura e valor nutricional além de produzir compostos tóxicos (KOMPIANG, 1981; SALES, 1995).

Neste trabalho houve diminuição da oxidação lipídica com o passar do tempo. Provavelmente os valores observados, por estarem baixos e muito próximos, forçaram uma tendência de diminuição da oxidação lipídica dos tratamentos.

Green (1984) encontrou valores de TBA (ácido tiobarbitúrico) de 20 a 40mg em 100g de silagem de peixe, considerados baixos segundo o autor, mas no limiar de percepção do sabor de ranço. No presente trabalho foram encontrados valores bem abaixo daqueles relatados por esse autor.

Extração de óleo

O modelo obtido para representar o efeito das variáveis independentes sobre a extração de óleo da massa ensilada, está representado pela equação 4 e pela Figura 5.

$$Y_4 = 4,27 + 0,653X_1 + 1,582X_1^2 - 1,554X_3 - 0,571X_1X_2 + 0,752X_1X_2^2 + 0,290X_1^2X_2 + 0,939X_1X_3 + 1,751X_1^2X_3 - 1,241X_2X_3; \quad (4)$$

$$R^2 = 0,49$$

onde,

Y_4 = extração de óleo da massa ensilada;

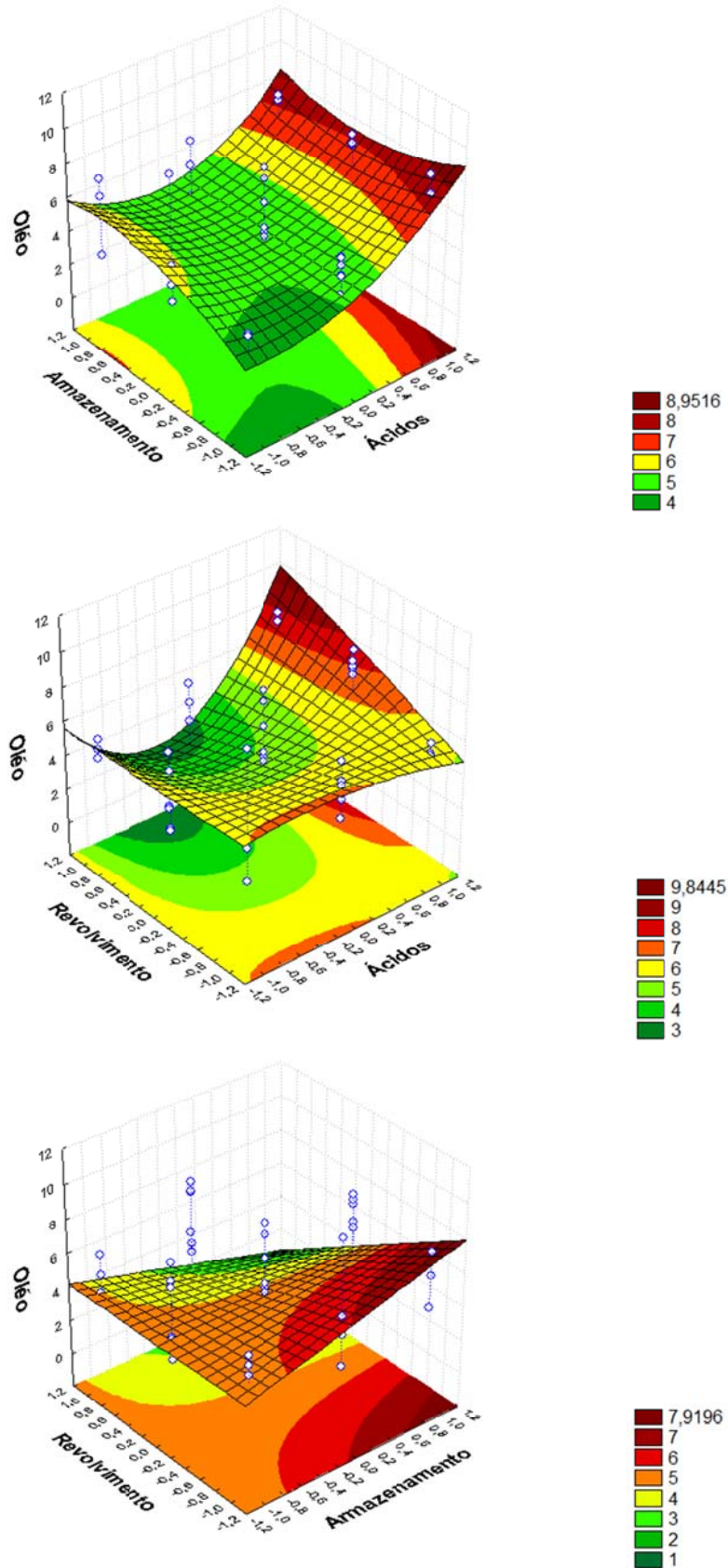
X_1 = concentração de ácidos;

X_2 = tempo de armazenamento;

X_3 = número de revolvimentos diários;

R^2 = coeficiente de determinação do modelo.

Figura 5 – Superfície de resposta da extração de óleo da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários.



O coeficiente de determinação (R^2), observado para a resposta extração de óleo da massa ensilada foi de 0,49.

A concentração de ácidos (X_1) apresentou efeito linear positivo, ou seja, quanto maior a concentração de ácidos maior a extração de óleo e efeito quadrático positivo, indicando uma tendência de extração mínima de óleo próxima ao ponto central (Figura 5).

O tempo de armazenamento (X_2) não apresentou efeito significativo e o número de revolvimentos diários (X_3) apresentou efeito linear negativo, ou seja, quanto maior o número de revolvimento, menor a extração de óleo da massa ensilada (Figura 5). Com o aumento no número de revolvimentos diários o óleo foi novamente incorporado a silagem.

Nos tratamentos com maior número de revolvimentos, a silagem parecia estar com características de emulsão. Seibel e Souza-Soares (2003), analisando a silagem de resíduos de pescado marinho, também verificaram a formação de emulsão da silagem quando aumentaram o número de revolvimentos.

Embora o coeficiente de determinação tenha sido baixo, a análise da superfície de resposta indicou regiões de mínimos valores para extração de óleo quando a concentração de ácido (X_1) está próximo ao ponto central, ou seja, 5% de ácidos. As regiões de máxima extração de óleo deixam de ser interessantes, uma vez que a silagem tem como objetivo gerar um produto que sirva de ingrediente na elaboração de rações para animais e não à extração de óleo.

A extração de óleo poderia ser direcionada para a produção de biodiesel. Gomes et al. (2004) produziram biodiesel a partir de óleo de frango não comestível, produzido em abatedouros das cooperativas da Região Oeste do Estado do Paraná e relataram um rendimento de 95%, sendo considerado satisfatório.

Entretanto, verificou-se neste trabalho, que para se obter uma boa produção de óleo, a concentração de ácidos (X_1) deve ser alta. Isto causa diminuição no valor protéico da silagem e aumenta os custos de produção. Por outro lado, verificou-se também que outra forma de maximizar a produção de óleo seria a diminuição da concentração de ácidos (X_1) e do número de revolvimentos diários (X_3) prejudicando, também a qualidade da silagem produzida.

Não foram encontrados trabalhos relatando a extração de óleo durante o processo de obtenção de silagem de carcaças de frangos. Os valores encontrados neste trabalho estão próximos aos encontrados por Vidotti e Gonçalves (2006), que encontraram valores de extração de óleo, variando de 6,77 a 8,65%, em silagem de resíduos de peixes.

Contagem de mesófilos

O modelo obtido para representar o efeito das variáveis independentes sobre a contagem de mesófilos da massa ensilada, está representado pela equação 5 e pela Figura 6.

$$Y_5 = 3,10 + 0,18.X_1 - 0,16.X_2 + 0,47.X_2^2 + 0,94.X_1.X_2 - 1,18.X_1.X_2^2 - 0,54X_1^2.X_2 \quad (5)$$

$$R^2 = 0,81$$

onde,

Y_5 = contagem de mesófilos da massa ensilada;

X_1 = concentração de ácidos;

X_2 = tempo de armazenamento;

X_3 = número de revolvimentos diários;

R^2 = coeficiente de determinação do modelo.

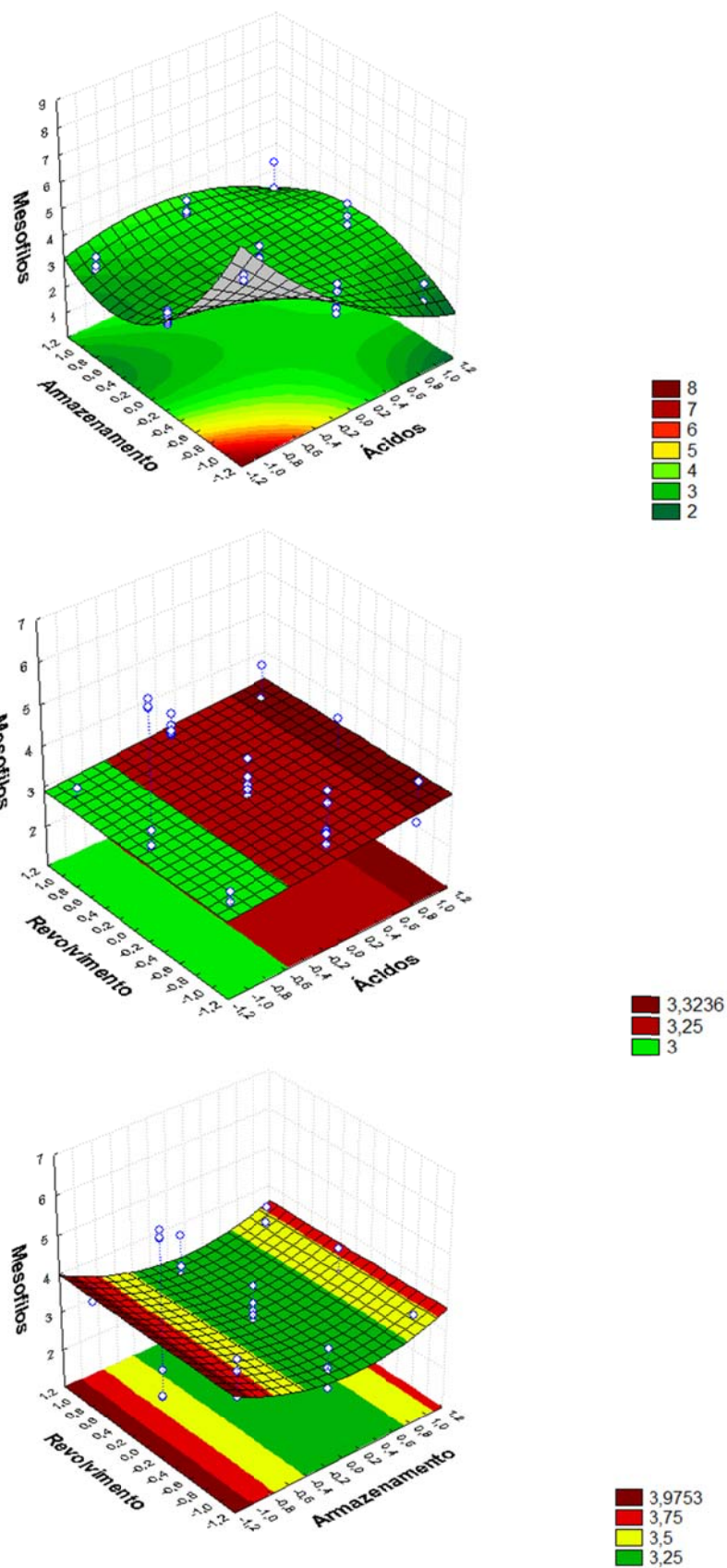
O coeficiente de determinação (R^2), observado para a resposta Y_5 (contagem de mesófilos) foi de 0,81, sugerindo um bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

Dentre as variáveis avaliadas, o número de revolvimentos diários (X_3) não apresentou efeito significativo. A concentração de ácidos (X_1) apresentou efeito linear positivo, ou seja, quanto maior a concentração de ácidos, maior a contagem de mesófilos. No entanto houve interações entre as variáveis concentração de ácidos (X_1) e o tempo de armazenamento (X_2), apresentando coeficientes maiores e negativos, ou seja, diminuindo a contagem de mesófilos com o aumento da concentração de ácidos (X_1) e o tempo de armazenamento (X_2) (equação 5 e Figura 6).

O tempo de armazenamento (X_2) apresentou efeito linear negativo. Verifica-se que, quanto maior o tempo de armazenamento menor a contagem de mesófilos; e efeito quadrático positivo indicando uma tendência de contagem de mesófilos mínima próximo do ponto central (Figura 6).

Na avaliação da contagem de mesófilos, o objetivo foi encontrar o ponto onde houvesse menor número de microrganismos possíveis. Assim deve se evitar os níveis de concentrações de ácidos abaixo de 5% e a massa ensilada deve permanecer armazenada por mais de 20 dias (Figura 6).

Figura 6 – Superfície de resposta da contagem de mesófilos (em log) da silagem ácida de carcaças de frango em função da concentração de ácidos (fosfórico e acético), tempo de armazenamento e revolvimentos diários.



Embora exista diferença na contagem de mesófilos das silagens dos diferentes tratamentos, o número mais provável (NMP) de coliformes a 45°C por grama e o NMP de coliformes a 30°C por grama foram inferiores a 0,3 NMP/g. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária através da resolução RDC nº 12 preconiza que em alimentos cárneos cozidos, o aceitável é de até 10^3 NMP/g. A contaminação na matéria prima foi de 496.000 NMP/g de coliformes a 45°C e 750.000 NMP/g de coliformes a 30°C. Outros pesquisadores trabalhando com silagem de resíduos de peixes (FAID; ELMARRAKCHI; ACHKARI-BEGDOURI, 1994; 1997; AHAMED; MAHENDRAKAR, 1996; OLIVEIRA et al., 2006) e em silagem de carcaça de frango (CAI et al., 1994; KHERRATI et al., 1998; SHAW; NARASIMHA RAO; MAHENDRAKAR, 1998; MIDDLETON; FERKET, 2001) também verificaram a eficiência do processo de ensilagem na eliminação de patógenos. A redução da contaminação após os tratamentos ácidos mostra a eficiência em eliminar os patógenos e de tornar o produto seguro.

Conclusão

O método de superfície de resposta permitiu a otimização das variáveis independentes (concentração de ácidos, tempo de armazenamento e número de revolvimentos diários) no processo de preparo de silagem de carcaça de frango.

A concentração de ácidos recomendada para atingir os valores de pH próximo de 4, como preconiza a literatura, é de 5% (2% ácido fosfórico e 3% ácido acético).

A silagem deve permanecer armazenada por um período mínimo de 20 dias, sendo que ao se aproximar de 30 dias, diminui ainda mais o número de mesófilo. Valores menores de oxidação lipídica ocorrem a partir de 20 dias de armazenamento.

Os revolvimentos diários são de grande importância na homogeneização da massa ensilada, bem como na incorporação dos ácidos. O revolvimento da massa ensilada, uma vez ao dia, confere melhor uniformidade, permitindo que a hidrólise ocorra homogeneamente em toda massa ensilada.

Referências Bibliográficas

AOAC. Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis** edited by **Kenneth Helrich**. 15. ed. Arlington, Virginia. v. 2, p. 685-1298, 1990b.

_____. Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis**. Edited by **Kenneth Helrich**. 15. ed. Arlington, Virginia. v. 1, 1990a. 684p.

ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. Planejamento de aviários para criação de frangos de corte. **Embrapa Suínos e Aves**, CT 262, p. 1-4, Novembro, 2000. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cot262.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2011.

BEERLI, E. L.; BEERLI, K. M. C.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 195-198, 2004.

BERENZ, Z. **Utilización del ensilado de residuos de pescado en pollos**. 1994. 11p. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/aph134/cap2.htm>>. Acesso em: 20 out. 2006.

BORGHESI, R.; ARRUDA, L. F.; OETTERER, M. A silagem de pescado na alimentação de organismos aquáticos. **Boletim do Ceppa**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 329-339, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Brasília, 10 jan. 2001.

_____. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1.

BRIDI, A. M.; SILVA, C. A. **Avaliação da carne Suína**. Londrina: Midiograf. 2009.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometrics**. Washington, v. 2, n. 4, p. 455-475, 1960.

CAI, T.; PANCORBO, O. C.; BARNHART, H. M.; SANDER, J. E.; MERKA, W. C. Chemical and microbiological characteristics of poultry processing by-products, waste, and poultry carcasses during lactic acid fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 49-60, 1994.

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

GAO, Y.; LO, K. V.; LIAO, P. H. Utilization of Salmon Farm Mortalities: Fish Silage. **Bioresource Technology**, v. 41, n. 2, p. 123-127, 1992.

GOMES, L. F. S.; SOUZA, S. N. M.; BARICCATTI, R. A.; SOUZA, J. Potencial de produção de biosiesel a partir do óleo de frango nas cooperativas do oeste do Paraná. **Varia scientia**, v. 4, n. 8, p. 141-149, 2004.

HAMMOUMI, A.; FAID, M.; EL-YACHIOUI, M.; AMAROUCHE, H. Characterization of fermented fish waste used in feeding trials with broilers. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 423-427, 1998.

KHERRATI, B.; FAID, M.; ELYACHIOUI, M.; WAHMANE, A. Process for recycling slaughterhouses waste and by-products by fermentation. **Bioresource Technology**, v. 63, n. 1, p. 75-79, 1998.

KOMPIANG, I. P. Fish silage: its prospect and future in Indonesia. **Indonesian Agriculture Resource & Development Journal**, v. 3, n. 1, p. 9-12, 1981.

MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R. Effect of level of acidification by phosphoric acid, storage temperature, and length of storage on the chemical and biological stability of ground poultry mortality carcasses. **Poultry Science**, v. 80, n. 8, p. 1144-1153, 2001.

MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R.; BOYD, L. C.; DANIELS, H. V.; GALLAGHER, M. L. An evaluation of co-extruded poultry silage and culled jewel sweet potatoes as a feed ingredient for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). **Aquaculture**, v. 198, n. 3-4, p. 269-280, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. D. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MURPHY, D. W.; SILBERT, S. A. Preservation of and nutrient recovery from poultry carcasses subjected to lactic acid bacteria fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 1, n. 1, p. 66-74, 1992.

OETTERER, M. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. **Alimentos e nutrição**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 119-134, 1994.

_____. **Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais**. 1999. 196p. Tese (Livre-Docência) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba 1999.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; PIMENTE, C. J.; OLIVEIRA, M. M. et al. Silagem de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com ácido fórmico – Análise bromatológica, físico-química e miológica. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1218-1223, 2006.

QUEIROZ, A. M. P. **Efeitos do tripolifosfato de sódio sobre as características microbiológicas, físico-químicas e vida-de-prateleira em lingüiça frescal de frango.** 2006. 85p. Dissertação (Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul. 2006.

RAGHUNATH, M.R.; MCCURDY, A.R. Autolysis-Resistant Sediment in Fish Silage. **Biological Wastes**, Barking, GB, v. 20, n. 3, p. 227-239, 1987.

RISTIC, M. D.; FILIPOVIC, S. S.; SAKAC, M. L. J. Liquid protein feedstuffs from freshwater fish by-products as a component of animal feed. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 7, n. 3, p. 729-736, 2002.

SEIBEL, N. F.; SOUZA-SOARES, L. A. Produção de Silagem Química com Resíduos de Pescado Marinho. **Brazilin Journal Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 333-337, 2003.

SHAW, D. M.; NARASIMHA RAO, N. D.; MAHENDRAKAR, N. S. Rapid fermentation for ensiling of poultry intestines. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p. 247-249, 1998.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA** (data analysis software system), version 7. 2004.

TATTERSON, I. N.; WINDSOR, M. L. Fish silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 25, n. 1, p. 369–379, 1974.

TATTERSON, I. N. Fish silage preparation, properties and uses. **Animal Feed Science and Technology**, v. 7, n. 4, p. 153-159, 1982.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilapia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de pesca – APTA-SAA**, out, 2006. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br>>: Acesso em: 10 ago. 2011.

VIDOTTI, R. M.; VIEGAS, E. M. M.; CARNEIRO, D. J. Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. **Animal Feed Science and Technology**, v. 105, n. 1-4, p. 199–204, 2003.

Artigo 2

Efeito da Acidificação na Eliminação de *Salmonella* em Silagem Ácida de Carcaças de Frango

Resumo: Este trabalho foi realizado para avaliar a eficiência de eliminação de microrganismos patogênicos na ensilagem de carcaças de frangos. Para a ensilagem, as carcaças de frango foram moídas, homogeneizadas e adicionadas de 2% de ácido fosfórico, 3% de ácido acético, 0,1% de bht (hidroxibutilanisol) e 0,1% de antifúngico (ácido sórbico). Em seguida, foram acondicionadas em minissilos, conforme os seguintes tratamentos (t): t0 - controle (sem inóculo); t1 - com 10^2 ufc/g de *salmonella*; t2 - com 10^3 ufc/g de *salmonella* e t3 - com 10^4 ufc/g de *salmonella*, e revolvidas uma vez ao dia. A silagem foi monitorada por 45 dias com aferições de ph e temperatura diariamente. Foram realizadas análises químicas e avaliações de microrganismos (coliformes a 30°C, coliformes a 45°C e *salmonella*). O ph médio das silagens foi de 4,2 ao final de 45 dias de armazenamento e temperatura média de 26,6°C. Os resultados microbiológicos das silagens demonstraram que, após 3 dias de ensilagem já não se observava presença de *salmonella* nas silagens de todos os tratamentos. O número de coliformes a 30°C e a 45°C apresentaram valores inferiores a 0,3nmp/g em todas as silagens aos 20 dias de armazenamento. Os resultados obtidos mostraram que o tratamento ácido no processo de ensilagem foi eficaz na inibição microbiana tornando a silagem um produto seguro para ser utilizado na alimentação animal.

Palavras chave: Alimentação animal. Coliformes. Inibição microbiana. Microrganismos patogênicos.

Effects of Acidification on the Elimination of *Salmonella* Sp in Acid Silage from Poultry Carcasses

Abstract: This study was carried out to evaluate the inhibition efficiency of pathogenic microorganisms in poultry carcasses silage. For ensilage, the poultry carcasses were ground, homogenized and added 2% phosphoric acid, 3% acetic acid, 0.1% bht (butylated hydroxytoluene) and 0.1% of antifungal (sorbic acid). Next, they were placed in mini-silos, according to the following treatments (t): t0 - control (without inoculum); t1 - with 10^2 cfu/g of *salmonella*; t2 - with 10^3 cfu/g of *salmonella* and t3 - with 10^4 cfu/g of *salmonella*, and turned once a day. The silage was monitored for 45 days with daily measurements of ph and temperature. Chemical analysis and microorganisms evaluations (*salmonella*, coliforms at 30 and 45°C) were carried out. The average ph of the silage was 4.2 at the end of 45 storage days and average temperature of 26.6°C. The microbiological results showed that three days after of ensiling has not observed the presence of *salmonella* in all silages. The coliforms number presented values lower than 0.3nmp/g in all silages at 20 days of storage. The results showed that the acid treatment on silage fermentation was effective in inhibiting microbial making a safe product for animal feed.

Keywords: Animal feed. Coliforms. Microbial inhibition. Pathogenic microorganisms.

Introdução

O descarte de carcaças de frango representa um problema econômico e ambiental para a indústria avícola. A rápida putrefação do material requer um tratamento imediato para prevenir odores. Na maioria das vezes esse material é incinerado ou levado para compostagem que pode contaminar o solo e a água (CAI et al., 1994).

Durante o processo de criação de frangos é aceitável uma mortalidade de até 5% do plantel (ABREU; ABREU, 2000), representando uma quantidade relativamente alta de proteína que não é aproveitada. Segundo Cai e Pancorbo (1994), o processo de fermentação ácida das carcaças de frangos mortos é uma alternativa economicamente viável de aproveitamento de resíduos, evitando a contaminação ambiental e inibindo o crescimento de patógenos bacterianos.

Alguns trabalhos mostraram a utilização de silagem biológica na biotransformação de resíduos de frango (CAI et al., 1994; SHAW et al., 1998; KHERRATI et al., 1998; FAGBENRO; FASAKIN 1996). Com a redução do pH, seja por meio de fermentação láctica ou adição de ácidos, ocorre a inibição de patógenos microbianos, tornando a silagem própria para o consumo animal (MIDDLETON; FERKET, 2001).

A silagem de frango fermentada com adição de levedura de cerveja mantém o pH próximo de 4 eliminando a *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, coliformes e estreptococos fecais (CAI et al., 1994). Kherrati et al. (1998) estudando a silagem fermentada de resíduos de abatedouro de frango com adição de melaço também observaram inibição dos microrganismos patogênicos em 10 dias de ensilagem, reduzindo a praticamente zero a contaminação de coliformes a 30°C e a 45°C, *Clostridium* e *Salmonella*.

As salmonelas estão amplamente difundidas na natureza e são capazes de infectar o homem e os animais. As aves acometidas por salmonelas paratíficas podem desenvolver a doença clinicamente ou de forma assintomática, tornando-se fonte em potencial de salmonelose para seres humanos (BARROW, 1993).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da ensilagem ácida de frango, utilizando-se ácido fosfórico e acético, na eliminação de patógenos presentes nas carcaças de frangos.

Material e Métodos

Matéria prima e Produção de silagem

Para o preparo da silagem foram utilizadas carcaças de frangos de corte que vieram a óbito durante o processo de criação em uma granja comercial localizada no município de Cambé-PR. A coleta dos animais mortos foi feita diariamente, logo após o óbito, pelo funcionário da granja e armazenadas em freezer. Posteriormente, as carcaças foram trazidas ao laboratório da Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina para moagem, preparação e produção da silagem.

A ensilagem foi realizada de acordo com as condições experimentais previamente otimizadas por Metodologia de Superfície de Resposta, com delineamento fatorial incompleto 3^3 com três repetições no ponto central (BOX; BEHNKEN, 1960), onde foram avaliados os efeitos de concentração de ácidos, de tempo de armazenamento e número de revolvimentos diários da massa ensilada sobre o pH, teor de proteína, oxidação lipídica e contagem de mesófilos na massa ensilada.

As carcaças inteiras sem evisceração e nem a retirada das penas, foram descongeladas e trituradas em um moedor elétrico de carne, modelo 1970, com peneira de 8mm.

O produto obtido da trituração das carcaças de frango foi misturado de modo a obter uma massa homogênea e então, dividida em 12 lotes contendo 1 kg cada e acondicionadas em silos de polietileno. Foi adicionado aos silos ácido fosfórico (2%), ácido acético (3%) antioxidante BHT (Hidroxibutilanisol) (0,1%) e antifúngico (ácido sórbico) (0,1%).

O experimento teve duração de 45 dias. A silagem foi revolvida uma vez ao dia com auxílio de um bastão. O pH e a temperatura foram aferidos 2 (duas) vezes ao dia ao longo do experimento. Os silos foram mantidos à temperatura ambiente e a massa ensilada apresentou temperaturas média mínima e máxima de 17,7°C e 30,9°C, respectivamente.

Inóculo

Para o preparo do inóculo, a cultura de *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 foi diluída em TSB (caldo tripticase de soja) até 10^8 UFC/ml utilizando a escala 0,5 de Mac

Farland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml) e rediluídas a 10^5 , 10^6 , 10^7 UFC/ml. Para confirmação da concentração, os inóculos foram semeados em agar PCA (padrão para contagem).

As diferentes concentrações de inóculo foram adicionadas a 1 quilo de silagem, compondo os tratamentos experimentais, sendo eles: T0 sem *Salmonella*; T1 com 10^2 UFC/g; T2 com 10^3 UFC/g e T3 com 10^4 UFC/g. Foram realizadas 3 repetições dos ensaio, sendo cada repetição analisada como uma amostra individual.

Análises químicas

Nos laboratórios de Nutrição animal do Departamento de Zootecnia/UEL, foram realizadas as determinações de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), ao final de 45 dias de ensilagem, conforme AOAC (1990). Para determinação de pH da silagem utilizou-se o potenciômetro digital, marca Hanna. As aferições foram feitas diariamente, durante todo o período de armazenamento da silagem.

Análises microbiológicas

No laboratório de Inspeção de produtos de Origem Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/UEL foram realizadas as análises microbiológicas de número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C e a detecção de *Salmonella*. Estas análises foram realizadas em amostras retiradas no momento da moagem das carcaças, considerado dia 0 (zero) antes da adição dos ácidos, e após 3, 10, 20 e 30 dias de ensilagem. As metodologias utilizadas foram aquelas descritas na Instrução Normativa Nº 62 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

Número mais provável de coliformes a 30 e 45°C

Prova presuntiva

Utilizando-se as diluições previamente preparadas, distribuiu-se 10 mL da diluição 10^{-1} em série de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração dupla (corresponde à diluição 10^0). A seguir, inoculou-se 1 mL da diluição 10^{-1} em uma série de 3

tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração simples. As outras diluições escolhidas também foram inoculadas em uma série de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração simples até as diluições decimais de 10^{-6} . Todos os tubos foram levados à incubação a 36°C por 24 a 48 horas.

A leitura foi realizada após 24 horas de incubação e repetida com 48 horas quando existiam tubos negativos. Considerou-se suspeito de coliformes os tubos que apresentavam turvação do meio e presença de gás no tubo de Durhan.

Prova confirmativa

Coliformes 30°C

As amostras dos tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio considerado positivos foram repicados para tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% de lactose e incubados a 36°C por 24 a 48 horas. A presença de coliformes a 30°C foi confirmada pela formação de gás nos tubos de Durhan. Para o cálculo do NMP/g (número mais provável) de coliformes, utilizou-se a Tabela do Anexo III (Procedimentos Básicos de Contagem), incluída na IN n° 62 (MAPA, 2003).

Coliformes a 45°C

As amostras dos tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio considerado positivos foram repicados para tubos contendo caldo EC e incubados em banho maria a 45°C por 24 a 48 horas. A presença de coliformes a 45°C foi confirmada pela formação de gás nos tubos de Durhan. Para o cálculo do NMP/g (número mais provável) de coliformes, utilizou-se a Tabela do Anexo III (Procedimentos Básicos de Contagem), incluída na IN n° 62 (MAPA, 2003).

Detecção de Salmonella spp

Foram coletadas amostras da matéria prima antes do experimento e após 3, 10, 20 e 30 dias de experimentação. Uma amostra de 25g de cada repetição/tratamento foi coletada e adicionada à 225 mL de solução salina peptonada 1% tamponada. Em seguida, as

amostras foram homogeneizadas em *stomacher* e incubada a 36°C por 20h, o que corresponde à fase de pré-enriquecimento.

Após a fase de pré-enriquecimento, 0,1 mL da cultura em solução salina peptonada 1% foi transferida para tubos com 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) e, simultaneamente, 1 mL foi transferido para tubos com 10 mL de caldo selenito cistina (SC), permanecendo incubado por 24h a 41°C.

A partir dos caldos RV e SC foram realizadas estrias em placas com ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD), que foram incubadas a 36°C por 24h, observando-se a presença de colônias típicas de *Salmonella*.

Em ágar BPLS, as colônias, quando presentes, apresentam-se incolores ou de cor rosada, entre translúcidas a ligeiramente opacas. Quando rodeadas por microrganismos fermentadores de lactose, podem apresentar-se de cor verde-amarelada. Em ágar XLD as colônias apresentam-se de cor rosada, com ou sem centro preto. Cepas fortemente produtoras de H₂S podem produzir colônias com centro preto grande e brilhante ou mesmo inteiramente pretas (MAPA, 2003).

Quando os resultados indicaram presença de *Salmonella*, foram realizadas colorações de Gram, em pelo menos três colônias típicas. A confirmação foi verificada pela visualização de bacilos gram negativos.

O resultado de cada análise foi expresso como ausência ou presença de *Salmonella* spp. em 25 gramas de silagem.

Análises estatísticas

As médias das análises químicas e microbiológicas da silagem de frango com diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*) foram submetidas à análise de variância ANOVA (P<0,05). Quanto aos resultados de coliformes, em que o NMP foi <0,3 adotou-se o valor 0,3. Para a realização das análises estatísticas utilizou-se o programa STATISTICA 7.0 (STATSOFT, 2004).

Resultados e Discussão

A contaminação da matéria prima moída foi alta. Verificaram-se valores acima de 10^6 NMP/g para coliformes a 30 e a 45°C, e positivo para a presença de *Salmonella*. A ocorrência de salmonelas em granjas comerciais é muito comum, sendo isoladas de farinhas da graxaria de abatedouro, água de escalda e resfriamento, carcaça de frangos, camas e rações de frangos e matrizes (SILVA; DUARTE, 2002). Apesar do tratamento T0 não ter recebido inóculo com *Salmonella*, a sua presença foi confirmada por meio da análise microbiológica da matéria prima.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB) e matéria mineral (MM) da silagem ácida de frango que continham as diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*). Não houve diferença ($P>0,05$) nos teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta e matéria mineral das silagens contendo diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*).

Tabela 1 – Análises químicas da silagem de carcaças de frango com diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*).

Variáveis (%)	Concentração de inóculo				DP
	0 UFC/g	10^2 UFC/g	10^3 UFC/g	10^4 UFC/g	
Matéria seca	34,4	34,7	34,3	33,8	0,71
Proteína*	48,7	47,3	47,5	46,8	1,32
Extrato Etéreo*	27,5	27,6	26,0	27,1	0,9
Matéria Mineral*	13,6	13,4	13,4	12,3	0,68

*base seca; DP = Desvio Padrão.

Os valores encontrados de matéria seca (33,8 a 34,4) foram próximos aos observados por Kherrati et al. (1998) (35 a 37,3%) em silagem biológica de vísceras, miúdos, penas, cabeça e pés de frango (resíduo de abatedouro) preparadas com adição de 15% de melaço. Boscolo et al. (2010) encontraram valores de 27 a 32,5% de MS em silagem ácida de resíduo de filetagem de tilápia. Cai, Pancorbo e Barnhart (1994) trabalhando com silagem biológica de carcaças de frango com adição de melaço ou levedura de cerveja encontraram teores de matéria seca próximos de 30%. Vidotti e Gonçalves (2006) trabalhando com

silagens ácidas e biológicas de resíduo de peixe encontraram valores de 37,5 a 43% de matéria seca.

Os valores de matéria seca podem variar de acordo com o volume de ácido utilizado, além da metodologia e adição de farinhas na preparação da silagem.

O valor médio de proteína bruta encontrado para silagem de frango foi de 47,5%. Este resultado foi semelhante ao observado por Kherrati et al. (1998) em silagem biológica de resíduos de abatedouro de frango. Por outro lado, Cai, Pancorbo e Barnhart (1994) encontraram 36% proteína em silagem biológica de carcaças de frango com adição de melão ou levedura de cerveja.

Os valores médios de extrato etéreo foram de 27%. A grande quantidade de gordura observada se justifica pelo fato de se ter utilizado frango inteiro com vísceras e pele que são ricas em gorduras. A porcentagem de gordura pode variar também com a idade do frango utilizado, uma vez que animais próximo ao abate acumulam mais gordura. Segundo Leenstra (1986), a composição da carcaça pode ser modificada pela idade, sexo, manuseio e manipulação da dieta. Cai, Pancorbo e Barnhart (1994) utilizando carcaças de animais de 8kg, observaram valores de 35% de extrato etéreo na matéria seca, justificando o maior valor de gordura. Fagbenro e Fasakin (1996) observaram valores de 38,5% de extrato etéreo em silagem de vísceras de frango.

Os valores médios observados de 13,1% de matéria mineral são considerados altos devido à presença dos ossos e penas na silagem ácida de frango. Kherrati et al. (1998) encontraram valores próximos a 10% de matéria mineral em silagem biológica de resíduos de abatedouro de frango. Dependendo do resíduo, os valores podem aumentar ou diminuir. Arruda et al. (2006) encontraram 19,23% de matéria mineral em silagem ácida de resíduos de tilápia, entretanto, Oliveira et al. (2006) encontraram 29,3% de matéria mineral em silagem ácida de carcaças de tilápia (sem nadadeiras, sem cabeça e vísceras).

A temperatura da silagem foi de $26,6^{\circ}\text{C} \pm 2,6$ no decorrer do experimento. O pH da silagem de frango diminuiu de 6,5, na massa moída, para 4,2 em média no final do experimento. Isto também foi observado por Murphy e Silbert (1992). Com adição de ácidos nos primeiros dias, há uma acentuada diminuição do pH, que posteriormente sobe na primeira semana e tende a permanecer próximo de 4 até o final do experimento como mostra a Figura 1. Tatterson (1982), preconizou que o pH da silagem permaneça próximo de 4 para inibição de bactérias como *Salmonella* e *Clostridium botulinum*. Shaw, Narasimha Rao e Mahendrakar

(1998), relataram valores de $\text{pH} \leq 4,2$, em 6 dias de estocagem de silagem de intestinos de frango.

Os resultados das análises microbiológicas da silagem de carcaças de frango estão na Tabela 2. Segundo as análises microbiológicas realizadas, verificou-se que não houve diferença ($P > 0,05$) na contagem de coliformes a 30 e 45°C. Observa-se que no terceiro dia de armazenamento da silagem houve uma diminuição grande no número de coliformes. Os tratamentos T0 e T2 apresentaram 0,5 e 0,37 NMP/g, respectivamente, e nos demais, o valor foi inferior a 0,3 NMP/g. Quanto às análises sobre a presença ou ausência de *Salmonella*, observou-se completa eliminação deste patógeno a partir do terceiro dia de ensilagem. Resultados semelhantes foram observados por Kherrati et al. (1998) em silagem biológica de resíduos de frango (miúdos, vísceras, penas, cabeça e pés), sendo que após 10 dias de ensilagem, o pH da silagem estava próximo de 4,2 e as análises microbiológicas mostraram redução de coliformes a 30 e 45°C de 10^6 UFC/g para 1UFC/g, e ausência de *Salmonella*. Em silagem de resíduo de peixes, com pH próximo de 4, também foram observados inibição do crescimento microbiano tendo redução de coliformes 30 e 45°C para menos de 0,3 UFC/g e ausência de *Salmonella* (AHAMED; MAHENDRAKAR, 1996; BEERLI et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2006; BOSCOLO et al., 2010).

Figura 1 – Valores de pH da silagem ácida de frango com diferentes concentrações de inóculo bacteriano (*Salmonella*).

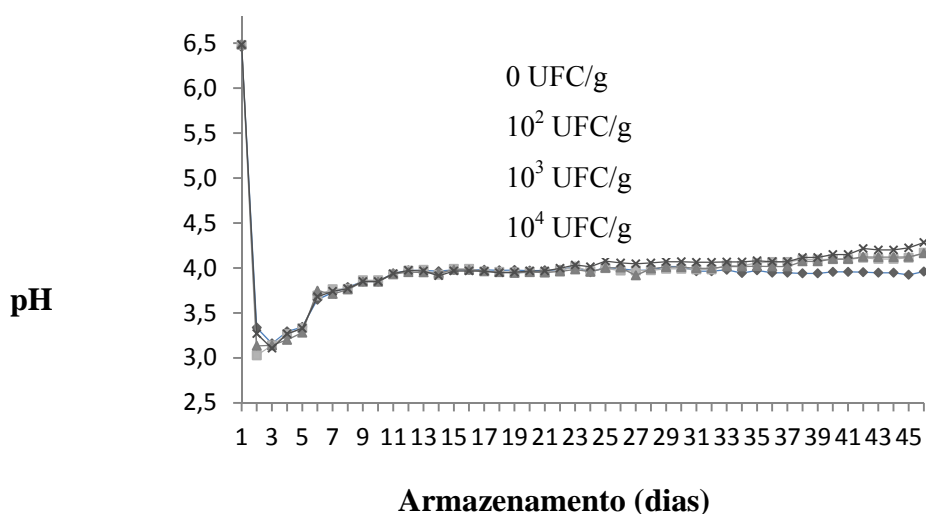


Tabela 2 – Perfil microbiano da silagem ácida de carcaças de frango com diferentes concentrações de inóculo de *Salmonella* em diferentes tempos de armazenamento.

	Dias	Concentração de inóculo			
		0 UFC/g	10 ² UFC/g	10 ³ UFC/g	10 ⁴ UFC/g
Coliformes a 30°C (NMP/g)	3	0,5	<0,3	0,4	<0,3
	20	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
	30	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
	45	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Coliformes a 45°C (NMP/g)	3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
	20	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
	30	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
	45	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
<i>Salmonella</i>	3	ausente	ausente	ausente	ausente
	20	ausente	ausente	ausente	ausente
	30	ausente	ausente	ausente	ausente
	45	ausente	ausente	ausente	ausente

NMP/g = Número mais provável.

Conclusão

O processo de ensilagem com 2% de ácido fosfórico e 3% de ácido acético atinge a faixa de pH preconizada para a silagem de material biológico e promove a inibição microbiana nos desafios propostos pela contaminação provocada com *Salmonella* (10², 10³ e 10⁴ UFC/g) a partir do terceiro dia de armazenamento da silagem.

A silagem de carcaças de frango obtida utilizando-se 2% de ácido fosfórico e 3% de ácido acético no processo de ensilagem é um produto seguro para ser utilizado na alimentação animal.

Referências Bibliográficas

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists - Official Methods of Analysis**. Edited by Kenneth Helrich. 15 ed. Arlington, Virgínia. v. 1, 1990a. 684p.

_____. **Association of Official Analytical Chemists - Official Methods of Analysis**. Edited by Kenneth Helrich. 15 ed. Arlington, Virginia. v. 2, 685-1298p. 1990b.

ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. Planejamento de aviários para criação de frangos de corte. **Embrapa Suínos e Aves**, CT 262, p. 1–4, Novembro, 2000. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cot262.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2011.

AHAMED, J.; MAHENDRAKAR, N. S. Chemical and microbial changes in fish viscera during fermentation ensiling at different temperatures. **Bioresource Technology**, v. 59, n. 1 p. 45-46, 1996.

BARROW, P. A. *Salmonella* - present, past and future. **Avian Pathology**, v. 22, n. 4 p. 651-669, 1993.

BEERLI, E. L.; BEERLI, K. M. C.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 195-198, 2004.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Brasília, 10 jan. 2001.

_____. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1.

CAI, T.; PANCORBO, O. C. Stabilization of poultry processing by-products and waste and poultry carcasses through lactic acid fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 15-25, 1994.

CAI, T.; PANCORBO, O. C.; BARNHART, H. M.; SANDER, J. E.; MERKA, W. C. Chemical and microbiological characteristics of poultry processing by-products, waste, and poultry carcasses during lactic acid fermentation, **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 49-60, 1994.

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

KHERRATI, B.; FAID, M.; ELYACHIOUI, M.; WAHMANE, A. Process for recycling slaughterhouses waste and by-products by fermentation. **Bioresource Technology**, v. 63, n. 1, p. 75-79, 1998.

LEENSTRA, F. R. Effect of age, sex, genotype and environment on fat deposition in broiler chickens – a review. **World's Poultry Science Journal**, Beekbergen, v. 42, n. 1, p. 12-25, 1986.

MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R. Effect of level of acidification by phosphoric acid, storage temperature, and length of storage on the chemical and biological stability of ground poultry mortality carcasses. **Poultry Science**, v. 80, n. 8, p. 1144-1153, 2001.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; PIMENTE, C. J.; OLIVEIRA, M. M. et al. Silagem de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com ácido fórmico – Análise bromatológica, físico-química e miológica. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1218-1223, 2006.

SHAW, D. M.; NARASIMHA RAO, N. D.; MAHENDRAKAR, N. S. Rapid fermentation for ensiling of poultry intestines. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p. 247-249, 1998.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. **Salmonella Enteritidis em Aves**: Retrospectiva no Brasil. Rev. Bras. Cienc. Avic. v. 4, n. 2, p. 85-100, 2002.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA** (data analysis software system), version 7. 2004.

TATTERSON, I. N. Fish silage preparation, properties and uses. **Animal Feed Science and Technology**, v. 7, n. 4, p. 153-159, 1982.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de pesca – APTA-SAA**, out, 2006. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

Artigo 3

Silagem Ácida de Carcaças de Frango na Alimentação de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de silagem ácida de carcaças de frangos na alimentação de tilápia-do-nilo (*oreochromis niloticus*). A silagem foi preparada utilizando-se carcaças de frango inteiras sem evisceração e com penas pela adição de ácido fosfórico (2%), ácido acético (3%), antioxidante bht (hidroxibutilanisol) (0,1%) e antifúngico (ácido sórbico) (0,1%). A massa ensilada foi revolvida uma vez ao dia e permaneceu armazenada por 30 dias sendo monitorada a temperatura e ph diariamente. A silagem foi incluída em 10, 20 e 30% na formulação das rações (com base seca) de tilápia do nilo para avaliação do desempenho produtivo. Foram utilizados 120 peixes com peso médio inicial de 146,8 gramas, distribuídos em 12 caixas de 500l, em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições por tratamento. As rações experimentais foram calculadas para serem isoprotéicas (35% de proteína bruta) e isocalóricas (4600 kcal/kg) com a inclusão de 0, 10, 20 e 30% de silagem de frango (em base seca). Foram avaliadas as taxas de sobrevivência, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, rendimento de filé e porcentagem de vísceras. A qualidade da silagem foi avaliada por meio de análises microbiológicas. A silagem após o tratamento ácido estava isenta de microrganismos patogênicos, com contagem de coliformes a 30 e 45°C abaixo de 0,3nmp/g e ausência de *salmonella*. As análises limnológicas mostraram boa qualidade da água com valores atendendo aos requeridos por tilápia do nilo. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) no desempenho produtivo das tilápias, apresentando ganho de peso entre de 236,6 a 263,1 gramas, conversão alimentar aparente de 1,3 a 1,5, taxa de crescimento específico (tce) de 2,8 a 3,1, rendimento de filé de 34,28 a 35, 36%, e porcentagem de vísceras de 9,8 a 10,9 %. Conclui-se que a inclusão de até 30% de silagem ácida de carcaças de frango, na formulação de rações para engorda de tilápia não apresenta prejuízos ao desempenho zootécnico da mesma.

Palavras-chave: Conversão alimentar. Desempenho produtivo. Ganho de peso. Peixes.

Acid-Preserved Broiler Carcasses Silage to Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Feeding

Abstract: The objective of this study was to evaluate the use of poultry carcasses acid silage for Nile tilapia (*oreochromis niloticus*) feeding. The silage was prepared using whole poultry carcasses without evisceration with feathers and by addition of phosphoric acid (2%), acetic acid (3%), antioxidant bht (butylated hydroxytoluene) (0.1%) and antifungal (sorbic acid) (0.1%). The ensiled mass was turned once a day and remained stored for 30 days, with daily monitoring of temperature and pH. The silage was included in 10, 20 and 30% in the diets (dry matter) of Nile tilapia to evaluate the productive performance. 120 fish, with initial average weight of 146.8 grams, were divided into 12 boxes of 500l in a completely randomized design with four treatments and three repetitions per treatment. The experimental diets were formulated to be isonitrogenous (35% crude protein) and isocaloric (4600kcal/kg) with the inclusion of 0, 10, 20 and 30% poultry carcasses acid silage (dry basis). Survival rate, weight gain, feed conversion, specific growth rate, yield and viscera percentage were evaluated. The

silage quality was evaluated by microbiological analysis. The silage after acid treatment was free of pathogenic microorganisms, with counts of coliforms at 30 and 45°C below 0.3nmp/g, and free of salmonella. Limnological analyses showed good water quality meeting the required values for Nile tilapia. There was no significant difference ($p > 0.05$) on growth performance of tilapia, with weight gain between 236.6 to 263.1 grams, feed conversion ratio from 1.3 to 1.5, specific growth rate from 2.8 to 3.1, fillet yield from 34.28 to 35.36%, and viscera percentage from 9.8 to 10.9%. It is concluded that the inclusion up to 30% broiler carcasses acid silage in formulating rations for Nile tilapia has no prejudice to the productive performance of animals.

Keywords: Feed conversion. Productive performance. Weight gain. Fish

Introdução

Grande parte dos resíduos da indústria de alimentos é descartada diariamente, provocando impactos ambientais negativos, acarretando problemas sanitários. Esses resíduos não aproveitados constituem, muitas vezes, em fonte de proteína que poderia ser utilizado na nutrição animal. A demanda de ração para os diferentes sistemas de produção tem aumentado constantemente, principalmente para animais de criação, tais como aves e peixes (KHERRATI, 1998).

Existem muitos resíduos de origem biológica com potencial para serem aproveitados e incorporados na alimentação animal, tais como as carcaças de frango de corte que morrem durante o processo de criação. Esse potencial é baseado no montante de descarte ainda na granja, pois segundo Abreu e Abreu (2000), no processo de criação de frangos de corte, a taxa de mortalidade pode atingir até 5% do plantel. Isto representa uma quantidade significativa de resíduo biológico que poderia ser aproveitado como fonte de proteína. O descarte das carcaças destas aves mortas e as sobras de abate (cabeça, pé vísceras, sangue) representam um problema de ordem econômica e ambiental para a indústria (CAI et al., 1994a).

A fermentação láctica pode ser uma alternativa de tratamento das carcaças, transformando-as em nutrientes disponíveis para utilização na alimentação animal. O método de fermentação láctica descrito por Cai et al. (1994b) envolve a moagem da carcaça e a adição de carboidratos e *Lactobacillus* para posterior incubação anaeróbica. O processo fermentativo se desenvolve e ocorre a produção de “silagem”. Esta silagem produzida a partir de resíduo animal apresenta as características de pH entre 4 a 4,5 e o fato dos ácidos orgânicos produzidos no processo serem potencializados pela temperatura, transformam o material

ensilado, antes rico em microrganismo, em um produto livre de patógenos e estável por longo tempo (MURPHY; SILBERT, 1992; CAI et al., 1994a; SHAW et al., 1998).

A silagem também pode ser feita pela adição de ácidos orgânicos associados ou não (fórmico, propiônico, acético, cítrico) e ácidos inorgânicos (sulfúrico, clorídrico, fosfórico) (BATISTA, 1987; VIDOTTI; GONÇALVES, 2006). Fagbenro e Fasakin (1996) utilizaram ácido cítrico e ácido propiônico em silagem de vísceras desengorduradas de aves. Após armazenamento anaeróbico de 30 dias, adicionaram farelo de soja (15%) para reduzir a umidade e facilitar a formulação de ração para *catfish* (*Clarias gariepinus*). Os autores testaram a silagem de vísceras desengorduradas de aves em substituição à farinha de vísceras de frango e não encontraram diferença no desempenho dos peixes, ocasionada pela inclusão de 15 ou 30% na ração (silagem+farelo de soja).

Middleton et al. (2001), relataram que carcaças de pato foram ensiladas com sacarose e resíduo de batata doce, e que esta silagem foi utilizada até 33% na formulação de ração para tilápia em crescimento. Foram feitos testes de taxa de crescimento e palatabilidade da ração comparando a ração comercial pura com ração contendo silagem. Os resultados mostraram que não houve diferença na palatabilidade da ração e nem no crescimento dos peixes. Observaram também que não houve diferença no sabor do filé de tilápia alimentado só com ração comercial ou com ração contendo silagem (MIDDLETON et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi estudar o aproveitamento das carcaças de frangos de corte que morrem durante a sua criação, transformando-as em silagem e verificando os possíveis efeitos de sua inclusão na ração sobre o desempenho produtivo de tilápias.

Material e Métodos

Preparação da silagem ácida

Para o preparo da silagem foram utilizadas carcaças de frangos de corte que vieram a óbito durante o processo de criação em uma granja comercial localizada no município de Cambé-PR. A coleta dos animais mortos foi feita diariamente, logo após o óbito, pelo funcionário da granja e armazenadas em freezer. Posteriormente, as carcaças foram trazidas ao laboratório da Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina para moagem, preparação e produção da silagem.

A ensilagem foi realizada de acordo com as condições experimentais previamente otimizadas por Metodologia de Superfície de Resposta, com delineamento fatorial incompleto 3^3 com três repetições no ponto central (BOX; BEHNKEN, 1960), onde foram avaliados os efeitos de concentração de ácidos, de tempo de armazenamento e número de revolvimentos diários da massa ensilada sobre o pH, teor de proteína, oxidação lipídica e contagem de mesófilos na massa ensilada.

As carcaças inteiras sem evisceração e nem a retirada das penas, foram descongeladas e trituradas em um moedor elétrico de carne, modelo 1970, com peneira de 8mm.

O produto obtido após a trituração foi homogeneizado e acondicionado em silo de polietileno. Em seguida, foi adicionado, ácido fosfórico (2%), ácido acético (3%), antioxidante BHT (Hidroxibutilanisol) (0,1%) e antifúngico (ácido sórbico) (0,1%). A silagem foi revolvida uma vez ao dia e permaneceu armazenada por 30 dias sendo monitorada a temperatura e pH diariamente.

Análises químicas e Delineamento experimental

O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Londrina (UEL), por um período de 86 dias.

Foram utilizados 120 juvenis monossexos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de $147,92 \pm 3,8g$, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 (quatro) tratamentos e três repetições. Os peixes foram alojados em 12 caixas de polietileno com capacidade de 500 litros, recebendo renovação constante de água proveniente de poço artesiano e aeração contínua, sendo que cada caixa de polietileno representou uma unidade experimental com 10 peixes cada.

Os tratamentos (T) compreenderam níveis crescentes de inclusão de silagem de frango nas rações, sendo: T0, T1, T2 e T3 com níveis de 0; 10; 20 e 30% de inclusão de silagem acida, respectivamente, com base na matéria seca (Tabela 1).

Os alimentos foram analisados nos laboratórios de Nutrição animal e de Solos dos Departamentos de Zootecnia e de Agronomia/UEL, respectivamente. Foram realizadas as determinações de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), conforme AOAC (1990) e macroelementos minerais (Ca e P) segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). A análise de energia bruta (EB) foi realizada em

bomba calorimétrica adiabática no laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Maringá. Os resultados das análises bromatológicas das rações estão na Tabela 1.

As rações foram elaboradas para atender as exigências nutricionais da espécie, sendo isoprotéicas (35% de PB na matéria seca) e isoenergéticas (4.600kcal/kg na matéria seca) (Tabela 1). Na elaboração das rações, os ingredientes foram homogeneizados e quando necessário, foi adicionada água para dar liga à massa. Em seguida, a massa foi passada no moedor de carne e secas em estufa de circulação formada por 24h. Após a secagem, o material foi partido em pequenos pedaços formando os *pellets*.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, as 9:00 e 16:00, sendo a quantidade fornecida entre 2 a 3% do peso vivo.

Foi realizada a retirada do sedimento contendo dejetos e resíduo de alimento diariamente por meio de sifonagem. O oxigênio dissolvido e a temperatura foram mensurados diariamente, utilizando-se um oxímetro YSI 55. Os demais parâmetros de qualidade da água, como amônia, nitrito, alcalinidade e pH, foram realizados quinzenalmente conforme recomendação de Sipaúba-Tavares (1994).

Tabela 1 – Composição percentual e química das rações experimentais com inclusão de silagem ácida de frango utilizando ácidos fosfórico (2%) e acético (3%), na base da matéria seca.

Ingrediente (%)	Níveis de inclusão de silagem ácida de carcaça de frango			
	0%	10%	20%	30%
Farelo de soja	34,60	34,90	33,92	25,00
Milho	29,30	24,70	20,30	23,8
Farinha de carne	0,63	1,60	3,00	5,00
Farelo de trigo	4,92	8,00	9,50	3,92
Farinha de vísceras	24,63	13,50	4,00	0,50
Farinha de peixe	5,14	6,52	8,50	11,00
Silagem ácida de frango	0	10,00	20,00	30,00
Premix ¹	0,45	0,45	0,45	0,45
Sal	0,33	0,33	0,33	0,33
TOTAL	100	100	100	100
Matéria seca	93,36	92,66	92,21	91,87
Energia Bruta	4621,73	4702,64	4813,93	4851,71
Proteína bruta	39,06	39,04	39,53	39,31
Extrato etéreo	5,50	6,89	8,86	11,52
Fibra Bruta	2,29	2,64	2,34	1,86
Matéria mineral	8,78	8,77	8,96	10,19
Cálcio	1,91	1,23	1,20	1,62
Fósforo	2,55	2,62	3,48	4,31

¹Premix, níveis de garantia por kg do produto: vitamina A, 2.500.000UI; vitamina D3, 300.000UI; vitamina E, 40.000UI; vitamina K3, 2.260mg; vitamina B1, 2.500mg; vitamina B2, 5.000mg; vitamina B6, 2.500mg; vitamina B12, 7.500mcg; Niacina, 20.000mg; Ácido Fólico, 500mg; Ácido Pantotênico, 12.500mg; Biotina, 150mg; Colina, 200.000mg; vitamina C (protegida), 75.000mg; Metionina, 5%; Lisina, 4%; Selênio, 75,15mg; Iodo, 125mg; Cobalto, 50mg; Ferro, 15.000mg; Cobre, 2.000mg; Manganês, 3.750mg e Zinco, 20.000mg.

Análises microbiológicas

No laboratório de Inspeção de produtos de Origem Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/UEL a qualidade da silagem foi avaliada por meio das análises microbiológicas de enumeração de aeróbios mesófilos, número mais provável de coliformes 30 e 45°C, *Salmonella*, bolores e leveduras.

Estas avaliações foram realizadas em amostras colhidas no momento da moagem das carcaças, considerada dia 0 (zero) antes da adição de ácidos, e em amostras colhidas após 30 dias de ensilagem, exceto para bolores e levedura que foram avaliadas apenas aos 30 dias. As metodologias utilizadas foram as descritas na Instrução Normativa N° 62 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

Avaliação do desempenho

O desempenho produtivo foi avaliado mensalmente mensurando-se: consumo de ração; parâmetros de sobrevivência (%); ganho de peso (GP = peso final-peso inicial); conversão alimentar (CA = consumo de alimento/ganho de peso) e taxa de crescimento específico (TCE, %) = $100 \times [\text{Ln peso final} - \text{Ln peso inicial}] / \text{n}^\circ \text{ de dias}$, onde Ln = logaritmo neperiano).

Para acompanhamento do desempenho e ajuste na ração foram realizadas biometrias mensais precedidas da devida analgesia dos animais por imersão em solução aquosa contendo solução alcoólica de cravo.

Após 86 dias de experimentação, foi realizada a última biometria dos animais e o abate. Em seguida, foi retirado e quantificado o filé para cálculo do rendimento. Esta etapa foi realizada por um profissional qualificado, cedido por um abatedouro da região de Rolândia-PR. Na metodologia empregada, inicialmente, o peixe foi decapitado e eviscerado, removendo-se em seguida, as nadadeiras (dorsal e anal). Retirou-se a pele com alicate especial e procedeu-se a filetagem (filé sem pele), obtendo-se o filé a partir da musculatura dorsal, nas duas laterais do peixe no sentido longitudinal, ao longo de toda a extensão da coluna vertebral e costelas (SOUZA, 2002).

Análises estatísticas

As médias dos parâmetros de desempenho produtivo e as variáveis limnológicas foram submetidas a análise de variância ANOVA ($P < 0,05$). Para realização das análises utilizou-se o programa STATISTICA 7.0 (Statsoft, 2004).

Resultados e Discussão

Avaliação microbiológica

Verificou-se que nas amostras colhidas no momento da moagem das carcaças de frangos, estas apresentaram $3,4 \times 10^7$ UFC/g de mesófilos. Nas análises de coliformes a 30 e 45°C, verificou-se que a contaminação foi maior do que 10^6 NMP/g, e com presença de *Salmonella*. Por outro lado, após 30 dias de armazenamento, as análises da massa

ensilada mostraram uma grande redução microbiana, observando-se os seguintes resultados: $9,8 \times 10^2$ UFC/g de mesófilos e coliformes a 30 e 45°C < 0,3 NMP/g (praticamente ausente); *Salmonella* ausente no material e 2×10^2 UFC/g para contagem de bolores e leveduras. Contaminação inicial semelhante, de $8,3 \times 10^6$ UFC/g de coliformes, foram encontradas por Middleton e Ferket (2001), sendo que quando a silagem foi tratada com ácido fosfórico (4,13; 5,52; 6,9 e 8,28%), houve redução de coliformes a partir do 13º dia em todas as concentrações de ácidos estudadas. Entretanto, a ausência de *Salmonella* foi verificada apenas após 45 dias de armazenamento, no tratamento com 8,28% de ácido fosfórico. Resultados semelhantes, também foram encontrados por Kherrati et al. (1998), trabalhando com fermentação láctica de resíduos de frango, com adição de ácido sulfúrico. Os autores encontraram contaminação inicial da matéria prima, de 10^6 UFC/g de coliformes a 30 e 45°C. Após 10 dias de tratamento, os níveis de contaminação foram reduzidos a menos de 1UFC/g e ausência de *Salmonella*.

Cai et al. (1994a) trabalhando com carcaças de frango, também verificaram alta contaminação inicial (10^6 a 10^8 UFC/g) . Após o tratamento por fermentação láctica o material estava livre de patógenos.

Verificou-se pelos resultados apresentados neste trabalho que a associação de ácido fosfórico e acético mostrou ser efetiva no controle de microrganismos. As análises microbiológicas comprovaram a segurança nutricional da silagem de carcaça de frangos devido à redução drástica de contaminantes.

Avaliação limnológica e do desempenho produtivo

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) dos tratamentos sobre os parâmetros limnológicos. As médias observadas foram: temperatura média = $22,5 \pm 0,4$ °C; oxigênio dissolvido = $4,3 \pm 0,2$ mg/L; nitrito = $0,15 \pm 0,09$ mg/L; amônia = $0,27 \pm 0,08$ mg/L; pH = $6,1 \pm 0,2$; alcalinidade = $51,7 \pm 1,8$ mg/L. Os resultados encontrados das variáveis limnológicas atenderam as recomendações do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005, de acordo com a classe 2, que classifica águas destinadas à criação natural e/ou intensiva (aqüicultura). A temperatura média observada ficou abaixo da faixa de conforto, que para a tilápia é de 27 a 32°C (KUBITZA, 2000), entretanto não houve alteração no desempenho dos animais. Esses mesmos resultados foram observados por Medri et al. (2000) que avaliaram a inclusão de levedura na alimentação de tilápias em temperaturas médias de 22,21°C .

Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) dos níveis crescentes de silagem ácida de frango na ração sobre o desempenho produtivo das tilápias nas condições experimentais avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2 – Desempenho produtivo de tilápias alimentadas com diferentes níveis de inclusão de silagem ácida de carcaça de frango na ração.

Níveis de silagem de frango na ração*	PI ¹	PF ¹	GP ¹	CA ¹	TCE ¹	FILÉ ¹	VÍSCERAS ¹	CR ¹	SB ¹
0%	147,9	411,0	263,1	1,3	3,1	35,4	9,8	3289	96,7
10%	145,1	398,1	253,1	1,4	2,9	35,8	10,2	3417	93,3
20%	146,4	394,6	248,2	1,5	2,9	34,3	10,9	3359	93,3
30%	147,9	384,6	236,6	1,5	2,8	34,3	10,6	3460	100
CV	11,4	14,5	5,88	8,21	5,9	13,7	14,2	2,3	5,4

¹ $P>0,05$; PI - peso inicial (g); PF – peso final (g); GP - ganho de peso (g); CA - conversão alimentar; TCE - taxa de crescimento específico (%); FILÉ - rendimento de filé (%) VISCERAS (%); CR – Consumo de ração (g); SB - Sobrevivência (%) e CV – coeficiente de variação. * base seca

Verificou-se que as rações experimentais peletizadas proporcionaram aos peixes uma boa conversão alimentar e taxa de crescimento específico. Valores de desempenho de tilápias próximos aos verificados neste experimento foram relatados por Abimorad et al. (2009), que trabalharam com tilápias na mesma faixa de peso (aproximadamente 390g). Os peixes foram alimentados com ração a base de silagem de peixe (58%), e foram observados conversão alimentar de 1,72 e taxa de crescimento específico de 1,07.

Os resultados obtidos neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por outros pesquisadores que incluíram silagem de vísceras de frango na alimentação de peixes. Fagbenro e Fasakin (1996) incluíram 15 e 30% de silagem de vísceras de frango, mais farelo de soja em substituição à farinha de vísceras de frango na alimentação de catfish (*Clarias gariepinus*) e observaram que não houve efeito significativo sobre o desempenho dos animais. Middleton et al. (2001) verificaram que a inclusão de até 33% de silagem extrusadas de carcaças de peru com batata doce (ESFPF) na proporção de 60:40, na alimentação de tilápias, não afetaram negativamente o desempenho produtivo.

Moraes et al. (2009) avaliando diferentes rações comerciais para tilápias encontraram peso final de 450g, taxa de crescimento específico acima de 2,66 e conversão alimentar entre 1,34 a 1,59. Entretanto, observaram que a média de temperatura da água foi de 28,4°C. Segundo Kubitzka (2000), as tilápias são peixes tropicais e apresentam conforto

térmico em temperaturas entre 27 e 32°C. Abaixo de 27°C, reduzem o apetite e o crescimento. Além disto, se submetidas a temperaturas abaixo de 20°C reduzem ainda mais o apetite e aumenta o risco de aparecimento de doenças.

Foram encontrados neste trabalho, um rendimento de file variando de 34,28 a 35,82%. Estes valores estão próximos daqueles observados por Souza et al. (2002), que ao avaliarem diferentes técnicas de filetagem em tilápias com peso médio de 360g, encontraram de 33,66 a 36,58% de rendimento de filé.

De acordo com Pinheiro et al. (2006), para rendimento de filé de tilápia são encontrados valores médios de 28,9 a 33,6%. Entretanto, dependendo da técnica empregada e do peso médios dos animais ocorrem variações no rendimento, de 32,09 a 37,14%, em peixes com peso médio entre 395 e 530 g (SOUZA et al., 1998). Segundo Leonhardt et al. (2006), as diferentes linhagens de tilápia também podem interferir no rendimento do filé, e relataram valores de 36,51% a 39,05%.

Na avaliação da porcentagem de vísceras, não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos. Os valores verificados neste trabalho são semelhantes aos encontrados por Souza e Maranhão (2001), que observaram 10,9% de peso de vísceras em tilápias da mesma faixa de peso (300 a 400g). Para tilápias com peso entre 350 a 400g, Silva et al. (2009) encontraram valores de 13,26% de vísceras. Entretanto, o rendimento de filé foi de 34,26%, semelhante ao encontrado no presente trabalho. Valores semelhantes de porcentagem de vísceras também foram encontrados por Santos et al. (2009). Os valores corroboram com os do presente trabalho, excluindo a possibilidade de acúmulo de gordura visceral.

Conclusão

A silagem ácida de carcaças de frango, preparada a partir da associação de ácido fosfórico (2%) e acético (3%), pode ser adicionada em até 30% na formulação de rações para tilápia, sem causar prejuízos ao seu desempenho produtivo.

Referências Bibliográficas

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists - Official Methods of Analysis**. Edited by Kenneth Helrich. 15 ed. Arlington, Virgínia. v. 1, 1990a. 684p.

_____. **Association of Official Analytical Chemists - Official Methods of Analysis**. Edited by Kenneth Helrich. 15 ed. Arlington, Virginia. v. 2, 685-1298p. 1990b.

ABIMORAD, E. G.; STRADA, W. L.; SCHALCH, H. C.; GARCIA, F.; CASTELLANI, D.; MANZATTO, M. R. Silagem de peixe em ração artesanal para tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 519-525, maio 2009.

ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. Planejamento de aviários para criação de frangos de corte. **Embrapa Suínos e Aves**, CT 262, p. 1-4, Novembro, 2000. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cot262.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2011.

BRASIL. 2005. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente: **Resolução 357**, de 17 de março de 2005. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, p. 1-23. disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705>>. Acesso em: 18 ago. 2011.

CAI, T.; PANCORBO, O. Stabilization of poultry processing by-products and waste and poultry carcasses through lactic acid fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 15-25, 1994a.

CAI, T.; PANCORBO, O. C.; BARNHART, H. M.; SANDER, J. E.; MERKA, W. C. Chemical and microbiological characteristics of poultry processing by-products, waste, and poultry carcasses during lactic acid fermentation, **Journal of Applied Poultry Research**, v. 3, n. 1, p. 49-60, 1994b.

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

KHERRATI, B.; FAID M.; ELYACHIOUI, M.; WAHMANE, A. Process for recycling slaughterhouses waste and by-products by fermentation. **Bioresource Technology**, v. 63, n.1, p.75-79, 1998.

KUBITZA, F. Tilápia: **Tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí-SP: F. Kubtiza, 2000, 289p.

LEONHARDT, J. H.; CAETANO-FILHO, M.; FROSSARD, H.; MORENO, A. M. Características morfométricas, rendimento e composição do filé de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, da linhagem tailandesa, local e do cruzamento de ambas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 2, n. 1, p. 125-132, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. D. **Avaliação do estado nutricional das plantas : princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MEDRI, V.; MEDRI, W.; CAETANO-FILHO, M. Growth of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* Fed Diets with Different Levels of Proteins of Yeast. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 3, p. 721-728, 2009.

- MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R. Effect of level of acidification by phosphoric acid, storage temperature, and length of storage on the chemical and biological stability of ground poultry mortality carcasses. **Poultry Science**, v. 80, n. 8, p. 1144-1153, 2001.
- MIDDLETON, T. F.; FERKET, P. R.; BOYD, L. C.; DANIELS, H. V.; GALLAGHER, M. L. An evaluation of co-extruded poultry silage and culled jewel sweet potatoes as a feed ingredient for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). **Aquaculture**, v. 198, n. 3-4, p. 269-280, 2001.
- MORAES, A. M.; SEIFFERT, W. Q.; TAVARES, F.; FRACALLOSSI, D. M. Desempenho zootécnico de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em tanques-rede, com diferentes raças comerciais. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 3, p. 388-395, 2009.
- MURPHY, D. W.; SILBERT, S. A. Preservation of and nutrient recovery from poultry carcasses subjected to lactic acid bacteria fermentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 1, n. 1, p. 66-74, 1992.
- PINHEIRO, L. M. S.; MARTINS, R. T.; PINHEIRO, L. A. S.; PINHEIRO, L. E. L. Rendimento industrial de filetagem da tilápia tailandesa (*Oreochromis* spp.). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 257-262, 2006.
- SANTOS, V. B.; FREITAS, R. T. F.; LOGATO, P. V. R.; FREATO, T. A.; ORFÃO, L. H.; MILLIOTI, L. C. Rendimento do processamento de linhagens de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do peso corporal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 554-562, 2007.
- SHAW, D. M.; NARASIMHA RAO, N. D.; MAHENDRAKAR, N. S. Rapid fermentation for ensiling of poultry intestines. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p. 247-249, 1998.
- SILVA, F. V.; SARMENTO, N. L. A. F.; VIEIRA, J. S.; TESSITORE, A. J. A.; OLIVEIRA, L. L. S.; SARAIVA, E. P. Características morfológicas, rendimentos de carcaça, filé, vísceras e resíduos em tilápias-do-nilo em diferentes faixas de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1407-1412, 2009.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia Aplicada à Aqüicultura**. Boletim Técnico do CAUNESP, n. 1, Jaboticabal: FUNEP, 1994. 70p.
- SOUZA, M. L. R. Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1076-1084, 2002.
- SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F.; Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 897-901, 2001.
- STATSOFT, Inc. **STATISTICA** (data analysis software system), version 7. 2004.
- VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilapia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de Pesca – APTA-SAA**. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia de superfície de resposta mostrou-se eficiente para otimização do processo de obtenção da silagem ácida de carcaças de frango, possibilitando o entendimento das inter-relações das variáveis avaliadas (concentração de ácidos, tempo de armazenamento em dias e número de revolvimento diário) e definindo os seus efeitos.

A silagem ácida de carcaças de frangos mortos, imediatamente coletados, e tratados com ácido fosfórico e acético, mostrou-se segura microbiologicamente. O tratamento ácido eliminou os patógenos presente na matéria prima, transformando o resíduo em um produto alimentar seguro para os animais.

Pode-se incluir até 30% de silagem ácida de carcaças de frango, na formulação de rações para engorda de tilápia sem prejuízos ao desempenho zootécnico da mesma.

ANEXO

ANEXO A

Figura 1 – Carcaças de frangos de corte mortos durante o processo de engorda e armazenados congelados para o preparo da silagem ácida.



ANEXO B

Figura 2 – Moagem das carcaças de frango para o preparo da silagem ácida.



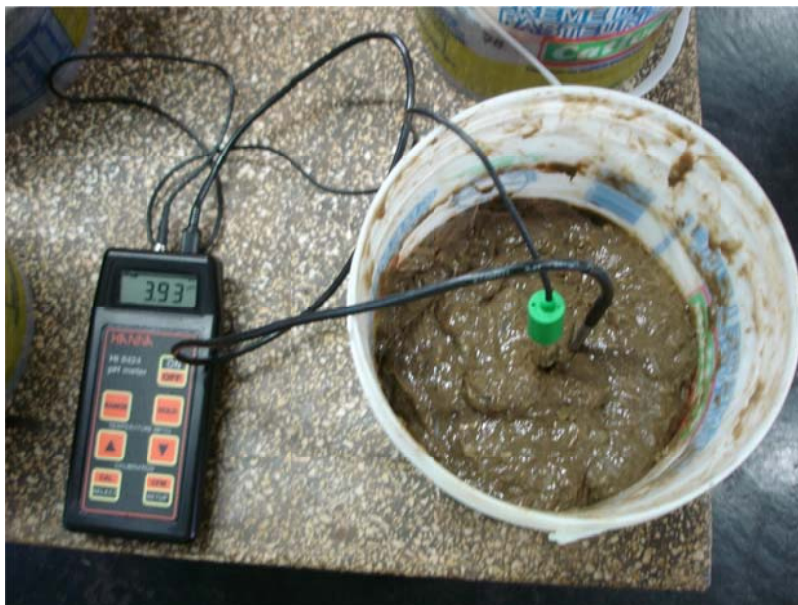
ANEXO C

Figura 3 – Distribuição da carcaça moída em silos de polietileno, conforme os diferentes tratamentos experimentais.



ANEXO D

Figura 4 – Aferição do pH e da temperatura da silagem ácida de carcaças de frango.



ANEXO E

Figura 5 – Preparo das rações experimentais com inclusão de silagem ácida de carcaças de frango.



ANEXO F

Figura 6 – Secagem das rações experimentais em estufa de circulação forçada de ar.



ANEXO G

Figura 7 – Vista geral do experimento de engorda de tilápias-do-Nilo, alimentadas com rações experimentais contendo diferentes níveis de silagem ácida de carcaças de frango.



ANEXO H

Figura 8 – Análgesia das tilápias com solução alcoólica de cravo diluída em água.



ANEXO I

Figura 9 – Retirada do filé das tilápias ao final do experimento de desempenho produtivo.



ANEXO J

Figura 10 – Separação das vísceras das tilápias para pesagem.



ANEXO K

Figura 11 – Tilápias ao final do período de engorda.

