



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

ANDRÉA PEREIRA PINTO

**AVALIAÇÕES QUÍMICAS, NUTRICIONAIS E
MICROBIOLÓGICAS DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE
LARANJA E DE MILHO**

Londrina
2006

ANDRÉA PEREIRA PINTO

**AVALIAÇÕES QUÍMICAS, NUTRICIONAIS E
MICROBIOLÓGICAS DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE
LARANJA E DE MILHO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal, Área de Concentração em Produção Animal

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Y. Mizubuti

Londrina
2006

ANDRÉA PEREIRA PINTO

**AVALIAÇÕES QUÍMICAS, NUTRICIONAIS E
MICROBIOLÓGICAS DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE
LARANJA E DE MILHO**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Angela Cristina Dias Ferreira
Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)
Presidente Prudente – SP
Departamento de Zootecnia

Dr. Willian Gonçalves do Nascimento
Instituto Agrônômico do Paraná/ Paranavaí
Área de Forragicultura e Produção Animal

Profa. Dra. Fernanda Barros Moreira
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Zootecnia

Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Profa. Dra. Ivone Yurika Mizubuti
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Zootecnia
Orientadora

Londrina, 20 de dezembro de 2006.

A DEUS

Que me deu saúde para trilhar o meu caminho e me
presenteou com uma família admirável

AOS MEUS PAIS E FAMILIARES

Que me ampararam e me cobriram de
carinho e dedicação nos momentos
mais difíceis, ajudando-me a superar
todos os obstáculos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Londrina, por proporcionar o curso de Pós-graduação em Ciência Animal na área de concentração de Produção Animal;

Ao Departamento de Zootecnia, pelas condições oferecidas para a realização do curso;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado concedida;

À Prof^a. Dr^a. Ivone Yurika Mizubuti, pela orientação, dedicação, competência, apoio, pelos ensinamentos, por todo carinho e paciência dispensada durante essa longa caminhada;

Ao Prof. Dr. Edson Luis de Azambuja Ribeiro e Prof. Dr. Marco Antonio da Rocha, pelas sugestões e colaborações nas análises estatísticas;

À Prof^a. Dr^a. Elisa Y. Hirooka, pelos valiosos ensinamentos, ajuda e colaboração e também aos seus estagiários e orientados e à doutoranda Elisabete pelo auxílio nas análises microbiológicas;

Ao Sr. Maurício Ribas Guimarães pelo fornecimento do milho e à Cooperativa agropecuária de Rolândia –COROL e ao Sr. Antonio Ledesma pelo fornecimento do bagaço de laranja;

À técnica de laboratório, Tânia Mara, por toda ajuda e pela amizade durante todos esses anos;

À todos os estagiários e pós-graduandos da Universidade Estadual de Londrina, entre eles, Bruno, César, Fernando, Glênio, Guilherme, Helder, Juliana, Ju Dias, Keila, Kiko, Mara, Marcelo, Márcio, Marcos, Michele, Rafael, Regininha, Rinaldo, Romerson, Rubens, Saulo, Silvia, Teresa, Tiago Casimiro, Tiago Stella, Valdecir, e todos que esqueci de citar, não por terem menos importância, mas porque foram muitos os que me auxiliaram nos momentos em que precisei, e sem os quais não seria possível a realização deste trabalho, guardarei para o resto da minha vida a lição de vida de união, companheirismo, colaboração e amizade.

Aos funcionários da Fazenda Escola por toda a atenção e ajuda durante todos esses anos;

À Universidade Estadual de Maringá, aos técnicos, funcionários, pós-graduandos e estagiários da Fazenda Escola, Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal e Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia, em especial à Doutoranda Daniele Cristina da Silva, no auxílio durante a determinação da DIV;

À Maria Celina Jorge Leme e as técnicas do laboratório de Nutrição Animal da Estação Experimental de Ibiporã do Instituto Agrônômico do Paraná, por estarem sempre à disposição todas as vezes que necessitei;

Aos colegas e amigos do Iapar de Paranaíba, que apesar de me conhecerem a pouco tempo, me acolheram com muito carinho, em especial ao Abrahão, Ana, Jair, José Marcos, Marco Aurélio e Willian pelas dicas, ajuda, apoio, compreensão e incentivo nessa etapa final.

Aos meus pais, Vicente e Escilia, que foram durante todos os momentos, principalmente os mais difíceis, meu alicerce, me apoiando e acreditando, mesmo quando eu mesma deixava de acreditar;

Às minhas irmãs, Márcia e Kátia, por todo carinho, apoio, amor e compreensão;

Ao meu primo Fábio e sua esposa Márcia e todos os meus amigos pelo incentivo, carinho e amizade;

À minha melhor amiga, Verônica Andréa Furukawa e minha tia Gizélia da Cruz Galante por todo carinho, apoio e amizade durante todos esses anos;

Ao meu namorado Ronald pelo carinho, apoio e atenção nessa etapa final;

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o meu aprendizado e para que fosse possível a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Andréa Pereira Pinto, filha de Maria Escília Pereira Pinto e Manoel Vicente Pinto, nasceu em São Paulo – SP, em 18 de agosto de 1971.

Ingressou no curso de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual de Londrina, em janeiro de 1996, graduando-se em dezembro de 2000.

Durante o curso de graduação realizou estágios na área de nutrição animal sendo bolsista do Programa PIBIC/CNPq/UEL.

Ingressou no curso de Mestrado em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal, da Universidade Estadual de Londrina, em janeiro de 2001, defendendo dissertação em agosto de 2002.

Ingressou no curso de Doutorado em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal, da Universidade Estadual de Londrina, em janeiro de 2003, defendendo tese em dezembro de 2006.

Foi bolsista da CAPES durante todo o curso de mestrado e doutorado.

Atualmente é contratada temporária do Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR desde julho de 2006 como pesquisadora na área de Nutrição Animal estando lotada em Paranavaí – PR.

PINTO, Andréa Pereira. **Avaliações químicas, nutricionais e microbiológicas das silagens de bagaço de laranja e de milho.** 2006. 113f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar as características químicas, nutricionais e microbiológicas, os parâmetros de fermentação e a estabilidade aeróbica das silagens de bagaço de laranja (SBL) e de milho (SM). Foram confeccionados minisilos experimentais de bagaço de laranja e de milho. No primeiro experimento, analisou-se os diferentes tempos de abertura dos silos. Determinou-se: pH, ácido láctico (AL), nitrogênio amoniacal (NNH_3), capacidade tampão (CATP), matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas (CIN) para cálculo de matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), cálcio e digestibilidade *in vitro* (DIV). O teor médio de MS da SBL foi de 26,53%. A proteína bruta não diferiu entre as SBL e SM (7,14 e 7,34%, respectivamente). A SBL apresentou maior capacidade tampão do que a silagem de milho (média respectiva de 72,53 e 47,75 n.e.mg/100g MS) e maior produção de ácido láctico (média respectiva de 4,40 e 2,94%). Os teores de MS, PB, NNH_3 e CHOT da silagem de bagaço de laranja não foram influenciados pelos tempos de abertura dos silos. A média de pH das SBL e SM foram respectivamente 3,44 e 3,84. A silagem de bagaço de laranja apresentou maior DIVMS (96,34%), DIVPB (96,87%) e DIVFDN (97,75%), quando comparado à silagem de milho (69,28%, 62,38% e 76,69% respectivamente). No segundo experimento foram feitas as mesmas determinações, alterando-se os tratamentos, onde avaliou-se o uso ou não de inoculante microbiano e/ou enzimático e ácido acético e propiônico. A SBL apresentou maior teor de MS para a silagem controle (26,04%) e a SM para o tratamento com inoculante enzimático (36,23%). A proteína bruta da silagem de bagaço de laranja (7,38%) diferiu da silagem de milho (7,20%), sendo que o teor de NNH_3 em porcentagem do nitrogênio total, foi maior para a SBL (5,35%). As silagens apresentaram pH variando de 3,45 a 3,77. A SBL apresentou maior capacidade tampão (73,82 a 80,39 n.e.mg HCl/100g MS) e maior teor de ácido láctico (4,24 a 5,82%) do que a SM (42,43 a 50,92 n.e.mg HCl/100g MS e 1,97 a 2,53%, respectivamente). A SBL apresentou maior digestibilidade *in vitro* da MS, parede celular e PB do que a silagem de milho, em todos os tratamentos, havendo efeito dos aditivos somente na digestibilidade da silagem de milho. No terceiro experimento avaliou-se a estabilidade aeróbica, contagem microbiana e a presença de patulina e fumonisina, utilizando-se os mesmos inoculantes. O pico de temperatura diferiu entre as SBL e SM em todos os tratamentos, exceto para as silagens com inoculante enzimático. Nos demais tratamentos, a SM apresentou menor pico de temperatura (31,2 a 34,7°C) e maior tempo para atingir o pico de temperatura (99 a 114h). A SBL com inoculante enzimático demorou mais tempo para atingir o pico de temperatura (104h), apresentando melhor estabilidade aeróbica (65h). A SBL tratada com aditivo microbiano/enzimático, que obteve menor estabilidade aeróbica (43h), apresentou maior média de contagem de leveduras (3,76 log UFC/g). A SBL sem inoculante apresentou menor contagem de leveduras durante as 96h de exposição ao ar. De maneira geral, a SBL apresentou médias menores do que a SM para contagem de leveduras em todos os tratamentos. Não foi detectado presença de fungos e micotoxinas. No quarto experimento, avaliou-se as silagens com diferentes aditivos protéicos, realizando-se as mesmas determinações do primeiro experimento. Os aditivos protéicos aumentaram ($P < 0,05$) os teores de MS das silagens sendo que a SBL e SM adicionados de farelo de girassol (28,38%) e esterco de poedeira (43,50%) apresentaram os maiores teores de MS, respectivamente. A

matéria orgânica da SBL, com exceção da silagem com uréia, foi superior à SM. O pH das silagens variou de 3,41 a 4,09, sendo que o maior pH observado foi com esterco de poedeira (3,73 e 4,09, respectivamente para SBL e SM). A CATP variou de 66,44 a 90,07 n.e.mg HCl/100g MS para SBL e de 42,43 a 69,43 n.e.mg HCl/100g MS para SM. Os teores de AL nas SBL (4,17 a 5,68%) foram muito superiores ao da SM (1,97 a 3,41%). A SBL apresentou maior digestibilidade *in vitro* da matéria seca, parede celular e proteína bruta quando comparada à SM em todos os tratamentos. No quinto experimento, fez-se as mesmas avaliações do terceiro experimento, nas silagens com diferentes aditivos protéicos. O menor pico de temperatura na SBL foi observado para a silagem com esterco de poedeira (28,93°C), seguido da silagem com farelo de algodão (35,70°C). Na SM o maior e o menor pico de temperatura foi observado, respectivamente, para a silagem com farelo de soja (36,53°C) e com esterco de poedeira (27,03°C). A estabilidade aeróbica não diferiu entre as silagens controle, sendo superior nos outros tratamentos para a SM quando comparada com a SBL, exceto nas silagens com farelo de soja. Na SBL, somente o esterco de poedeira melhorou a estabilidade aeróbica da silagem (84h), e na SM, todos os aditivos, com exceção do farelo de soja, melhoraram a estabilidade aeróbica. A SBL em todos os tratamentos, apresentou menor média de contagem de leveduras quando comparada com a SM. A contagem de bactérias aumentou na SBL com farelo de algodão e com farelo de girassol e na SM com farelo de soja. Não foi detectado presença de fungos nem de micotoxinas. Conclui-se que o bagaço de laranja pode ser bem conservado na forma de silagem sem necessidade do uso de inoculantes ácidos, microbianos e/ou enzimáticos na sua conservação. A silagem de bagaço de laranja apresenta boas características químicas, nutricionais e microbiológicas e bom padrão de fermentação, podendo ser aberta a partir de 10 dias de ensilagem, sendo uma boa alternativa de alimento durante os períodos de escassez de forragens.

Palavras-chaves: Ácido láctico. Aditivos. Bactérias. Capacidade tampão. Digestibilidade *in vitro*. Leveduras.

PINTO, Andréa Pereira. **Chemical, nutritional and microbiological evaluations of orange pulp and corn silages.** 2006. 113f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

ABSTRACT

This work had as objective to evaluate the chemical, nutritional and microbiological characteristics, the fermentation parameters and the aerobic stability of the orange pulp silage (OPS) and corn silage (CS). Experimental mini-silos of orange pulp and corn were prepared. In the first experiment, the different opening times of the silos were analysed. They were determined: pH, lactic acid (LA), ammonia-N ($\text{NH}_3\text{-N}$), buffering capacity (BC), dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), ashes for calculation of organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), total carbohydrates (TC), calcium (Ca) and *in vitro* digestibility (IVD). The DM average of OPS was 26.53%. The crude protein did not differ between OPS and CS (7.14 and 7.34%, respectively). The OPS present higher buffering capacity than the CS (average of 72.53 and 47.75 meq HCl/100g of DM, respectively), and higher lactic acid production (average of 4.40 and 2.94%, respectively). The DM, CP, $\text{NH}_3\text{-N}$ and TC of the orange pulp silage were not influenced by the opening times of the silos. The pH averages of OPS and CS were 3.44 and 3.84, respectively. The orange pulp silage presented higher DMIVD (96.34%), CPIVD (96.87%) and NDFIVD (97.75%), when compared to the corn silage (69.28%, 62.38% and 76.69%, respectively). In the second experiment the same determination were accomplished in the silages with or without microbial and/or enzymatic inoculant and acetic or propionic acid. The OPS presented high DM content for control silage (26.04%) and the CS for treatment with enzymatic inoculant (36.23%). The OPS presented higher crude protein content (7.38%) when compared with CS (7.20%), and the $\text{NH}_3\text{-N}$ was highest for OPS (5.35%). The silages presented pH varying from 3.45 to 3.77. The OPS presented higher buffering capacity averages (73.82 to 80.39 meq HCl/100g of DM) and higher lactic acid average (4.24 to 5.82%) when compared with CS (42.43 to 50.92 meq HCl/100g of DM and 1.97 to 2.53%, respectively). The OPS presented higher DM, cellular wall and CP *in vitro* digestibility when compared with CS in all treatments, having effect of additives only on corn silage digestibility. In the third experiment, aerobic stability, microbial count and patulin and fumonisin presence was evaluated using the same inoculants. The temperature peak differed between OPS and CS in all treatments, except for silage with enzymatic inoculant. In the other treatments, the CS presented the lowest temperature peak (31.2 to 34.7°C) and highest time to reach the temperature peak (99 to 114h). The OPS with enzymatic inoculant delayed more time to reach the temperature peak (104h), presenting better aerobic stability (65h). The OPS with microbial and enzymatic additive, had lowest aerobic stability (43h), and presented higher yeast count average (3.76 log CFU/g). The OPS without inoculant presented lowest yeasts count during 96h of air exposure period. In general way, OPS presented lower averages than CS for yeasts count in all treatments. Presence of molds and mycotoxin was not detected. In the fourth experiment, it was evaluated the silages with different protein additives, the same determination of the first experiment were accomplished. The protein additives increased ($P < 0.05$) the DM averages of the silages, being that the OPS and CS added of sunflower meal (28.38%) and poultry waste (43.50%), presented the highest DM values, respectively. The organic matter of OPS, except for the silage with urea, was superior to CS. The pH of silages varied from 3.41 to 4.09, and the highest pH observed in the two silages was with poultry waste (3.73 and 4.09, respectively for OPS and CS). BC varied from 66.44 to 90.07 meq HCl/100g of DM for OPS and from 42.43

to 69.43 meq HCl/100g of DM for CS. The LA content in OPS (4.17 to 5.68%) were very superior to the CS (1.97 to 3.41%). The orange pulp silage presented higher *in vitro* digestibility of dry matter, cellular wall and crude protein when compared to the corn silage in all treatments. In the fifth experiment, the same determinations of the third experiment were accomplished, in the silages with different protein additives. The lowest temperature peak in the OPS was observed for the silage with poultry waste (28.93°C), followed by silage with cotton seed meal (35.70°C). In the CS the highest and the lowest temperature peak was observed, respectively, for the silage with soybean meal (36.53°C) and poultry waste (27.03°C). The aerobic stability did not differ among the control silages, being superior in the other treatments for CS when compared with OPS, except in the silage with soybean meal. In the OPS, only poultry waste improved the aerobic stability (84h), and in the CS, all additives, except for the soybean meal, improved the aerobic stability. All treatments of orange pulp silage, presented lowest yeasts count averages when compared with corn silage. The bacteria count increased in the OPS with cotton seed meal and sunflower meal and in the CS with soybean meal. Presence of molds and mycotoxin was not detected. It can be concluded that the orange pulp can be conserved in silage form, without need of acid, microbial and/or enzymatic inoculant use. The orange pulp silage presented good chemical, nutritional and microbiological characteristics and good fermentation pattern, being able to be opened starting from 10 days of ensilage, being a good alternative to be used during the periods of food privation.

keywords: Additives. Bacteria. Buffering capacity. *In vitro* digestibility. Lactic acid. Yeasts.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
3 OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL.....	19
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	19
4 ARTIGO 1 – Características químicas, parâmetros de fermentação e digestibilidade <i>in vitro</i> das silagens de bagaço de laranja e de milho em diferentes tempos de abertura dos silos	20
4.1 RESUMO	20
4.2 ABSTRACT	21
4.3 INTRODUÇÃO	22
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.5.1 Características químicas das silagens	25
4.5.2 Parâmetros de fermentação das silagens	29
4.5.3 Digestibilidade <i>in vitro</i> das silagens.....	34
4.6 CONCLUSÕES	36
4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
5 ARTIGO 2 – Efeito de diferentes inoculantes sobre as características químicas, parâmetros de fermentação e digestibilidade <i>in vitro</i> das silagens de bagaço de laranja e de milho	39
5.1 RESUMO	39
5.2 ABSTRACT	40
5.3 INTRODUÇÃO	41
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	42
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.5.1 Características químicas e parâmetros de fermentação das silagens.....	45
5.5.2 Digestibilidade <i>in vitro</i> das silagens.....	51

5.6 CONCLUSÕES	53
5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

6 ARTIGO 3 – Efeito de diferentes inoculantes sobre a estabilidade aeróbica e

contagem microbiana das silagens de bagaço de laranja e de milho	56
6.1 RESUMO	56
6.2 ABSTRACT	57
6.3 INTRODUÇÃO	58
6.4 MATERIAL E MÉTODOS	59
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
6.5.1 Estabilidade aeróbica das silagens	62
6.5.2 Contagem microbiana nas silagens	67
6.6 CONCLUSÕES	72
6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

7 ARTIGO 4 – Características químicas, parâmetros de fermentação e

digestibilidade <i>in vitro</i> das silagens de bagaço de laranja e de milho com	
diferentes aditivos protéicos	75
7.1 RESUMO	75
7.2 ABSTRACT	76
7.3 INTRODUÇÃO	77
7.4 MATERIAL E MÉTODOS	78
7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
7.5.1 Características químicas do bagaço de laranja e do milho nos diferentes	
tratamentos antes da ensilagem	81
7.5.2 Características químicas e parâmetros de fermentação das silagens.....	83
7.5.3 Digestibilidade <i>in vitro</i> das silagens.....	88
7.6 CONCLUSÕES	90
7.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

8 ARTIGO 5 – Avaliação da estabilidade aeróbica e contagem microbiana das

silagens de bagaço de laranja e de milho com diferentes aditivos protéicos.....	94
10.1 RESUMO	94
10.2 ABSTRACT	95

10.3 INTRODUÇÃO	96
10.4 MATERIAL E MÉTODOS	97
10.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
10.5.1 Estabilidade aeróbica das silagens	100
10.5.2 Contagem microbiana nas silagens	104
10.6 CONCLUSÕES	107
10.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
11 CONCLUSÕES GERAIS	110
REFERÊNCIAS.....	111

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira de corte e leite vem procurando reduzir os custos de produção para que os preços de seus produtos se tornem competitivos no cenário mundial. A alimentação dos animais normalmente responde pelo maior custo da produção, portanto, a procura por alimentos que possam reduzir esses custos, tem sido a meta de produtores e pesquisadores.

A utilização do pasto tem sido uma forma de reduzir os custos de produção, entretanto, nos períodos em que os pastos são escassos existe a necessidade de suprir essa carência, e a utilização de subprodutos da indústria tem sido uma opção interessante para minimizar o custo da ração, além de diminuir o problema de contaminação ambiental. Por outro lado, quando se utiliza resíduo das indústrias, vários fatores devem ser considerados, e a pesquisa se torna uma ferramenta imprescindível para gerar e fornecer informações aos produtores e profissionais da área para a correta utilização dos alimentos.

O bagaço de laranja vem sendo utilizado por muitos produtores no estado do Paraná e as informações contidas na literatura ainda são escassas, observando-se muitas variações devido ao tipo de processamento utilizado pela indústria e variedades de laranja. Portanto, são necessários mais pesquisas que forneçam informações a respeito dos seus benefícios em relação a vários aspectos, como aspectos nutricionais, características químicas e microbiológicas, formas de conservação e estocagem, aspectos produtivos como ganho de peso, níveis de utilização na ração, conversão alimentar, consumo, características de carcaça, bem como aspectos econômicos, para que os produtores possam utilizar o bagaço de laranja com maior segurança utilizando como base os dados científicos, podendo com isso melhorar sua eficiência econômica tornando-se competitivo no mercado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As plantas forrageiras, durante as estações do ano, possuem produção irregular gerando escassez de pastagens, principalmente na época do inverno. Portanto, a produção de silagem é um processo muito importante na conservação de plantas forrageiras para suprir a necessidade de alimento nessas épocas (Andriguetto et al, 1981). Normalmente, a silagem mais utilizada para suprir essa carência é a silagem de milho, devido ao seu valor nutritivo (Backes et al, 2001).

Para se obter um sistema econômico para alimentação de ruminantes, a utilização de pastagem, seja em pastejo rotacionado ou contínuo, é o alimento de eleição, entretanto devido à escassez durante o inverno, a busca por novas fontes de alimentos que possam suprir de maneira mais econômica essa carência de pastagens, tem sido freqüente entre os pesquisadores e produtores.

Devido ao elevado custo da alimentação animal que responde por 60 a 70% dos custos de criação animal (Dutra et al, 1997), tem sido estudado o aproveitamento de resíduos da agroindústria na alimentação animal. Este procedimento reduz a contaminação ambiental e os custos da produção animal, com grande perspectiva de sucesso no sistema de produção, uma vez que no Brasil é gerado um grande volume de produção agrícola nas diferentes regiões, originando altas quantidades de resíduos ao longo do ano.

A crescente demanda de alimentos de origem animal pela população, gerando um aumento da produção, com necessidade de torná-la economicamente viável, tem levado produtores e pesquisadores a buscar novas alternativas de alimentação utilizando-se resíduos das indústrias alimentícias.

No entanto, a utilização desses resíduos na alimentação animal depende de vários fatores, tais como: a localização da fonte geradora; o volume de resíduo produzido; as características químico-bromatológicas; a facilidade e o tempo de armazenamento; o custo de transporte; o processamento do resíduo (secagem, moagem, peletização, tratamento químico, etc.); a palatabilidade; a degradabilidade e a digestibilidade do resíduo, entre outros.

Um dos subprodutos que tem sido utilizado é o bagaço de laranja. A laranjeira é nativa da Ásia, tendo sido introduzida nas Américas há 500 anos. Segundo a Abecitrus (2006), os pomares mais produtivos, resultantes de uma citricultura estruturada, estão nas regiões de clima tropical e sub-tropical, sendo que as principais regiões produtoras mundiais de laranja estão localizadas no Brasil (Estado de São Paulo) e nos Estados Unidos

da América (Flórida). No Brasil a exportação de suco concentrado de laranja que na safra de 1990/91 era de 786.345 toneladas, em 2004/05 havia quase duplicado a exportação (1.411.173 toneladas), gerando com isso uma quantidade considerável de bagaço de laranja.

A polpa cítrica peletizada (PCP) possui ótima qualidade nutricional e sua disponibilidade coincide com a entressafra do milho, estimulando sua utilização na alimentação animal (Bruno Filho et al, 2000). Segundo Nussio et al (2000), a polpa de citros peletizada possui de 85-90% do valor energético do milho e de acordo com Monteiro et al (1998), possui uma fração fibrosa de alta digestibilidade e reduzido teor de lignina (1%), possibilitando ampla digestão da celulose e da hemicelulose.

Alguns pesquisadores (Vijchualta et al, 1980; Henrique et al, 1998a; Prado et al, 2000) não observaram diferença significativa no ganho de peso e conversão alimentar de bovinos quando incluíram polpa de citrus peletizada em substituição ao milho na dieta. Entretanto, Henrique et al (1998b) avaliando dietas com 20 e 80% de concentrado (milho grão ou polpa de citros), observaram que nas dietas com baixa proporção de concentrado (20% da matéria seca), o milho poderia ser substituído totalmente pela polpa de citros para bovinos jovens confinados, o mesmo não ocorrendo nas dietas com alta proporção de concentrado (80%), onde a substituição reduziu consideravelmente o consumo de matéria seca e o ganho de peso.

Leme et al (2000) trabalhando com touros Santa Gertrudes (9 meses de idade) testaram dois níveis de concentrado na dieta (20 e 80%) e dois componentes energéticos principais do concentrado (milho ou polpa de citros), observando um ganho médio diário (GMD) maior para animais com a dieta contendo milho e 80% de concentrado (1,413Kg) e um menor GMD para aqueles com polpa de citros e 80% de concentrado (0,746Kg). Para as dietas com 20% de concentrado, não houve diferença significativa no GMD dos animais (1,003Kg e 1,042Kg, respectivamente, para milho e polpa de citros).

De acordo com Nogueira et al (2005), a substituição em até 60% do milho pela polpa de citros nas dietas fornecidas a Nelores resultou em mudanças favoráveis no ambiente ruminal, observado através do padrão de fermentação e do número de protozoários ciliados.

A variedade da laranja, os métodos de processamento utilizados, as condições e o tempo de armazenagem são os principais fatores responsáveis pelas variações observadas nas características químicas e físicas, no valor nutricional, na palatabilidade e na qualidade microbiológica da polpa cítrica seca (PCS) (Mejía & Ferreira, 2000).

Durante o processamento para obtenção da polpa cítrica seca (PCS) adiciona-se de 0,3% a 0,6% de óxido ou hidróxido de cálcio; que além de produzir a secagem dos resíduos cítricos frescos (casca, polpa, bagaço e semente), neutraliza os ácidos orgânicos contidos na fruta até obter um pH próximo a 6,9. A ligação das pectinas ao cálcio origina o pectato de cálcio. A quantidade de óxido ou hidróxido adicionado depende dos teores de pectina a serem neutralizados, os quais por sua vez, estão associados à variedade da laranja. As etapas seguintes consistem basicamente de uma mistura de processos que incluem a desidratação mecânica, secagem a temperaturas entre 100 e 160°C, moagem, peneiramento e, finalmente, sua apresentação sob a forma farelada ou peletizada. O produto obtido contém entre 7 e 11% de umidade (Mejía & Ferreira, 2000).

A polpa cítrica peletizada (PCP) é rica em pectina, um carboidrato altamente degradável no rúmen, que em comparação ao amido, promove um padrão de fermentação ruminal com maior relação acetato: propionato e reduzida produção de ácido láctico, portanto, o fornecimento de PCP que possui fibra de elevada digestibilidade, provavelmente ocasionou maior digestibilidade desse nutriente nas dietas mistas (Menezes Jr. et al, 2000). O uso de polpa cítrica resulta em menor risco de acidose do que os alimentos com alto teor de amido, que induzem o animal a acidose porque favorecem a produção de ácido propiônico no rúmen (Schalch et al, 2001).

O bagaço de laranja costuma ser peletizado antes de ser comercializado, entretanto, a indústria de sucos ainda gera um volume muito grande de bagaço de laranja *in natura* com alto teor de umidade (Cruz et al, 1998). Além disso, devido ao custo de secagem ser elevado, muitas vezes esta tecnologia se torna antieconômica, despertando o interesse das empresas em desenvolver mercados para o bagaço de laranja *in natura*.

A rápida fermentação e posterior degradação do bagaço, ou polpa úmida de laranja, cujo efluente é um dos piores poluentes ambientais (Ashbell, 1992), gerou a necessidade de se desenvolver alternativas de utilização deste subproduto. A polpa cítrica fresca é de difícil manejo e distribuição, além de ser onerosa devido ao transporte e ser um sério disseminador de moscas na propriedade, apodrecendo rapidamente (Gohl, 1973). Portanto, a utilização de óxido ou hidróxido de cálcio para se obter uma polpa cítrica mais seca e a utilização de métodos de armazenamento como a ensilagem, tem sido uma alternativa para a utilização desse produto na alimentação animal.

O processo de ensilagem acarreta profundas modificações na população de microrganismos do material ensilado, resultantes das condições anaeróbias dentro do silo, das alterações na pressão osmótica e no pH da silagem (Schocken-Iturrino et al, 2005). De acordo

com Castro et al (2006), as alterações ocorridas durante os primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação, portanto, se as condições forem apropriadas, as bactérias ácido lácticas acidificam rapidamente o meio, impedindo que os microrganismos indesejáveis sobrevivam, resultando em uma silagem estável com baixo pH, entretanto, se o pH não é reduzido rapidamente, os microrganismos indesejáveis podem competir pelos nutrientes, reduzindo as chances de obtenção de uma silagem estável.

Outro ponto importante no manejo das silagens, segundo Castro et al (2006), está relacionado com o manejo de abertura do silo e fornecimento aos animais, onde ocorre aeração do ambiente que era estritamente anaeróbio e os microrganismos que estavam dormentes na ausência de oxigênio multiplicam-se, resultando na deterioração da silagem, fato observado na prática pelo aumento na temperatura do silo e pelo aparecimento de fungos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as características químicas, nutricionais e microbiológicas e os parâmetros de fermentação das silagens de bagaço de laranja e milho, em diferentes tempos de abertura dos silos e com diferentes inoculantes e fontes protéicas, bem como estudar a estabilidade aeróbica das silagens.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar as características químicas, nutricionais e os parâmetros de fermentação de silagens de bagaço de laranja e de milho em diferentes tempos após o fechamento do silo.
- Avaliar as características químicas e os parâmetros de fermentação; a digestibilidade *in vitro*; a estabilidade aeróbica e o crescimento de bactérias ácido lácticas, fungos e leveduras em silagens de bagaço de laranja e de milho confeccionados com diferentes inoculantes e fontes protéicas, após exposição aeróbica.
- Avaliar a presença de patulina e fumonisina no bagaço de laranja e milho *in natura*.

4. Artigo 1

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE LARANJA E DE MILHO EM DIFERENTES TEMPOS DE ABERTURA DOS SILOS

4.1. RESUMO

Foram preparados minisilos experimentais, com capacidade para 3,6 kg, utilizando-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6, sendo 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tempos de abertura dos silos (T10 = 10 dias, T30 = 30 dias, T50 = 50 dias, T70 = 70 dias, T90 = 90 dias e T110 = 110 dias), com três repetições. Determinaram-se: pH, ácido láctico (AL), nitrogênio amoniacal (NNH₃), capacidade tampão (CATP), matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas (CIN) para cálculo de matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), cálcio e digestibilidade *in vitro* (DIV). O teor médio de MS da silagem de bagaço de laranja (SBL) foi de 26,53%. A proteína bruta não diferiu (P>0,05) entre a SBL e silagem de milho (SM) (7,14 e 7,34%, respectivamente). Os teores de FDN do material *in natura*, bagaço de laranja (32,93%) e milho (62,78%), diminuíram após a ensilagem, para teores médios de 30,52 e 53,76%, respectivamente. Apesar da SBL apresentar maior capacidade tampão do que a silagem de milho (média respectiva de 72,53 e 47,75 n.e.mg/100g MS), houve maior produção de ácido láctico nas SBL (média de 4,40%). Os teores de MS, PB, NNH₃ e CHOT da silagem de bagaço de laranja não foram influenciados pelos tempos de abertura dos silos. A silagem de bagaço de laranja e de milho apresentaram pH de 3,52 e 3,86, respectivamente, com 10 dias de ensilagem. A silagem de milho apresentou baixos teores de ácido láctico (2,11 a 3,89%), com diminuição linear na produção de ácido láctico e aumento da capacidade tampão. A silagem de bagaço de laranja apresentou maior (P<0,05) DIVMS (96,34%), DIVPB (96,87%) e DIVFDN (97,75%), quando comparado à silagem de milho (69,28%, 62,38% e 76,69% respectivamente). Houve influência do tempo de abertura dos silos apenas sobre a DIVMS e DIVPB da silagem de bagaço de laranja. Conclui-se que a silagem de bagaço de laranja apresentou um bom padrão de fermentação quando os teores de MS estavam ao redor de 26%, podendo ser aberta a partir de 10 dias de ensilagem. A SBL possui elevada digestibilidade *in vitro*, sendo uma boa alternativa a ser utilizada durante os períodos de escassez de alimentos.

PALAVRAS CHAVES: ácido láctico, capacidade tampão, composição química, digestibilidade *in vitro*, nitrogênio amoniacal, valor nutricional

CHEMICAL CHARACTERISTICS, FERMENTATION PARAMETERS AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF ORANGE PULP AND CORN SILAGES IN THE DIFFERENT OPENING TIMES OF THE SILOS

4.2. ABSTRACT

Experimental mini-silos, with capacity for 3.6 kg were prepared, in a completely randomized design, distributed in a 2 x 6 factorial arrangement, being two silages (orange pulp and corn) and six time post-filling (T10 = 10 days, T30 = 30 days, T50 = 50 days, T70 = 70 days, T90 = 90 days and T110 = 110 days), with three repetitions. They were determined: pH, lactic acid (LA), ammonia-N (NH₃-N), buffering capacity (BC), dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), ashes for calculation of organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), total carbohydrates (TC), calcium (Ca) and *in vitro* digestibility (IVD). The average DM of orange pulp silage (OPS) was 26.53%. The crude protein did not differ (P>0.05) between OPS and corn silage (CS) (7.14 and 7.34%, respectively). The NDF content of *in natura* orange pulp (32.93%) and corn (62.78%), decreased after the ensilage process, to 30.52 and 53.76%, respectively. In spite OPS to present higher buffering capacity than the corn silage (average of 72.53 and 47.75 meq HCl/100g of DM, respectively), there was highest lactic acid production in OPS (average of 4.40%). The DM, CP, NH₃-N and TC of the orange pulp silage were not influenced by the opening times of the silos. The orange pulp silage and corn silage presented pH with 10 days of ensilage of 3.52 and 3.86, respectively. The corn silage presented low lactic acid averages (2.11 to 3.89%), with linear decrease in the lactic acid production and increase of buffering capacity. The orange pulp silage presented higher (P<0.05) DMIVD (96.34%), CPIVD (96.87%) and NDFIVD (97.75%), when compared to the corn silage (69.28%, 62.38% and 76.69%, respectively). There was influence of the opening times of the silos on DMIVD and CPIVD of the orange pulp silages. It can be concluded that the orange pulp silage presented a good fermentation pattern when it presents DM around 26%, being able to be opened starting from 10 days of ensilage. The orange pulp silage have high *in vitro* digestibility, being a good alternative to be used during the periods of food privation.

KEY WORDS: ammonia-N, buffering capacity, chemical composition, *in vitro* digestibility, lactic acid, nutritional value

4.3. INTRODUÇÃO

A silagem é uma boa forma de conservação de alimentos, podendo ser composta por gramíneas, leguminosas, milho, grãos, cereais integrais, batatas, resíduos da indústria de alimentos e qualquer material que possua um componente de açúcar livre necessário para que ocorra a fermentação (Woolford, 1999).

Freqüentemente utiliza-se silagem de milho e de sorgo na produção animal, entretanto, há necessidade de se estudar a utilização de novos produtos na alimentação, com vistas à redução nos custos de produção. O aproveitamento de resíduos da agroindústria para alimentação animal, tem sido alvo de pesquisas (Ítavo et al, 2000; Rodrigues Neto et al, 2001; Souza et al, 2001; Zeoula et al, 2002, Abrahão, et al, 2006; Correia et al, 2006), entretanto, seu uso depende de vários fatores, tais como: a localização da fonte geradora; o volume de resíduo produzido e o custo de transporte; as características químico-bromatológicas; as características microbiológicas; a facilidade e o tempo de armazenamento; o processamento do resíduo; a palatabilidade; degradabilidade e digestibilidade do resíduo; entre outros.

No estado do Paraná, o incentivo a citricultura resultou no estabelecimento de indústrias de suco nos municípios de Rolândia, Campo Mourão e Paranavaí, absorvendo as produções das micro-regiões adjacentes. O bagaço de laranja com alto teor de umidade não é um material adequado para se conservar na forma de silagem, entretanto, as empresas têm utilizado hidróxido ou óxido de cálcio para facilitar o desprendimento da água, gerando com isso, um bagaço de laranja com maior teor de matéria seca, o que provavelmente deve facilitar a sua conservação na forma de silagem.

A ensilagem tem como objetivo final preservar o valor nutritivo da forragem com o mínimo de perdas possível. Para que isto ocorra há necessidade de ambiente adequado para

proliferação de microrganismos que criam condições adequadas à conservação do material, convertendo carboidratos solúveis em ácidos orgânicos (Pereira & Reis, 2001).

Para obtenção de um produto final de qualidade, devem-se observar todas as etapas do processo de ensilagem, como época ideal de colheita, tamanho adequado da partícula para correta compactação, tempo de enchimento do silo, boa compactação e vedação do silo para evitar infiltração de ar e água. É fundamental durante o processo de conservação que as condições de preservação favoreçam grupos de microrganismos benéficos em detrimento dos demais que alteram as características nutricionais podendo produzir metabólitos tóxicos (Arcuri et al, 2004). Além disso, o silo deve permanecer fechado o tempo necessário para que ocorra o processo de fermentação, com abaixamento do pH a níveis que impeçam o crescimento de microrganismos indesejáveis.

Tendo em vista que as informações sobre a conservação do bagaço de laranja são escassas na literatura, este trabalho teve como objetivo avaliar alguns parâmetros de qualidade das silagens de bagaço de laranja e de milho em diferentes tempos de abertura dos silos.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Metabolismo Animal dos Departamentos de Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina e da Universidade Estadual de Maringá.

As silagens de bagaço de laranja (SBL) e de milho (SM) foram confeccionadas em baldes de polietileno de 16,5 cm de diâmetro x 19 cm de altura, com capacidade para 3,6 kg, que foram imediatamente lacrados. Para ensilagem, o milho (cultivar BRS 4157) foi cortado no estágio de grão farináceo. O bagaço de laranja foi fornecido pela Cooperativa Agropecuária de Rolândia –COROL.

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente ao acaso, distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tempos de abertura dos silos (T10 = 10 dias, T30 = 30 dias, T50 = 50 dias, T70 = 70 dias, T90 = 90 dias e T110 = 110 dias), com três repetições.

A composição química do bagaço de laranja e do milho encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de matéria seca (MS), pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃) (% do N total), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT) e capacidade tampão (CATP) (n.e.mg/100g MS) do bagaço de laranja (BL) e milho (M) antes da ensilagem.

	MS	pH	NNH ₃	MO*	PB*	EE*	Ca*	FDN*	CHOT*	CATP
BL	26,61	4,14	8,24	93,05	7,04	1,25	2,05	32,93	84,77	30,44
M	30,74	4,56	4,52	93,64	7,25	1,89	0,23	62,78	84,49	33,29

* % na MS

As amostras para análises foram retiradas antes da ensilagem e na abertura dos silos.

Para execução das análises no material pré-seco, as amostras frescas foram colocadas em estufa com circulação forçada de ar a $55 \pm 5^\circ\text{C}$ por 48 horas, para que fosse realizada a pré-secagem. Em seguida, todas as amostras experimentais pré-secas foram moídas em moinho de faca tipo “Willye”, de modo que o tamanho das partículas fosse de aproximadamente 1mm.

Foram determinados, na amostra fresca: pH e ácido láctico (AL) conforme Silva & Queiroz (2002), nitrogênio amoniacal (NNH₃) de acordo com Tosi et al (1973), capacidade tampão (CATP) conforme Playne & Mc Donald (1966) e matéria pré-seca (ASA) de acordo com metodologia descrita por AOAC (1990), e na amostra pré-seca: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas (CIN) para cálculo da matéria orgânica (MO) segundo as metodologias descritas por AOAC (1990); fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Goering & Van Soest (1970), carboidratos totais (CHOT) de acordo com Sniffen et al (1992), cálcio de acordo com Silva (1999), e digestibilidade *in vitro* (DIV) conforme

técnica de Tilley & Terry (1963), adaptada ao Rúmen Artificial, desenvolvido pela ANKOM[®], conforme descrito por Holden (1999).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAS (2001), conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + T_j + (S_i \times T_j) + \varepsilon_{ij}$$

sendo: Y_{ij} = Parâmetros de características químicas, fermentação e digestibilidade *in vitro* no tipo de silagem i , na abertura do silo j ;

μ = média geral;

S_i = efeito do tipo de silagem i ($i = 1, 2$);

T_j = efeito do tempo de abertura do silo j ($j = 10, 30, 50, 70, 90, 110$);

$(S_i \times T_j)$ = efeito da interação ($S_i \times T_j$);

ε_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste T a 5% de probabilidade e as variáveis dependentes, segundo os tempos de abertura dos silos, analisadas por meio de análise de regressão.

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1. Características químicas das silagens

Na Tabela 2 observa-se a composição química das silagens de bagaço de laranja e de milho, abertos em diferentes tempos após o fechamento do silo. Houve interação entre

silagem e tempo de abertura dos silos para todas as variáveis analisadas, exceto para a proteína bruta, que só foi significativa quando se comparou a média entre as silagens.

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos totais (CHOT) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM), abertos em diferentes tempos após o fechamento do silo.

Componente		T10	T30	T50	T70	T90	T110	Média
MS (%)	SBL	27,11b	27,04b	27,25b	24,74b	26,77b	26,27b	26,53
	SM	31,64a	29,98a	30,21a	28,75a	33,55a	34,15a	31,38
MO (% na MS)	SBL	92,53a	92,19a	92,29b	92,56a	92,43b	92,28a	92,38
	SM	92,69a	92,40a	92,58a	91,64b	92,80a	91,81b	92,32
PB (% na MS)	SBL	7,01	6,98	7,14	7,28	7,14	7,29	7,14b
	SM	7,03	7,29	7,29	7,55	7,39	7,49	7,34a
EE (% na MS)	SBL	1,66a	1,34a	1,29b	1,13b	1,57a	1,38a	1,40
	SM	1,83a	1,29a	1,51a	1,55a	1,46a	1,15b	1,47
Ca (% na MS)	SBL	2,15a	2,13a	2,22a	2,28a	2,30a	2,31a	2,23
	SM	0,23b	0,23b	0,22b	0,25b	0,24b	0,23b	0,23
FDN (% na MS)	SBL	27,09b	30,64b	31,69b	33,24b	30,42b	30,07b	30,52
	SM	56,25a	56,53a	50,57a	51,79a	56,59a	50,82a	53,76
CHOT (% na MS)	SBL	83,85a	83,86a	83,86a	84,15a	83,73a	83,61a	83,84
	SM	83,82a	83,82a	83,77a	82,54b	83,94a	83,18a	83,51

T10 = 10 dias, T30 = 30 dias, T50 = 50 dias, T70 = 70 dias, T90 = 90 dias e T110 = 110 dias. CV MS = 0,22; CV MO = 0,17; CV PB = 3,17; CV EE = 7,37; CV Ca = 4,23; CV FDN = 1,90, CV CHOT = 0,41. Médias seguidas de letras diferentes na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste T.

A silagem de bagaço de laranja apresentou teores de MS (24,74% a 27,25%) superiores aos observados por Ítavo et al (2000), (13,15% a 14,65%) para SBL com diferentes aditivos, fato explicado pela adição de hidróxido de cálcio durante o processo de extração de água na empresa. Entretanto, o teor médio de MS da silagem de bagaço de laranja (26,53%) indica que ele ainda está abaixo do recomendado por Rocha et al (2006) para ensilagem que deve ser entre 30 e 35%.

A silagem de milho apresentou teor de MS dentro da faixa preconizada para uma boa ensilagem, com média de 31,38%.

Silagens com elevados teores de MS não são desejáveis, pois pode ocorrer elevação da temperatura na massa ensilada, levando a formação de compostos denominados produtos da

reação de Maillard, promovendo uma diminuição na digestibilidade da proteína (Van Soest, 1983).

Devido ao fato da indústria adicionar hidróxido de cálcio no bagaço de laranja, a silagem apresenta altas porcentagens de cálcio (média de 2,23%), quando comparado à silagem de milho (média de 0,23%). Portanto, embora a SBL apresente um bom teor de matéria orgânica, deve-se observar o conteúdo de cálcio durante a formulação de ração para os animais.

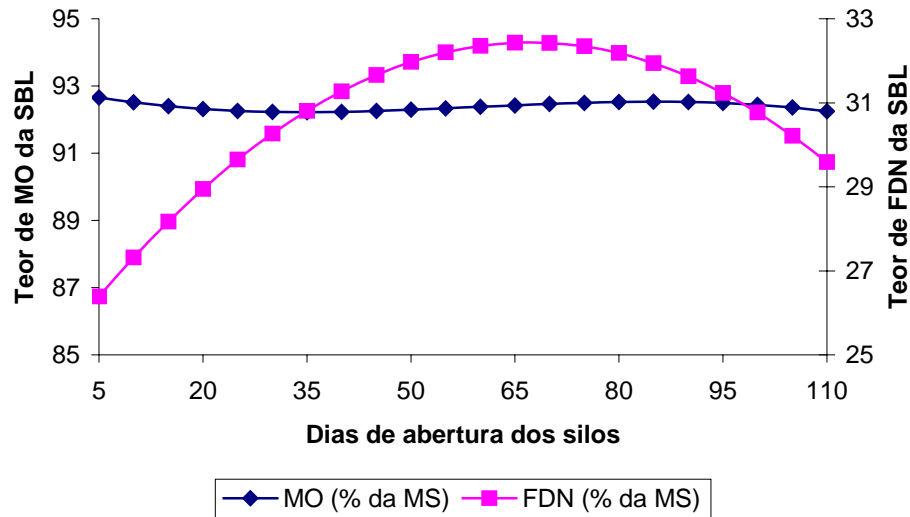
Os teores de proteína bruta não diferiram ($P>0,05$) entre as silagens em todos os tempos de abertura do silo (Tabela 2). Observou-se que não houve proteólise intensa durante o processo de fermentação, pois a porcentagem de proteína do material antes da ensilagem (Tabela 1) foi pouco alterada após o processo de ensilagem (Tabela 2). De acordo com Pereira & Reis (2001), a extensão da proteólise diminui com o aumento do teor de MS do material ensilado e o rápido abaixamento do pH.

Os teores de FDN do material antes da ensilagem, para o bagaço de laranja (32,93%) e milho (62,78%), diminuíram após a ensilagem, para a média de 30,52 e 53,76% respectivamente, devido ao processo de hidrólise dos carboidratos estruturais (celulose, hemicelulose e pectina).

A silagem de bagaço de laranja apresenta um teor de proteína bruta comparável ao de um volumoso, entretanto, apresenta baixo teor de fibra em relação à silagem de milho (Tabela 2), o que poderia ocasionar distúrbios digestivos, portanto, torna-se necessário uma suplementação de alimentos fibrosos (Martin, 1997).

Os teores de MS, PB e CHOT da silagem de bagaço de laranja não foram influenciados pelos tempos de abertura dos silos, indicando ter havido uma boa conservação dos nutrientes.

Na Figura 1 está representado o efeito dos dias de abertura dos silos sobre o teor de MO e FDN da silagem de bagaço de laranja.



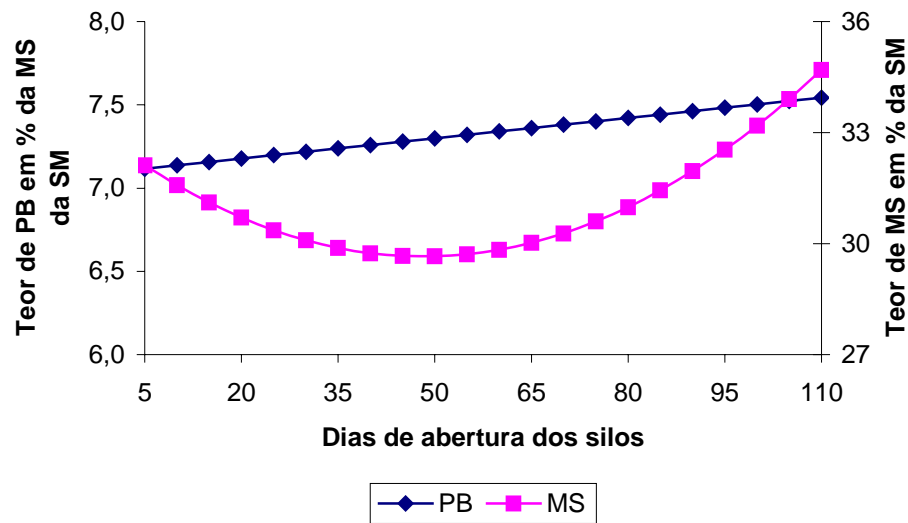
$$Y_{MO} = 92,84954 - 0,04177X + 0,00084702X^2 - 0,00000470X^3; R^2 = 34,77; CV = 0,21.$$

$$Y_{FDN} = 25,37232 + 0,20992X - 0,00156X^2; R^2 = 80,44; CV = 3,07; P_{m\acute{a}x.} = 67,28.$$

Figura 1 – Efeito dos dias de abertura do silo sobre a matéria orgânica (MO) e fibra em detergente neutro (FDN) da silagem de bagaço de laranja

Houve pouca variação no teor de MO e a FDN apresentou efeito quadrático em função dos dias de abertura dos silos. O que pode ocorrer no processo de ensilagem é uma diminuição do teor de FDN em função da hidrólise dos carboidratos estruturais, portanto este comportamento pode estar associado a diferenças na hidrólise, em função de diferenças durante o processo de ensilagem, problemas de amostragem e erros de análise laboratorial.

Na Figura 2 está representado o efeito dos dias de abertura dos silos sobre a proteína bruta e matéria seca da silagem de milho.



$$Y_{PB} = 7,09657 + 0,00406X; R^2 = 32,88; CV = 2,86.$$

$$Y_{MS} = 32,72506 - 0,12732X + 0,00132X^2; R^2 = 75,77; CV = 3,34; P_{\text{mín}} = 48,23.$$

Figura 2 – Efeito dos dias de abertura do silo sobre a proteína bruta (PB) e matéria seca (MS) da silagem de milho

A silagem de milho apresentou um efeito linear no teor de PB (Figura 2), não havendo efeito dos tempos de abertura dos silos sobre o teor de NNH_3 , indicando que a proteína da silagem de milho não foi intensamente degradada, tendo sido o material bem conservado na forma de silagem.

Ao avaliar o teor de MS em função do tempo de abertura dos silos, observa-se um efeito somente sobre a silagem de milho (Figura 2), podendo essas variações ser decorrentes de problemas durante a ensilagem, como demora no enchimento dos silos ou problemas na amostragem.

4.5.2. Parâmetros de fermentação das silagens

Na Tabela 3 estão os valores de pH, nitrogênio amoniacal, capacidade tampão e ácido láctico das silagens de bagaço de laranja e milho, abertos em diferentes tempos após o

fechamento do silo. Houve interação entre silagem e tempos de abertura dos silos para todos os componentes analisados.

Tabela 3. Valores de pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃), capacidade tampão (CATP) e ácido láctico (AL) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM), abertos em diferentes tempos após o fechamento do silo.

Componente		T10	T30	T50	T70	T90	T110	Média
pH	SBL	3,52b	3,26b	3,28b	3,51b	3,49a	3,56b	3,44
	SM	3,86a	3,77a	3,73a	3,98a	3,54a	4,13a	3,84
NNH ₃ (% do N total)	SBL	5,78b	5,82a	5,65a	6,11a	5,58a	5,74a	5,78
	SM	7,16a	6,39a	5,68a	6,56a	4,04b	6,46a	6,05
CATP (n.e.mg/100g MS)	SBL	57,91a	71,21a	70,59a	71,30a	81,63a	82,51a	72,53
	SM	40,81b	44,36b	52,96b	56,12b	45,71b	46,55b	47,75
AL (% na MS)	SBL	3,62a	4,37a	3,98a	5,71a	4,50a	4,24a	4,40
	SM	3,19b	3,89b	2,66b	3,52b	2,11b	2,28b	2,94

T10 = 10 dias, T30 = 30 dias, T50 = 50 dias, T70 = 70 dias, T90 = 90 dias e T110 = 110 dias. CV pH = 1,84; CV NNH₃ = 8,42; CV CATP = 1,58; CV AL = 4,09. Médias seguidas de letras diferentes na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si (P<0,05) pelo teste T.

Com exceção da silagem de milho aberta com 90 dias, todas as outras silagens, nos diferentes tempos de abertura dos silos apresentaram pH superior (P<0,05) ao da SBL (Tabela 3), sendo que ambas as silagens (SBL e SM) apresentaram um pH adequado à sua conservação.

De acordo com Kung & Stokes (2003) o teor de amônia na silagem de milho, normalmente está entre 5 a 7%, e de acordo com Ítavo et al (2000), para uma silagem bem conservada, aceita-se um conteúdo de nitrogênio amoniacal menor que 8% do nitrogênio total. Portanto, ambas as silagens em todos os tempos de fermentação apresentaram boa conservação (Tabela 3).

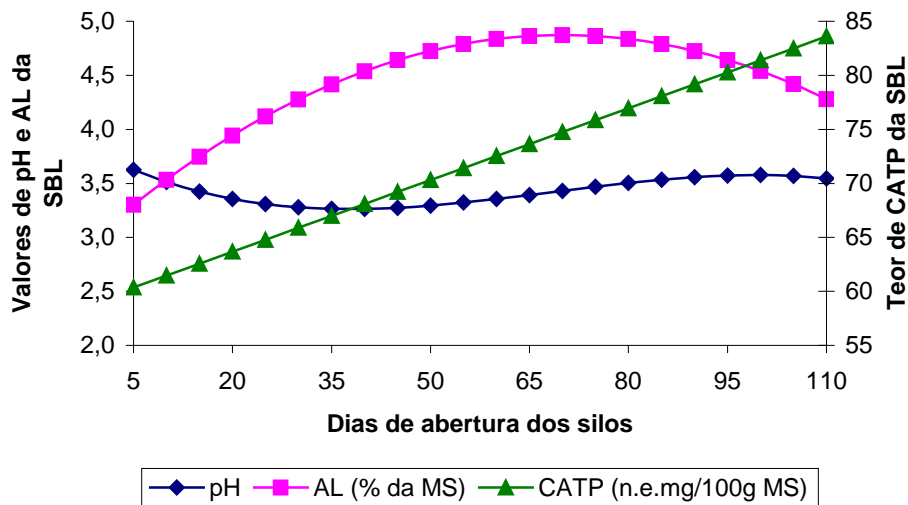
A capacidade tampão da cultura ensilada é um importante fator no processo de acidificação da massa ensilada, estando diretamente relacionada com o abaixamento do pH (Tosi & Jobim, 2001).

A capacidade tampão da SBL foi próximo ao valor observado por Ítavo et al (2000) para SBL sem aditivo (63,39 n.e.mg HCl/100g MS). A capacidade tampão para SM aberta

com 10, 30, 90 e 110 dias de ensilagem foi semelhante aos valores obtidos por Rodrigues et al (2004) para dois híbridos da SM sem inoculante (45,85 e 41,36 n.e.mg/100 g MS de forragem).

Apesar da SBL apresentar maior capacidade tampão do que a silagem de milho (média respectiva de 72,53 e 47,75 n.e.mg/100g MS), houve maior produção de ácido láctico nas SBL (média de 4,40%), o que contribuiu para diminuir o pH do material ensilado, além disso, a capacidade tampão do bagaço de laranja antes da ensilagem foi menor que o do milho (Tabela 1), permitindo que a mesma abaixasse rapidamente o pH.

Na Figura 3 observa-se o efeito dos dias de abertura dos silos sobre o pH, ácido láctico e capacidade tampão da silagem de bagaço de laranja.



$$Y_{\text{pH}} = 3,76459 - 0,03048X + 0,00055709X^2 - 0,00000271X^3; R^2 = 80,31; CV = 1,85.$$

$$Y_{\text{AL}} = 3,05162 + 0,05202X - 0,00037128X^2; R^2 = 46,13; CV = 12,09; P_{\text{máx.}} = 70,05.$$

$$Y_{\text{CATP}} = 59,24327 + 0,22137X; R^2 = 84,11; CV = 4,81.$$

Figura 3 – Efeito dos dias de abertura do silo sobre o pH, ácido láctico e capacidade tampão da silagem de bagaço de laranja

O pH do bagaço de laranja e do milho que eram, respectivamente de 4,14 e 4,56 (Tabela 1), apresentaram uma diminuição considerável com 10 dias de ensilagem (Tabela 3 e Figura 3), fato que pode ter contribuído para uma boa conservação do valor nutritivo das

silagens. Segundo Kung & Stokes (2003), para que haja uma boa preservação da silagem de milho, o ideal é que o pH esteja entre 3,7 e 4,2.

Somente o baixo pH final, não garante que a atividade dos microrganismos indesejáveis, como os clostrídios e as enterobactérias sejam prevenidos durante o processo de fermentação. Para que isso ocorra, é necessário que a redução do pH seja rapidamente atingida. Quando se trabalha com forragens com altos teores de açúcares e baixos de proteína, ocorre normalmente a estabilidade do pH antes do décimo dia de ensilagem (Mc Donald et al, 1991). Não houve efeito do tempo de abertura dos silos sobre o pH da silagem de milho, portanto conclui-se que com 10 dias de ensilagem (Tabela 3), o pH já estava estabilizado.

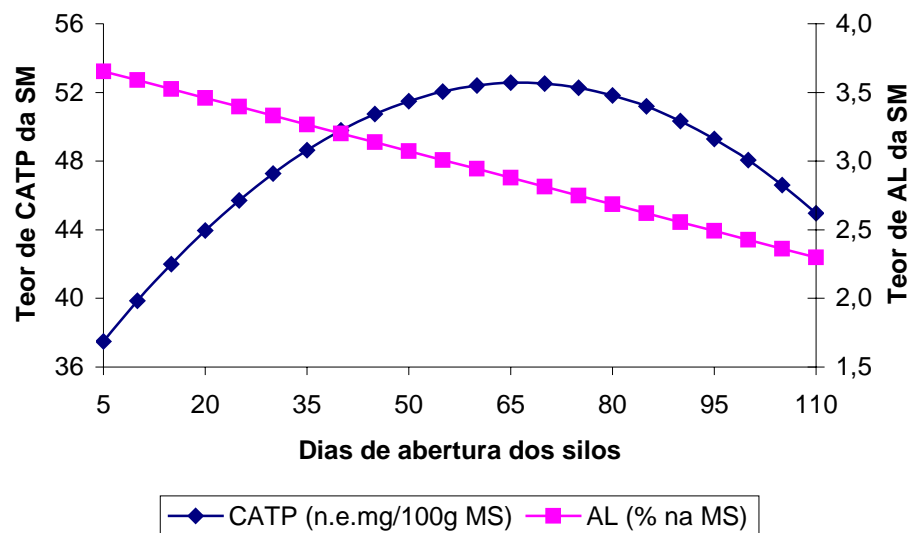
O pH da silagem de bagaço de laranja reduziu até os 40 dias de ensilagem, seguido de um leve aumento até o último dia de abertura, ocorrendo conseqüentemente, o oposto com a produção de ácido láctico (Figura 3), uma vez que a produção de ácido láctico é responsável pela diminuição do pH da silagem. Houve um aumento linear na capacidade tampão da silagem (Figura 3), que pode ser explicado em função dos ácidos formados pela fermentação elevarem a capacidade tampão da silagem (Woolford, 1999 e Knický, 2005) e a amônia e aminas, produzidas pela desaminação e descarboxilação de aminoácidos, neutralizarem os ácidos que estão sendo formados durante a fermentação (Tosi & Jobim, 2001).

O tempo de fermentação, de acordo com Van Soest (1983), depende principalmente do teor de carboidratos solúveis, da capacidade tamponante e do conteúdo de umidade, ficando normalmente entre 10 e 14 dias. De acordo com as características observadas para o bagaço de laranja, os silos podem ser abertos a partir dos 10 dias de ensilagem, sendo bem conservado durante os 110 dias avaliados.

A fase fermentativa da silagem define seus valores alimentícios, ocorrendo conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos por microrganismos inerentes ao ambiente, caso encontrem condições adequadas (Reis et al, 2004). A silagem de milho apresentou baixos

teores de ácido láctico (2,11 a 3,89%), sendo semelhantes aos observados por Rodrigues et al (2004) (3,93 e 1,47%). Entretanto, de acordo com Kung & Stokes (2003), a porcentagem ideal de ácido láctico para silagem de milho com boa fermentação, está em torno de 4 a 6%, cujos níveis são muito superiores aos observados neste experimento.

Na Figura 4 observa-se o efeito dos dias de abertura dos silos sobre a capacidade tampão e o ácido láctico da silagem de milho.



$$Y_{\text{CATP}} = 34,94206 + 0,53112X - 0,00400X^2; R^2 = 69,09; CV = 6,69; P_{\text{máx.}} = 66,39.$$

$$Y_{\text{AL}} = 3,71819 - 0,01291X; R^2 = 44,93; CV = 17,60.$$

Figura 4 – Efeito dos dias de abertura do silo sobre a capacidade tampão (CATP) e ácido láctico (AL) da silagem de milho

As equações de regressão para a silagem de milho mostram uma redução linear na produção de ácido láctico e um aumento da capacidade tampão, que após os 66 dias de ensilagem passou a diminuir (Figura 4). A redução na produção de ácido láctico pode indicar que a silagem de milho não teve uma fermentação adequada, podendo ter ocorrido fermentações indesejáveis com produção de outros ácidos, uma vez que a produção inicial de ácido láctico deveria ter aumentado. Vários fatores podem ter afetado a fermentação da

silagem, como má compactação, matéria prima contaminada e demora no enchimento dos silos.

4.5.3. Digestibilidade *in vitro* das silagens

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta das silagens de bagaço de laranja e milho nos diferentes tempos de abertura dos silos. Houve interação entre silagem e tempos de abertura dos silos para todas as digestibilidades.

Tabela 4. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), fibra em detergente neutro (DIVFDN) e proteína bruta (DIVPB) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) em diferentes tempos de abertura dos silos.

		T10	T30	T50	T70	T90	T110	Média
DIVMS (%)	SBL	97,26a	97,58a	93,88a	94,79a	96,99a	97,56a	96,34
	SM	72,21b	66,11b	72,61b	67,88b	67,10b	69,76b	69,28
DIVFDN (%)	SBL	98,01a	97,75a	98,04a	97,79a	97,25a	97,65a	97,75
	SM	76,39b	74,81b	77,79b	76,86b	75,31b	79,00b	76,69
DIVPB (%)	SBL	97,37a	97,17a	95,80a	96,68a	97,05a	97,12a	96,87
	SM	65,91b	61,89b	66,06b	57,88b	59,36b	63,18b	62,38

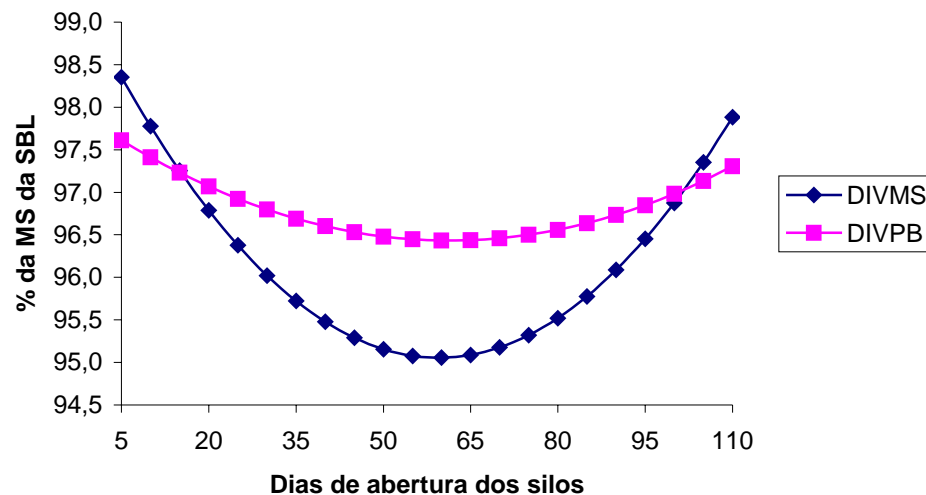
T10 = 10 dias, T30 = 30 dias, T50 = 50 dias, T70 = 70 dias, T90 = 90 dias e T110 = 110 dias. CV DIVMS = 1,25; CV DIVFDN = 1,14; CV DIVPB = 0,81. Médias seguidas de letras diferentes na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste T.

A silagem de bagaço de laranja apresentou maior digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), proteína bruta (DIVPB) e fibra em detergente neutro (DIVFDN), quando comparado à silagem de milho (Tabela 4). Isto se explica pelo fato da polpa cítrica apresentar parede celular altamente digestível, baixo teor de lignina, em torno de 1%, e possuir carboidrato estrutural de alta e rápida degradação (pectina).

A digestibilidade *in vitro* da SBL foi maior do que os observados por Ítavo et al (2000) para MS e parede celular, e por Santos et al (1999) para parede celular (91,8 a 96,6%).

As DIVMS da silagem de milho foram próximos aos observados por Campos et al (2000) que compararam o método de digestão *in vitro*/gás com os métodos *in situ* e *in vivo* de silagem de milho com alta ou baixa MS, inoculada ou não (65 a 72,3%) e por Silva et al (2005) para SM com inoculante microbiano em função do período de fermentação de 1 a 56 dias (66,60 a 71,57%).

Na Figura 5 observa-se o efeito dos dias de abertura dos silos sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da proteína bruta da silagem de bagaço de laranja.



$$Y_{DIVMS} = 98,98678 - 0,13213X + 0,00111X^2; R^2 = 41,46; CV = 1,49; P_{mín.} = 59,52.$$

$$Y_{DIVPB} = 97,83192 - 0,04557X + 0,00037083X^2; R^2 = 39,74; CV = 0,52; P_{mín.} = 61,44.$$

Figura 5 – Efeito dos dias de abertura dos silos sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da proteína bruta (DIVPB) da silagem de bagaço de laranja

Houve influência do tempo de fermentação apenas sobre a DIVMS e DIVPB da silagem de bagaço de laranja com uma redução da digestibilidade até aproximadamente 60 dias, passando a aumentar até 110 dias de abertura dos silos.

A variação observada na DIV da silagem de bagaço de laranja (Figura 5) de aproximadamente 3% pode ser atribuída ao baixo coeficiente de variação e ao erro de análise.

4.6. CONCLUSÕES

O bagaço de laranja pode ser bem conservado na forma de silagem quando apresenta teores de matéria seca ao redor de 26%.

A silagem de bagaço de laranja quando comparada com a silagem de milho, apresentou um bom padrão de fermentação com pouca alteração nos valores nutricionais, podendo ser aberta a partir de 10 dias de ensilagem.

A silagem de bagaço de laranja apresenta elevada digestibilidade *in vitro* da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro, sendo uma boa alternativa a ser utilizada durante os períodos de escassez de alimentos.

4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCURI, P.B.; CARNEIRO, J.C.; LOPES, F.C.F.. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 172-197, 2004.

ABRAHÃO, J.J.S.; PRADO, I.N.; MARQUES, J.A.; PEROTTO, D.; LUGÃO, S.M.B. Avaliação da substituição do milho pelo resíduo seco da extração da fécula de mandioca sobre o desempenho de novilhas mestiças em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.512-518, 2006.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Edited by Kenneth Helrich. Fifteenth edition. Arlington, Virgínia. v.1, 684p, 1990.

CAMPOS, F.P.; BOSE, M.L.V.; BOIN, C.; LANNA, D.P.D.; MORAIS, J.P.G. Comparação do sistema de monitoramento computadorizado de digestão *in vitro* com os métodos *in vivo* e *in situ*. 2. Uso do resíduo da matéria seca de forragens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29 (2), p.531-536, 2000.

CORREIA, M.X.C.; COSTA, R.G.; SILVA, J.H.V.; CARVALHO, F.F.R.; MEDEIROS, A.N. Utilização de resíduo agroindustrial de abacaxi desidratado em dietas para caprinos em crescimento: digestibilidade e desempenho1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.4 (supl.), p.1822-1828, 2006

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J.. Forage fiber analyses; Apparatus, reagents, procedures and some applications. Washington: USDA/**Agricultural Research Service**. 19p, 1970.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro matter digestibility for ten feeds. **J. Dairy Science**, Champaign, v.25, n.8, p.1791-1794, 1999.

ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T. dos; JOBIM, C.C.; VOLTOLINI, T.V.; BORTOLASSI, J.R.; FERREIRA, C.C.B.. Aditivos na conservação do bagaço de laranja *in natura* na forma de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1474-1484, 2000.

KNICKÝ, M. Possibilities to improve silage conservation – Effects of crop, ensiling technology and additives. **Doctoral thesis** – Swedish University of Agricultural Sciences, 2005, 34p.

KUNG, L.; STOKES, M.R. Analyzing silages for fermentation end products. Disponível em: http://ag.udel.edu/departments/anfs/faculty/kung/articles/analyzing_silages_for_ferme.. acesso em 22/04/2003

MARTIN, L.C.T. BOVINOS – Volumosos suplementares. São Paulo: Nobel, 143p. 1997.

Mc DONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. The biochemistry of silage. 2ed. Marlow: Chalcomb Publication, 1991. 340p.

PEREIRA, J.R.A.; REIS, R.A. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 64-86, 2001.

PLAYNE, M.J.; Mc DONALD, P. The buffering constituents of herbage and silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 17, n. 2, p.262-268, 1966.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais. In II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 35-74, 2004.

ROCHA, K.D.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.P.; PACHECO, L.B.B.; CHIZZOTTI, F.H.M.. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.389-395, 2006.

RODRIGUES, P.H.M.; RUZANTE, J.M.; SENATORE, A.L.; LIMA, F.R.; MELOTTI, L.; MEYER, P.M.. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.3, p. 538-545, 2004.

RODRIGUES NETO, A.J.; BERGAMASCHINE, A.F.; ISEPON, O.J.; ALVES, J.B.; HERNANDEZ, F.B.T.; MACEDO, M.P. Efeito de Aditivos no Valor Nutritivo de Silagens feitas com Subproduto da Extração do Palmito de Pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1367-1375, 2001.

SANTOS, G.T. dos; ÍTAVO, L.C.V.; JOBIM, C.C.; SILVA, E. de C. da; VOLTOLINI, T.V.; FARIA, K.P. Digestibilidade *in vitro* da silagem de bagaço de laranja pelo método da ANKOM® – avaliação da quantidade de material utilizado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. n. NUR131.

SAS – STATÍSTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's guide: statistics. Cary: SAS Institute, 2001.

SILVA, F. C. da . **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes.** EMBRAPA. 370p. 1999.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. de. **Análise de alimentos - métodos químicos e biológicos.** Editora UFV. 2002, 235p.

SILVA, A.V.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; FERREIRA, C.L.L.F. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1881-1890, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science** v. 70 n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; PEREIRA, O.G.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. Composição Químico-Bromatológica da Casca de Café Tratada com Amônia Anidra e Sulfeto de Sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, (Suplemento 1), p. 983-991, 2001

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A.. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

TOSI, H.; FARIA, V.P.; SILVEIRA, A.C.. Determinação de bases voláteis em silagem. Congresso Brasileiro de Forragens, 1º Anais da X Reunião Anual da SBZ. S1, p.58-59, 1973.

TOSI, H.; JOBIM, C.C.. Conservação de forragens: silagem. In Biotecnologia Industrial volume IV Biotecnologia na produção de alimentos, AQUARONE, E.; BORZANI, W. SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Editora Edgard Blücher Ltda, 491-505, 2001.

VAN SOEST, P. Nutritional Ecology of the Ruminant – Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, the Cellulolytic Fermentation and the Chemistry of Forages and Plant Fibers. O e B Books, Inc. Corvallis, Oregon, 1983, 374p.

WOOLFORD, M. **Ciência e tecnologia na produção de silagem.** Kentucky: Alltech Biotechnology Center, 1999, 59p.

ZEOULA, L.M.; CALDAS NETO, S.F.; BRANCO, A.F.; PRADO, I.N.; DALPONTE, A.O.; KASSIES, M.; FREGADOLLI, F.L. Mandioca e Resíduos das Farinheiras na Alimentação de Ruminantes: pH, Concentração de N-NH₃ e Eficiência Microbiana¹. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3 (suplemento), p.1582-1593, 2002.

5. Artigo 2

EFEITO DE DIFERENTES INOCULANTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE LARANJA E DE MILHO

5.1. RESUMO

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Londrina e da Universidade Estadual de Maringá, utilizando-se minisilos experimentais em delineamento inteiramente casualizado, distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos (T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%). Os silos foram abertos com 90 dias. Foram determinados pH, ácido láctico (AL), nitrogênio amoniacal (NNH₃), capacidade tampão (CATP), matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas para cálculo de matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), cálcio (Ca) e digestibilidade *in vitro* (DIV). A silagem de bagaço de laranja (SBL) apresentou maior teor de MS para a silagem controle (26,04%) não diferindo da silagem com inoculante microbiano (25,95%) e com ácido propiônico (25,91%). A silagem de milho (SM) apresentou maior teor de matéria seca para o tratamento com inoculante enzimático (36,23%). A proteína bruta da silagem de bagaço de laranja (7,38%) diferiu da silagem de milho (7,20%), sendo que o teor de NNH₃ em porcentagem do nitrogênio total, foi maior para a SBL (5,35%). As silagens apresentaram pH variando de 3,45 a 3,77. A SBL apresentou maior capacidade tampão (73,82 a 80,39 n.e.mg HCl/100g MS) e maior teor de ácido láctico (4,24 a 5,82%) do que a SM (42,43 a 50,92 n.e.mg HCl/100g MS e 1,97 a 2,53%, respectivamente). A SBL apresentou maior digestibilidade *in vitro* da MS, parede celular e PB do que a silagem de milho. Pode-se concluir que a silagem de bagaço de laranja pode ser considerada de boa qualidade, não havendo necessidade do uso de aditivos na sua conservação. Os aditivos melhoraram o teor de matéria seca da silagem de milho, bem como a digestibilidade da matéria seca e parede celular.

PALAVRAS CHAVES: ácido acético, ácido láctico, ácido propiônico, capacidade tampão, inoculante microbiano, inoculante enzimático

EFFECT OF DIFFERENT INOCULANTS ON CHEMICAL CHARACTERISTICS, FERMENTATION PARAMETERS AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF ORANGE PULP AND CORN SILAGES

5.2. ABSTRACT

This experiment was carried out in the Animal Nutrition Laboratories of the State University of Londrina and State University of Maringá. Experimental mini-silos were prepared, in completely randomized design distributed in a 2 x 6 factorial arrangement, being two silages (orange pulp and corn) and six treatments (T0 = without inoculant; T1 = with microbial inoculant; T2 = with microbial and enzymatic inoculant; T3 = with enzymatic inoculant; T4 = with propionic acid 15% and T5 = with acetic acid 15%). The silos were opened at the 90 days. The following determinations were accomplished: pH, lactic acid (LA), ammonia-N (NH₃-N), buffering capacity (BC), dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), ashes for calculation of organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), total carbohydrates (TC), calcium (Ca) and *in vitro* digestibility (IVD). The orange pulp silage (OPS) presented high DM content for control silage (26.04%) but did not differ of the treatments with microbial inoculant (25.95%) and propionic acid (25.91%). The corn silage (CS) presented high DM content for treatment with enzymatic inoculant (36.23%). The OPS presented higher crude protein content (7.38%) when compared with CS (7.20%), and the NH₃-N was highest for OPS (5.35%). The silages presented pH varying from 3.45 to 3.77. The OPS presented higher buffering capacity averages (73.82 to 80.39 meq HCl/100g of DM) and higher lactic acid average (4.24 to 5.82%) when compared with CS (42.43 to 50.92 meq HCl/100g of DM and 1.97 to 2.53%, respectively). The OPS presented higher DM, cellular wall and CP *in vitro* digestibility when compared with CS. It can be concluded that the orange pulp silage can be considered of good quality without need of additive use. The additives improved the dry matter content of corn silage, as well as, its dry matter and cellular wall digestibility

KEY WORDS: acetic acid; buffering capacity, enzymatic inoculant; lactic acid, microbial inoculant, propionic acid

5.3. INTRODUÇÃO

Na época de declínio de produção das pastagens, a escassez de alimento leva à redução da produção de leite e de carne. Para suprir essa carência, vários alimentos conservados na forma de silagem, inclusive alguns resíduos da indústria alimentícia, podem ser usados na alimentação animal (Andriguetto et al, 1981). Um dos resíduos que tem sido estudado é o bagaço de laranja. De acordo com a Abecitrus (2006), a partir da década de 80 o Brasil tornou-se o maior produtor mundial de laranjas produzindo cerca de 1,3 milhões de toneladas de polpa de citros (ou bagaço de laranja) por ano, das quais cerca de 95% é exportada para a Europa. Embora o consumo interno compreenda apenas 5% do total produzido, a disponibilidade de polpa cítrica para ração animal é muito alta e coincide com a entressafra do milho, facilitando a sua utilização como alimento energético. Portanto, a disponibilidade deste resíduo de maio a dezembro de cada ano facilita a sua utilização, com possibilidades de redução no custo de produção dos animais.

A ensilagem é uma das formas de se conservar este bagaço de laranja, entretanto, deve-se observar as técnicas corretas de ensilagem, tais como: adequado teor de umidade, rápido enchimento do silo e vedação adequada para impedir infiltração de ar e água (Reis et al, 2004).

A disponibilidade de oxigênio na silagem permite que bactérias e fungos aeróbicos se desenvolvam, causando uma elevação no pH e conseqüentemente originando uma silagem de baixa qualidade, onde a metabolização do ácido láctico e outros compostos, originam dióxido de carbono e água, produzindo calor que pode induzir a reações de Maillard (Van Soest, 1983).

Quanto mais rápido ocorrer a fermentação, mais rápido a silagem atingirá níveis adequados de pH que inibem o crescimento de microrganismos indesejáveis e menor será a perda de matéria seca resultando em uma silagem de melhor qualidade (Tosi & Jobim, 2001).

O uso de aditivos na ensilagem possui duas finalidades principais: influenciar o curso da fermentação, favorecendo a preservação e alterar a composição, melhorando o valor nutritivo (Van Soest, 1983; Backes et al, 2001).

O princípio básico do uso de inoculantes bacterianos é aumentar a população de bactérias homofermentativas e com isso elevar a produção de ácido lático (Kung Jr., 2001, Reis et al, 2004). A inoculação de silagem com bactérias homofermentativas que determinem pelo menos 10^6 organismos/g de forragem fresca podem ter efeitos benéficos como aumento na velocidade da fermentação e diminuição da proteólise (Jaster, 1995 apud Pereira & Reis, 2001).

O uso de enzimas que degradam a parede celular tem função de fornecer substrato às bactérias ácido lácticas, além de aumentar a digestibilidade da matéria orgânica (Henderson, 1993 apud Reis et al, 2004).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o uso de inoculantes ácidos, microbianos e/ou enzimáticos nas características químicas, parâmetros de fermentação e digestibilidade *in vitro* das silagens de bagaço de laranja e milho.

5.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina e da Universidade Estadual de Maringá.

As silagens de bagaço de laranja (SBL) e de milho (SM) foram confeccionadas em baldes de polietileno de 16,5 cm de diâmetro x 19 cm de altura, com capacidade para 3,6 kg, que foram imediatamente lacrados. Para a ensilagem, o milho (cultivar BRS 4157) foi cortado no estágio de grão farináceo. O bagaço de laranja foi fornecido pela Cooperativa Agropecuária de Rolândia – COROL.

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuído em arranjo fatorial 2 x 6, sendo 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos: T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano (Maize-All[®]: *Streptococcus faecium* – 1,0 x 10¹⁰ UFC/g; *Lactobacillus plantarum* – 1,0 x 10¹⁰ UFC/g; *Pediococcus acidilacti* – 1,0 x 10⁹ UFC/g – Alltech do Brasil); T2 = com inoculante microbiano e enzimático (Lacto silo[®]: *Lactobacillus curvatus*, *L. Acidophilus*, *L. Plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *L. spp.* (*Enterococcus faecium* e Bactéria láctica sorgo S1) e enzimas celulolíticas – Nitral Urbana – Brasil, contendo 1,0 x 10⁹ UFC/g e 4% de enzimas); T3 = com inoculante enzimático (Lacto silo[®] Complexo enzimático – Nitral Urbana – Brasil); T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%, com três repetições. Os inoculantes foram acrescentados na base da matéria natural, conforme recomendações dos fabricantes.

A composição química, pH, nitrogênio amoniacal e capacidade tampão do bagaço de laranja e do milho pode ser observada na tabela 1.

As amostras para análises foram retiradas antes da ensilagem e 90 dias após o fechamento dos silos, e armazenadas a -20°C para posterior análise.

Para execução das análises no material pré-seco, as amostras frescas foram colocadas em estufa com circulação forçada de ar a 55 ± 5°C por 48 horas, para que fosse realizada a pré-secagem. Em seguida, todas as amostras experimentais pré-secas foram moídas em moinho de faca tipo “Willye”, de modo que o tamanho das partículas fosse de aproximadamente 1 mm.

Foram determinados, na amostra fresca: pH e ácido lático (AL) conforme Silva & Queiroz (2002), nitrogênio amoniacal (NNH₃) de acordo com Tosi et al (1973), capacidade tampão (CATP) conforme Playne & Mc Donald(1966) e matéria pré-seca (ASA) de acordo com metodologia descrita por AOAC (1990), e na amostra pré-seca: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas (CIN) para cálculo da matéria orgânica (MO) segundo as metodologias descritas por AOAC (1990), fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Goering & Van Soest (1970), carboidratos totais (CHOT) de acordo com Sniffen et al (1992), cálcio de acordo com Silva (1999), e digestibilidade *in vitro* (DIV) conforme técnica de Tilley & Terry (1963), adaptada ao Rúmen Artificial, desenvolvido pela ANKOM[®], conforme descrito por Holden (1999).

Tabela 1. Valores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃) e capacidade tampão (CATP) do bagaço de laranja (BL) e milho (M) nos diferentes tratamentos antes da ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
MS	BL	26,61	27,08	27,08	27,30	27,23	27,11
(%)	M	30,74	30,53	30,94	30,88	31,15	31,97
MO	BL	93,13	92,68	92,51	92,71	92,85	92,71
(% na MS)	M	93,73	92,52	92,42	92,23	91,58	92,96
PB	BL	7,05	6,75	6,90	6,92	6,84	6,92
(% na MS)	M	6,49	6,73	6,50	6,86	6,80	6,58
EE	BL	1,25	1,05	1,20	1,20	1,17	1,07
(% na MS)	M	1,89	1,69	1,70	1,43	1,33	1,34
Ca	BL	2,05	2,04	1,97	1,92	2,19	2,20
(% na MS)	M	0,23	0,23	0,22	0,21	0,22	0,20
FDN	BL	32,36	32,48	31,54	32,19	31,59	34,79
(% na MS)	M	63,52	66,61	62,31	62,00	60,47	64,70
CHOT	BL	84,83	84,88	84,41	84,58	84,85	84,71
(% na MS)	M	85,36	84,09	84,22	83,94	83,44	85,04
pH	BL	4,14	4,22	4,19	4,17	4,21	4,09
	M	4,56	4,39	4,36	4,33	4,32	4,34
NNH ₃	BL	5,81	5,53	5,42	5,76	5,75	5,42
(% do N total)	M	5,06	4,90	5,00	4,75	4,99	4,78
CATP (n.e.mg	BL	30,44	23,26	24,24	29,06	33,05	38,61
/100g MS)	M	33,51	29,37	38,25	38,53	36,60	36,75

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAS (2001), conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + T_j + (S_i \times T_j) + \varepsilon_{ij}$$

sendo: Y_{ij} = Parâmetros de características químicas, fermentação e digestibilidade *in vitro* no tipo de silagem i , no inoculante j ;

μ = média geral;

S_i = efeito do tipo de silagem i ($i = 1, 2$);

T_j = efeito do tipo de inoculante j ($j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$);

$(S_i \times T_j)$ = efeito da interação ($S_i \times T_j$);

ε_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.5.1. Características químicas e parâmetros de fermentação das silagens

Na Tabela 2 encontram-se os teores de matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro, carboidratos totais e proteína bruta das silagens de bagaço de laranja e milho nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem. Houve interação entre silagem e tratamento para todas as variáveis, exceto a proteína bruta, onde só houve diferença entre tratamentos independente da silagem (Tabela 2) e entre silagens, independente de tratamento (Tabela 3).

A SBL apresentou maior teor de MS para a silagem controle (26,04%) não diferindo da silagem com inoculante microbiano (25,95%) e com ácido propiônico (25,91%), sendo esses teores superiores aos observados por Higginbotham et al (1998) e Ítavo et al (2000a), cujos valores variaram, respectivamente, de 19,5 a 22,4% e 13,15 a 15,15%, para SBL com diferentes aditivos abertos com 90 e 64 dias, respectivamente. Os teores de matéria seca observados para SM (Tabela 2) em todos os tratamentos foram superiores aos observados para SBL. A SM apresentou maior teor de matéria seca para o tratamento com inoculante enzimático (36,23%), seguido daquela inoculada com ácido propiônico (35,76%).

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT) e proteína bruta (PB) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
MS (%)	SBL	26,04Ba	25,95Bab	25,56Bc	24,98Bd	25,91Bab	25,88Bb
	SM	34,17Af	35,45Ac	35,24Ad	36,23Aa	35,76Ab	34,48Ae
MO (% na MS)	SBL	92,70Aa	92,63Aab	92,46Aab	92,37Ab	92,74Aa	92,58Aab
	SM	91,95Bb	92,48Aa	92,51Aa	92,07Ab	91,16Bc	90,44Bd
FDN (% na MS)	SBL	31,64Bb	31,09Bb	32,99Ba	31,00Bb	31,80Bab	31,86Bab
	SM	52,14Ab	54,85Aa	51,22Abc	50,85Abc	52,14Ab	50,15Ac
CHOT (% na MS)	SBL	84,29Aa	84,01Aab	83,61Ac	83,56Ac	84,06Aab	83,81Abc
	SM	83,35Bb	83,86Aa	83,83Aa	83,13Bb	82,23Bc	81,56Bd
PB (% na MS)	SBL	7,18	7,29	7,49	7,56	7,48	7,29
	SM	7,15	7,06	7,19	7,22	7,32	7,27
PB (média)		7,16b	7,17b	7,34a	7,39a	7,40a	7,28ab

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%; CV MS = 0,31; CV MO = 0,20; CV FDN = 1,90; CV CHOT = 0,22; CV PB = 1,88. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si (P<0,05) pelo Teste de Tukey.

O tratamento do bagaço de laranja com hidróxido de cálcio para maior extração de água na indústria origina um bagaço de laranja com maior teor de matéria seca e melhora sua conservação na forma de silagem, uma vez que o teor de matéria seca do material a ser ensilado é importante na obtenção de silagens com bom padrão de fermentação.

As SBL tratadas com ácido propiônico e ácido acético apresentaram maiores teores de MO do que as SM, mas não diferiram (P>0,05) da silagem controle (Tabela 2). Houve efeito

($P < 0,05$) dos aditivos microbiano/enzimático e microbiano sobre o teor de matéria orgânica da silagem de milho.

Os teores de FDN da SBL variaram de 31,00 a 32,99% e os da SM de 50,15 a 54,85%. Alguns pesquisadores encontraram valores de FDN variando de 19,72% a 25,27% para SBL (Megías et al, 1993; Ítavo et al, 2000a e Ítavo et al, 2000b) e de 45,8 a 48,7% para SM (Higginbotham et al, 1998 e Rosa et al, 2000). Quando se formula rações, deve-se complementar os teores de FDN da SBL que são baixos em relação aos teores de FDN do milho.

Independente da silagem utilizada (bagaço de laranja ou milho) observa-se que o inoculante microbiano/enzimático, enzimático e ácido propiônico melhoraram o teor de proteína bruta das silagens (Tabela 2).

Na Tabela 3 estão contidas as médias das variáveis que não apresentaram interação entre silagens e tratamentos.

Tabela 3. Teores médios de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca) e nitrogênio amoniacal (NNH_3) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) abertos com 90 dias de ensilagem.

Silagem	PB (% na MS)	EE (% na MS)	Ca (% na MS)	NNH_3 (% do N total)
SBL	7,38a	1,31b	2,33a	5,35a
SM	7,20b	1,57a	0,20b	3,73b

CV PB = 1,88; CV EE = 8,04; CV Ca = 9,84; CV NNH_3 = 16,10. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

A proteína bruta da SBL (7,38%) diferiu ($P < 0,05$) da SM (7,20%) provavelmente devido ao baixo coeficiente de variação, sendo que a porcentagem de N amoniacal em porcentagem do nitrogênio total (Tabela 3), foi maior ($P < 0,05$) para a SBL. De acordo com Tosi & Jobim (2001), para a produção de uma silagem estável, a porcentagem de nitrogênio amoniacal em % do N total, deve ser menor que 5% para silagem de milho e cereais.

Pode-se observar que os teores de nitrogênio amoniacal da SM (Tabela 3) foram inferiores aos observados por Higginbotham et al (1998) e Rocha et al (2006) para 90 e 56 dias de ensilagem, respectivamente, com e sem inoculante enzimo-bacteriano e bacteriano. O nitrogênio amoniacal é um indicador da extensão da atividade dos clostrídeos porque é produzido em pequenas quantidades por outros microrganismos da silagem (Tosi & Jobim, 2001).

Os teores de PB que antes da ensilagem variaram de 6,49 a 7,05% (Tabela 1), aumentaram após a ensilagem (Tabela 3), o que pode ser explicado pela leve diminuição nos teores de FDN e CHOT, efeito positivo dos aditivos e um adequado processo de ensilagem diminuindo a proteólise no material.

O elevado teor de cálcio na SBL (Tabela 3), maior do que no bagaço de laranja antes da ensilagem (Tabela 1) deve ser cuidadosamente analisado no momento da formulação de rações na propriedade.

Na Tabela 4 encontram-se os valores de pH, capacidade tampão e ácido lático das silagens de bagaço de laranja e milho nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem. Houve interação entre silagens e tratamentos para o pH, capacidade tampão e ácido lático.

Tabela 4. Valores de pH, capacidade tampão (CATP) e ácido lático (AL) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
pH	SBL	3,49Ba	3,45Ba	3,47Ba	3,47Ba	3,49Ba	3,50Ba
	SM	3,74Aabc	3,77Aa	3,74Aab	3,69Abc	3,68Ac	3,60Ad
CATP (n.e.mg/ 100g MS)	SBL	79,98Aa	76,11Acd	76,69Abc	80,39Aa	79,21Aab	73,82Ad
	SM	42,43Bb	50,92Ba	44,18Bb	49,60Ba	48,71Ba	44,28Bb
AL (% na MS)	SBL	4,45Ac	5,47Ab	5,47Ab	5,82Aa	4,24Ac	5,48Ab
	SM	1,97Bc	2,04Bc	2,41Bab	2,53Ba	2,16Bbc	2,37Bab

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%; CV pH = 0,99; CV CATP = 2,70; CV AL = 4,47. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si (P<0,05) pelo Teste de Tukey.

O pH do bagaço de laranja e do milho antes da ensilagem, variou de 4,09 a 4,22 e 4,32 a 4,56, respectivamente (Tabela 1) atingindo valores entre 3,45 a 3,77 (Tabela 4) após 90 dias de ensilagem, faixa adequada para impedir que microrganismos indesejáveis se desenvolvam prejudicando a fermentação. Entretanto, somente o baixo pH final, não garante que a atividade dos microrganismos indesejáveis, como os clostrídios e enterobactérias sejam prevenidas durante o processo de fermentação. É necessário que a redução do pH seja rapidamente atingida, o que possivelmente deve ter ocorrido no presente experimento. De acordo com Mc Donald et al (1991), silagens de boa qualidade podem apresentar pH variando de 3,6 a 4,2.

Não houve efeito dos aditivos sobre o pH nas SBL, mas observou-se que a SM tratada com ácido acético apresentou o menor pH (3,60) dentre as SM (Tabela 4). Ítavo et al (2000a) ao trabalharem com SBL com diferentes aditivos (enzimático-microbiano, ácidos fórmico, propiônico e acético), observaram que o bagaço de laranja não necessita de aditivos na ensilagem, podendo ser bem conservado.

Um importante fator no processo de acidificação da massa ensilada é a capacidade tampão da cultura ensilada, uma vez que quanto maior a capacidade tampão, maior quantidade de ácido lático terá que ser formada para que o pH atinja níveis inibitórios à ação dos clostrídeos (Tosi & Jobim, 2001).

A SBL apresentou maior capacidade tampão (73,82 a 80,39 n.e.mg HCl/100g MS) do que a SM (42,43 a 50,92 n.e.mg HCl/100g MS), o que poderia sugerir pouca atividade fermentativa na SBL, entretanto, a maior capacidade tampão da SBL após os 90 dias de ensilagem ocorreu devido ao próprio processo de fermentação da silagem, pois a capacidade tampão antes da ensilagem (Tabela 1) era menor para o bagaço de laranja (23,24 a 38,61 n.e.mg/100g MS) quando comparado com o milho (29,37 a 38,53 n.e.mg/100g MS),

indicando que ambos podem ser bem conservados na forma de silagem, uma vez que não há necessidade de altas produções de ácido láctico para se atingir rapidamente um baixo pH.

Ítavo et al (2000a), trabalhando com SBL aberto com 64d, relataram que a capacidade tampão variou de 39,09 a 63,39 n.e.mg HCl/100g MS, enquanto Rodrigues et al (2004), obtiveram para silagem de milho, com diferentes aditivos microbianos, valores entre 41,36 a 47,72 n.e.mg HCl/100g MS. As discrepâncias dos resultados de análises de bagaço de laranja são justificadas pelos diferentes processos realizados entre as esmagadoras, pois algumas podem retirar as sementes, extrair óleos essenciais, ou ainda utilizar hidróxido de cálcio.

Os teores de ácido láctico da SBL (4,24 a 5,82%) foram muito superiores aos da SM (1,97 a 2,53%). De acordo com Tosi & Jobim (2001) em silagens onde ocorreram boa fermentação, a concentração de ácido láctico deve estar entre 6 e 8% na MS. Neste experimento, os maiores valores de ácido láctico foram de 5,82% e 2,53%, para SBL e SM, respectivamente, ambos tratados com inoculante enzimático. Segundo Archundia & Bolsen (2001), a função das enzimas é quebrar os polissacarídeos complexos como fibra e amido, deixando a silagem mais digestível e fornecendo mais substrato para as bactérias ácido lácticas produzirem ácido láctico. Os autores afirmaram também que seu uso tem sido mais eficiente com leguminosas e gramíneas que possuem menor conteúdo de carboidratos solúveis do que o milho, sorgo e pequenos grãos de cereais.

Por outro lado, o bagaço de laranja é uma boa fonte de carboidrato solúvel, criando condições favoráveis para uma rápida produção de ácido láctico, que indica que o pH foi suficientemente reduzido para que o material possa ser adequadamente preservado.

5.5.2. Digestibilidade *in vitro* das silagens

Na Tabela 5 estão contidos os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), parede celular (DIVPC) e proteína bruta (DIVPB) da SBL e SM nos diferentes tratamentos, abertos com 90 dias de ensilagem. Houve interação entre silagem e tratamento para digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da parede celular.

Tabela 5. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), parede celular (DIVPC) e proteína bruta (DIVPB) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
DIVMS	SBL	97,03Aab	97,31Aa	97,34Aa	96,01Ab	96,63Aab	97,27Aab
	SM	67,86Bd	69,58Bc	73,64Ba	69,20Bc	74,77Ba	72,08Bb
DIVPC	SBL	97,82Aa	98,11Aa	97,50Aa	97,79Aa	97,43Aa	97,51Aa
	SM	75,21Bd	76,51Bc	77,93Bb	77,46Bbc	78,33Bb	80,38Ba
DIVPB	SBL	96,17	97,32	97,20	96,70	96,90	95,70
	SM	72,29	73,89	73,65	73,29	73,82	73,79
DIVPB	(média)	84,23c	85,60a	85,42ab	84,99abc	85,36ab	84,74bc

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%; CV DIVMS = 0,91; CV DIVPC = 0,87; CV DIVPB = 0,77. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Com relação à digestibilidade *in vitro* da proteína bruta, não houve interação entre silagem e tratamento, apresentando diferença ($P < 0,05$) somente entre silagens, independente de tratamento, onde a SBL apresentou maior digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (96,66%) quando comparada com a SM (73,45%), e diferença entre tratamentos, independente da silagem analisada, como mostram as médias contidas na Tabela 5.

A silagem de bagaço de laranja apresentou maior ($P < 0,05$) digestibilidade *in vitro* da matéria seca e parede celular do que a silagem de milho em todos os tratamentos (Tabela 5).

Para a SBL, o tratamento com inoculante enzimático (T3) apresentou menor DIVMS (96,01%), não diferindo ($P > 0,05$) do controle (T0), e dos tratamentos com ácido propiônico (T4) e com ácido acético (T5).

Apesar da DIVMS da silagem de bagaço de laranja ter sido maior para o tratamento com inoculante microbiano e microbiano/enzimático, também, não diferiu ($P>0,05$) do tratamento controle. De maneira geral, os resultados indicaram que não houve efeito dos inoculantes sobre a DIVMS da SBL, fato também observado por Ítavo et al (2000a,b), que não encontraram diferença significativa para coeficientes de digestibilidade aparente entre as silagens, inferindo-se que os tratamentos com aditivos (enzimático-microbiano, ácidos fórmico e acético) não alteram o valor nutricional do alimento.

A DIVPC variou de 97,43 a 98,11% para a SBL, não diferindo entre os tratamentos. Santos et al (1999) e Ítavo et al (2000a) encontraram para SBL com diferentes aditivos, abertos com 64 dias, valores de 91,80 a 96,66% de DIVPC da SBL. Estes altos valores de digestibilidade *in vitro* da parede celular sugerem que o alto aproveitamento da SBL se deve provavelmente aos baixos valores de lignina no bagaço (1 a 3%), além disso, a pectina é um carboidrato estrutural de alta e rápida degradação ruminal (Van Soest, 1983).

Para a SM observou-se que todas as silagens dos diferentes tratamentos apresentaram maior ($P<0,05$) digestibilidade *in vitro* da MS e da PC (Tabela 5), indicando que os diferentes inoculantes apresentaram efeitos positivos. Efeitos semelhantes dos inoculantes sobre a silagem de milho foram obtidos por Silva et al (2005) e Rocha et al (2006).

Observou-se que as silagens com inoculante microbiano, microbiano/enzimático e ácido propiônico apresentaram maior DIVPB diferindo da silagem sem aditivo, mostrando um efeito positivo desses aditivos independente da silagem analisada.

5.6. CONCLUSÕES

De acordo com as características químicas e parâmetros de fermentação, a silagem de bagaço de laranja pode ser considerada de boa qualidade, não havendo necessidade do uso de aditivos na sua conservação.

Os teores de matéria seca da silagem de milho com ou sem inoculantes foram superiores aos das silagens de bagaço de laranja, sendo que todos os aditivos melhoraram o teor de matéria seca da silagem de milho.

O uso de inoculantes no processo de ensilagem melhorou a digestibilidade da matéria seca e parede celular da silagem de milho, não apresentando efeito sobre a silagem de bagaço de laranja.

O uso de inoculante microbiano/enzimático, enzimático e ácido propiônico aumentou o teor de proteína bruta, bem como sua digestibilidade, independente da silagem avaliada.

5.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS – **Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos**. Disponível em: <http://abecitrus.com.br> Acesso em: 31/08/2006.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A.. *Nutrição Animal – As bases e os fundamentos da nutrição animal – Os alimentos – 5º edição*, São Paulo:Nobel, v 1, 395p, 1981.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. Edited by Kenneth Helrich. Fifteenth edition. Arlington, Virgínia. v.1, 684p, 1990.

ARCHUNDIA, M.E.U.; BOLSEN, K.K.. Aerobic deterioration of silage: processes and prevention. **Science and Technology in the Feed Industry**. In: *Proceeding of Alltech's 17th Annual Symposium*. Edited by LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., p. 127-144, 2001.

BACKES, A.A.; SANCHEZ, L.M.B.; GONÇALVES, M.B.F. Desempenho de Novilhos Santa Gertrudis Confinados Submetidos a Dietas com Diferentes Fontes Protéicas e Silagem de Milho, com ou sem Inoculante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30 (6S), p.2121-2125, 2001.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J.. *Forage fiber analyses; Apparatus, reagents, procedures and some applications*. Washington: USDA/**Agricultural Research Service**. 19p, 1970.

HIGGINBOTHAM, G.E.; MUELLER, S.C.; BOLSEN, K.K.; DePETERS, E.J.. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.8, p.2185-2192, 1998.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro matter digestibility for ten feeds. **J. Dairy Science**, Champaign, v.25, n.8, p.1791-1794, 1999.

ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T. dos; JOBIM, C.C.; VOLTOLINI, T.V.; BORTOLASSI, J.R.; FERREIRA, C.C.B.. Aditivos na conservação do bagaço de laranja “in natura” na forma de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1474-1484, 2000a.

ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T. dos; JOBIM, C.C.; VOLTOLINI, T.V.; FARIA, K.P.; FERREIRA, C.C.B.. Composição e digestibilidade aparente da silagem de bagaço de laranja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1485-1490, 2000b.

KUNG JR., L.. Silage fermentation and additives. **Science and Technology in the Feed Industry**. In: Proceeding of Alltech’s 17th Annual Symposium. Edited by LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., p. 145-159, 2001.

Mc DONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. The biochemistry of silage. 2ed. Marlow: Chalcomb Publication, 1991. 340p.

MEGÍAS, M.D.; MARTINEZ-TERUEL, A.; GALLEGO, J.A.; NÚÑEZ, J.M.. Chemical changes during the ensiling of orange peel. **Animal Feed Science and Technology**, v.43, p.269-274, 1993.

PEREIRA, J.R.A.; REIS, R.A. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 64-86, 2001.

PLAYNE, M.J.; Mc DONALD, P. The buffering constituents of herbage and silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 17, n. 2, p.262-268, 1966.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais. In II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 35-74, 2004.

ROCHA, K.D.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.P.; PACHECO, L.B.B.; CHIZZOTTI, F.H.M.. Valor nutritivo de silagens de milho (*Zea mays* L.) produzidas com inoculantes enzimo-bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.389-395, 2006.

RODRIGUES, P.H.M.; RUZANTE, J.M.; SENATORE, A.L.; LIMA, F.R.; MELOTTI, L.; MEYER, P.M.. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.538-545, 2004.

ROSA, B.; MATOS NETO, J.M.; TAMASSIA, L.F.; CUNHA, P.H.J.; ALMEIDA, P.V.. Composição Bromatológica da Silagem de Milho (*Zea mays* L.) submetida a diferentes

aditivos. In: XXXVII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000. n. 326.

SANTOS, G.T. dos; ÍTAVO, L.C.V.; JOBIM, C.C.; SILVA, E. de C. da; VOLTOLINI, T.V.; FARIA, K.P. Digestibilidade *in vitro* da silagem de bagaço de laranja pelo método da ANKOM® – avaliação da quantidade de material utilizado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. n. NUR131.

SAS – STATÍSTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's guide: statistics. Cary: SAS Institute, 2001.

SILVA, F. C. da . **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes.** EMBRAPA. 370p. 1999.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. de. **Análise de alimentos - métodos químicos e biológicos.** Editora UFV. 2002, 235p.

SILVA, A.V.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; FERREIRA, C.L.L.F.. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1881-1890, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science** v. 70 n. 11, p. 3562-3577, 1992.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A.. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

TOSI, H.; FARIA, V.P.; SILVEIRA, A.C.. Determinação de bases voláteis em silagem. Congresso Brasileiro de Forragens, 1º Anais da X Reunião Anual da SBZ. S1, p.58-59, 1973.

TOSI, H.; JOBIM, C.C.. Conservação de forragens: silagem. In Biotecnologia Industrial volume IV Biotecnologia na produção de alimentos, AQUARONE, E.; BORZANI, W. SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Editora Edgard Blücher Ltda, 491-505, 2001.

VAN SOEST, P. Nutritional Ecology of the Ruminant – Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, the Cellulolytic Fermentation and the Chemistry of Forages and Plant Fibers. O e B Books, Inc. Corvallis, Oregon, 1983, 374p.

6. Artigo 3

EFEITO DE DIFERENTES INOCULANTES SOBRE A ESTABILIDADE AERÓBICA E CONTAGEM MICROBIANA DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE LARANJA E DE MILHO

6.1. RESUMO

Foram confeccionados minisilos experimentais, em delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos (T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%). Os silos foram abertos com 90 dias, arejados, avaliando-se a estabilidade aeróbica e a contagem microbiana, após exposição ao ar, durante cinco dias, mantidos em sala com temperatura controlada (22 a 27°C). Na matéria prima avaliou-se a presença de patulina e fumonisina. O pico de temperatura diferiu entre as silagens de bagaço de laranja (SBL) e de milho (SM) em todos os tratamentos, exceto para as silagens com inoculante enzimático, onde também não houve diferença no tempo para alcançar o pico de temperatura. Nos demais tratamentos, a SM apresentou menor pico de temperatura (31,2 a 34,7°C) e maior tempo para atingir o pico de temperatura (99 a 114h). A SBL com inoculante enzimático demorou mais tempo para atingir o pico de temperatura (104h), apresentando melhor estabilidade aeróbica (65h). Este fato não foi observado para o mesmo tratamento na SM, que apresentou menor estabilidade aeróbica (42h). A SBL tratada com aditivo microbiano/enzimático, que obteve menor estabilidade aeróbica (43h), apresentou maior média de contagem de leveduras (3,76 log UFC/g). A SBL sem inoculante apresentou menor contagem de leveduras durante as 96h de exposição ao ar. De maneira geral, a SBL apresentou médias menores do que a SM para contagem de leveduras em todos os tratamentos. Não foi detectado presença de fungos em nenhum dos tratamentos analisados durante o período de exposição aeróbica, bem como, não foi detectado presença de patulina e fumonisina na matéria prima. Conclui-se que a SM tratada com o inoculante microbiano/enzimático apresentou menor contagem de leveduras e aqueceu mais lentamente. O inoculante enzimático na SBL melhorou a estabilidade aeróbica, levando a silagem a aquecer mais lentamente quando exposta ao ar. A contagem de leveduras foi menor para a SBL sem aditivo, indicando que a ensilagem pode ser uma boa forma de conservação para este subproduto sem haver necessidade do uso de inoculantes em sua conservação.

PALAVRAS CHAVES: ácido acético, ácido propiônico, bactérias, fungos, leveduras, micotoxina

EFFECT OF DIFFERENT INOCULANTS ON AEROBIC STABILITY AND MICROBIAL COUNT OF ORANGE PULP AND CORN SILAGES

6.2. ABSTRACT

Experimental mini-silos were prepared, in completely randomized design distributed in a 2 x 6 factorial arrangement, being two silages (orange pulp and corn) and six treatments (T0 = without inoculant; T1 = with microbial inoculant; T2 = with microbial and enzymatic inoculant; T3 = with enzymatic inoculant; T4 = with propionic acid 15% and T5 = with acetic acid. All silos were opened after 90 days, airy, evaluating the aerobic stability and microbial counting, after aerobic exposition, during five days, stored at ambient temperature (22 to 27°C). In the fresh orange pulp and corn, the patulin and fumonisin presence was evaluated. The temperature peak differed among the orange pulp silage (OPS) and corn silage (CS) in all treatments, except for silage with enzymatic inoculant, where there also was not difference in the time to reach the temperature peak. In the other treatments, the CS presented the lowest temperature peak (31.2 to 34.7°C) and highest time to reach the temperature peak (99 to 114h). The OPS with enzymatic inoculant delayed more time to reach the temperature peak (104h), presenting better aerobic stability (65h). This fact was not observed for the same treatment in the CS that presented lowest aerobic stability (42h). The OPS with microbial and enzymatic additive, had lowest aerobic stability (43h), and presented higher yeast count average (3.76 log CFU/g). The OPS without inoculant presented lowest yeasts count during 96h of air exposure period. In general way, OPS presented lower averages than CS for yeasts count in all treatments. Presence of molds was not detected in none of the treatments analyzed during the period of exhibition aerobics, as well as, patulin and fumonisin presence was not detected in the fresh orange pulp and corn. It can be concluded that the CS treated with microbial/enzymatic inoculant presented lowest yeasts count and it heated more slowly. The enzymatic inoculant in the OPS improved the aerobic stability, and the silage heated more slowly when exposed to air. The yeasts count was lower for OPS without additive, indicating that the orange pulp can be conserved in silage form, without need of additive use.

KEY WORDS: acetic acid, bacteria, mold, mycotoxin, propionic acid, yeast

6.3. INTRODUÇÃO

Na ensilagem, o tipo e o número de bactérias na planta influenciam a fermentação. Em geral, as populações naturais de bactérias ácido lácticas estão em número reduzido e são heterofermentativas, portanto, quando o ar não é removido da massa ensilada, outras fermentações podem ocorrer (Kung Jr., 2001).

A utilização de inoculantes durante o processo de ensilagem pode melhorar o resultado final da fermentação, sendo que alguns aditivos, como o ácido propiônico, são inibidores da degradação aeróbica (Costa et al, 2001), entretanto, não se deve substituir boas técnicas de manejo do silo por aditivos para que não haja redução na qualidade do produto final (Morais, 1995, apud Costa et al, 2001), pois o propósito da ensilagem, além de garantir a fermentação láctica é o de inibir microrganismos como clostrídeos, enterobactérias, leveduras e fungos (Reis et al, 2004).

Estudos contraditórios a respeito do uso de bactérias ácido lácticas homofermentativas na silagem tem sido encontrados na literatura. Segundo Archundia & Bolsen (2001), essas bactérias tem melhorado a qualidade da silagem, entretanto, a estabilidade aeróbica tem sido pior, sendo que a vantagem está na rápida produção de ácido láctico resultando em rápida diminuição do pH. Por outro lado, Kung Jr. (2001), relatou que a inoculação com bactérias ácido lácticas homofermentativas tem melhorado a estabilidade aeróbica, e que nos casos em que ocorre uma piora na estabilidade isto se deve, provavelmente, à baixa produção de ácido acético e outros produtos finais que são potencialmente antifúngicos.

O uso de bactérias heteroláticas são mais eficientes por produzirem outros compostos além do ácido láctico. As bactérias heteroláticas como *Lactobacillus plantarum* são selecionadas devido ao seu rápido crescimento, produção de ácido láctico e acético e sua habilidade em suprimir o crescimento de cinco cepas de leveduras que causam deterioração na silagem de milho. Além das bactérias, o uso de ácido propiônico, que possui atividade

antimicótica, reduz fungos e leveduras, responsáveis pela deterioração aeróbica da silagem (Kung Jr., 2001).

A eficiência do uso de inoculantes na silagem depende da quantidade e qualidade dos microrganismos existentes na cultura e do poder tampão da mesma (Costa et al, 2001).

Os principais organismos associados com a deterioração aeróbica da silagem são os fungos e leveduras que apresentam alta resistência às variações de pH e sobrevivem em meio anaeróbio, seguidos numa fase subsequente, por bactérias (*Bacillus cereus*, *B. firmes*, *B. lentus* e *B. sphaericus*) que podem estar envolvidas no processo de deterioração (Pereira & Reis, 2001). Em silagens, os fatores importantes para preservação do valor nutritivo do material ensilado são: manter o ambiente em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbica durante a fase de fornecimento no cocho.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes inoculantes sobre a estabilidade aeróbica das silagens e contagem microbiana durante o período de cinco dias de exposição ao ar, bem como a presença de micotoxina no material *in natura*.

6.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

As silagens de bagaço de laranja e de milho foram confeccionadas em baldes de polietileno de 16,5 cm de diâmetro x 19 cm de altura, com capacidade para 3,6 kg, que foram imediatamente lacrados. Para a ensilagem, o milho (cultivar BRS 4157) foi cortado no estágio de grão farináceo. O bagaço de laranja foi fornecido pela Cooperativa Agropecuária de Rolândia – COROL.

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuído em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos: T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano (Maize-All[®]: *Streptococcus faecium* – 1,0 x 10¹⁰ UFC/g; *Lactobacillus plantarum* – 1,0 x 10¹⁰ UFC/g; *Pediococcus acidilacti* – 1,0 x 10⁹ UFC/g – Alltech do Brasil); T2 = com inoculante microbiano e enzimático (Lacto silo[®]: *Lactobacillus curvatus*, *L. Acidophilus*, *L. Plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *L. spp.* (*Enterococcus faecium* e Bactéria láctica sorgo S1) e enzimas celulolíticas – Nitral Urbana–Brasil, contendo 1,0 x 10⁹ UFC/g e 4% de enzimas); T3 = com inoculante enzimático (Lacto silo[®] Complexo enzimático – Nitral Urbana – Brasil); T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%. Os inoculantes foram acrescentados na base da matéria natural, conforme recomendações dos fabricantes.

Após a abertura dos silos aos 90 dias, desprezou-se a camada superficial e o conteúdo ensilado foi descompactado, favorecendo a penetração de ar, ficando cada silo com 2,0 kg de silagem para se estudar o efeito dos inoculantes sobre a estabilidade aeróbica e contagem microbiana, após exposição ao ar. Os silos foram mantidos em sala com temperatura controlada (22 a 27°C), durante cinco dias, sendo utilizadas três repetições de cada tratamento para avaliação da estabilidade aeróbica e três para contagem microbiana. Também foi realizada análise de patulina e fumonisina na matéria-prima (bagaço de laranja e milho *in natura*), sendo que estas análises seriam realizadas nos diferentes tratamentos, apenas se houvesse presença das micotoxinas no material *in natura*, sem aditivo.

O estudo da estabilidade aeróbica foi realizado conforme metodologia recomendada por Ranjit & Kung Jr. (2000). A temperatura da sala e do centro do silo foram monitoradas a cada 2 horas durante 5 dias. Utilizou-se um termômetro de ambiente (termômetro de máxima e mínima) para o controle da temperatura da sala e um termômetro digital (GULterm 180 – Gulton do Brasil Ltda) com leitura de –30°C a +180°C para medir a temperatura do silo,

introduzindo-se a ponta de inox no centro do silo. A estabilidade aeróbica foi definida como o número de horas em que a massa ensilada permaneceu estável antes de atingir mais do que 2°C acima da temperatura ambiente da sala onde permaneceram os silos (Moran et al, 1996).

Foram coletadas amostras diárias para contagem de bactérias ácido lácticas, fungos e leveduras. A contagem de bactérias ácido lácticas foi realizada conforme metodologia descrita por Ranjit & Kung Jr. (2000) com adaptações para as condições do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL. Vinte e cinco gramas de forragem fresca de cada tratamento foram homogeneizadas com 225 mL de solução estéril de água peptonada a 0,1%. Para contagem de lactobacilos, fungos e leveduras foram realizadas diluições sucessivas em solução estéril de água peptonada a 0,1%. Para bactérias ácido lácticas as amostras foram plaqueadas em ágar MRS (Man Rogosa Sharpe), incubadas anaerobicamente a 32°C por 48 horas. Para fungos e leveduras as amostras foram plaqueadas em ágar extrato de malte previamente acidificado pela adição de ácido láctico a 85% a uma taxa de 0,5% vol/vol e incubadas aerobicamente a 25°C por 120 horas. O número de lactobacilos viáveis, fungos e leveduras foram determinados por contagem das colônias nas placas contendo o mínimo de 30 colônias (Kung Jr. & Ranjit, 2001), sendo os dados transformados em \log_{10} para realização da análise estatística.

As micotoxinas foram determinadas no material *in natura*, bagaço de laranja e milho sem aditivo, sendo a patulina determinada de acordo com metodologia descrita por AOAC (2000) e fumonisina de acordo com Shephard et al (1990), adaptado por Ueno et al (1993).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAS (2001), conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + T_j + (S_i \times T_j) + \epsilon_{ij}$$

sendo: Y_{ij} = Parâmetros de estabilidade aeróbica e quantificação microbiana no tipo de silagem i, no inoculante j;

μ = média geral;

S_i = efeito do tipo de silagem i ($i = 1, 2$);

T_j = efeito do tipo de inoculante j ($j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$);

$(S_i \times T_j)$ = efeito da interação ($S_i \times T_j$);

ε_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, e a diferença de temperatura através de análise de regressão.

6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.5.1. Estabilidade aeróbica das silagens

Na Tabela 1 encontram-se os dados de pico de temperatura, tempo para alcançar o pico de temperatura e estabilidade aeróbica das silagens de bagaço de laranja e de milho nos diferentes tratamentos, durante exposição aeróbica. Houve interação entre silagem e tratamento para todas as variáveis analisadas.

Tabela 1. Efeito dos inoculantes sobre o pico de temperatura (PT), tempo para alcançar o pico de temperatura (TPT) e estabilidade aeróbica (EA) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos, durante exposição aeróbica.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
PT (°C)	SBL	35,9Ab	38,1Aa	38,7Aa	34,4Ab	38,6Aa	38,1Aa
	SM	31,2Bb	34,9Ba	32,0Bb	34,0Aa	34,7Ba	34,4Ba
TPT (h)	SBL	88Bb	79Bbc	76Bc	104Aa	75Bc	75Bc
	SM	111Aa	109Aab	113Aa	99Ab	114Aa	104Aab
EA (h)	SBL	59Aab	54Abc	43Bd	65Aa	47Bcd	45Bcd
	SM	54Aa	62Aa	63Aa	42Bb	61Aa	57Aa

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%; CV PT = 2,52; CV TPT = 7,11; CV EA = 12,04. Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas na coluna, dentro de componente analisado e minúsculas na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

O pico de temperatura diferiu entre as silagens de bagaço de laranja e de milho em todos os tratamentos, exceto para as silagens com inoculante enzimático, onde também não houve diferença no tempo para alcançar o pico de temperatura (Tabela 1). A silagem de bagaço de laranja com inoculante enzimático apresentou menor pico de temperatura, entretanto, não diferiu do controle, indicando que os aditivos utilizados não ajudaram a manter uma menor temperatura na silagem de bagaço de laranja, fato também observado na silagem de milho, onde o menor pico de temperatura foi observado para a silagem controle (31,2°C) que não diferiu da silagem com inoculante microbiano/enzimático.

De maneira geral, a silagem de bagaço de laranja apresentou maiores picos de temperatura, atingindo esses picos mais rápido do que a silagem de milho (Tabela 1).

A silagem de bagaço de laranja com inoculante enzimático demorou mais tempo para atingir o pico de temperatura (104h), diferindo dos demais tratamentos da SBL, apresentando melhor estabilidade aeróbica (65h). Este fato não foi observado para o mesmo tratamento na SM, que apresentou menor estabilidade aeróbica (42h), indicando que o uso exclusivo de aditivo enzimático na SM não melhorou a preservação da mesma, entretanto teve efeito contrário na SBL após exposição ao ar.

A silagem de milho, inoculada com ácido propiônico demorou mais tempo para alcançar o pico de temperatura (114 h), não diferindo dos demais tratamentos da SM, exceto daquela com inoculante enzimático que atingiu o pico de temperatura mais rápido (99 h). Os tempos para alcançar o pico de temperatura foram superiores aos observados por Gimenez (2003) que encontrou valores de 34 a 63h, com picos de temperatura de 33 a 42°C, para silagem de milho com e sem aditivo.

A estabilidade aeróbica observada neste trabalho foi melhor do que a obtida por Ranjit & Kung Jr. (2000) que relataram valores variando de 26,5 a 37h e semelhante ao valor observado por Taylor & Kung Jr. (2002) para silagem de milho controle (47h). A estabilidade

aeróbica da silagem de milho, exceto daquela com inoculante enzimático, foi superior aos valores obtidos por Gimenes (2003), que variaram de 25 a 50h para silagem de milho com e sem aditivo.

Apesar do efeito positivo do inoculante enzimático sobre a estabilidade aeróbica da silagem de bagaço de laranja, não houve diferença entre a mesma com a silagem controle. O uso de inoculantes apresentou um pequeno efeito na estabilidade aeróbica da silagem de milho, apesar de não ter diferido da silagem controle. A ausência de uma melhora consistente na estabilidade aeróbica da silagem com inoculantes também foi observada por Kleinschmit & Kung Jr. (2006) que sugeriram que outros microrganismos além das leveduras seriam responsáveis pela instabilidade da silagem, pois o número de leveduras em seu experimento foi menor para as silagens tratadas.

Talvez o uso desses inoculantes seja mais eficiente quando as condições na ensilagem não forem adequadas, tais como: planta excessivamente verde ou seca, em casos de restrição climática, ou após uma forte geada, onde a população natural da planta é menor ou menos competitiva do que as bactérias contidas no inoculante, tamanho de partícula acima do ideal, má compactação, lentidão no enchimento do silo, silos superdimensionados e não remoção da silagem a taxas satisfatórias, aumentando o risco de superaquecimento da massa.

Segundo Reis et al (2004), quando se utiliza aditivos heterofermentativos (*L. buchneri*), observa-se uma ação positiva sobre a estabilidade aeróbica da silagem, pois ocorre produção de ácido acético durante o processo fermentativo, que atua sobre o metabolismo de leveduras e fungos. Portanto, a composição do aditivo utilizado, pode explicar seu fraco efeito sobre a EA das silagens. Além disso, a ausência de efeito dos inoculantes sobre a SBL pode estar relacionada ao fato desses inoculantes não serem específicos para utilização em subprodutos da indústria alimentícia.

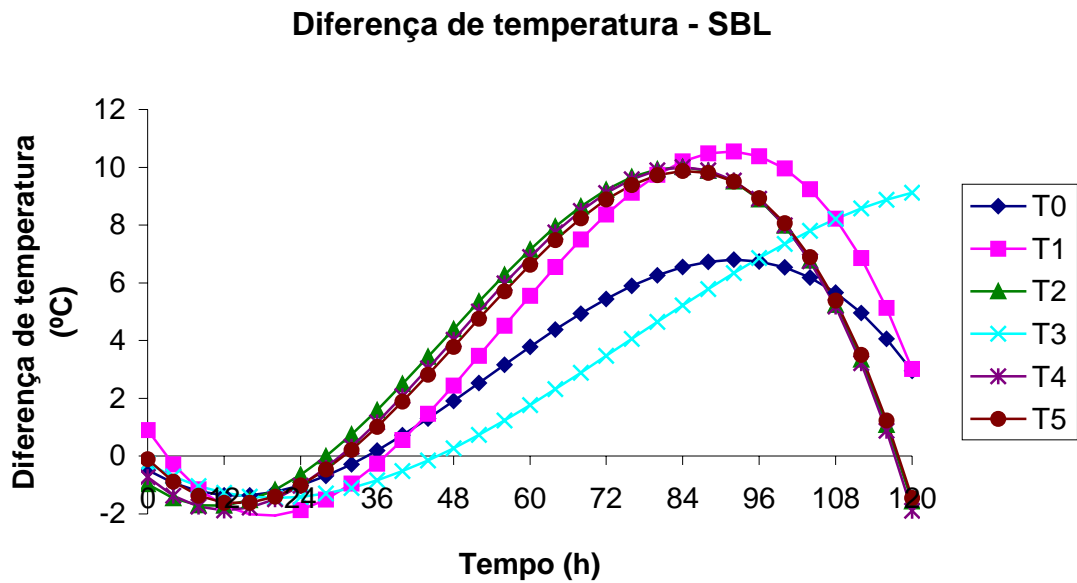
Houve efeito cúbico em quase todos os tratamentos, conforme pode ser observado pelas equações de regressão da diferença de temperatura das silagens nos diferentes tratamentos, contidos na Tabela 2.

Tabela 2. Equações de regressão da diferença de temperatura das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos em função do tempo (h) de exposição ao ar.

Tratamento	Silagem de bagaço de laranja (SBL)	R ²	CV
T0	$Y = -0,47788 - 0,13372 X + 0,00547 X^2 - 0,00003431 X^3$	65,07	76,84
T1	$Y = 0,90413 - 0,33984 X + 0,01093 X^2 - 0,00006626 X^3$	93,64	27,94
T2	$Y = -0,97250 - 0,15390 X + 0,00840 X^2 - 0,00005966 X^3$	91,48	31,10
T3	$Y = -0,25473 - 0,12555 X + 0,00361 X^2 - 0,00001594 X^3$	90,61	44,39
T4	$Y = -0,72212 - 0,19784 X + 0,00926 X^2 - 0,00006410 X^3$	89,27	37,31
T5	$Y = -0,11077 - 0,23056 X + 0,00960 X^2 - 0,00006476 X^3$	91,10	32,47
Silagem de milho (SM)			
T0	$Y = -0,83688 + 0,05126 X$	78,04	43,01
T1	$Y = 0,42967 - 0,08177 X + 0,00236 X^2 - 0,00000909 X^3$	92,00	30,71
T2	$Y = 0,00844 - 0,00947 X + 0,00055150 X^2$ (Pmín = 8,58)	86,78	38,96
T3	$Y = 0,09366 - 0,09676 X + 0,00400 X^2 - 0,00002322 X^3$	91,52	26,37
T4	$Y = -0,32830 - 0,01016 X + 0,00073743 X^2$ (Pmín = 6,89)	91,75	33,05
T5	$Y = 0,65233 - 0,17415 X + 0,00554 X^2 - 0,00003065 X^3$	93,57	25,21

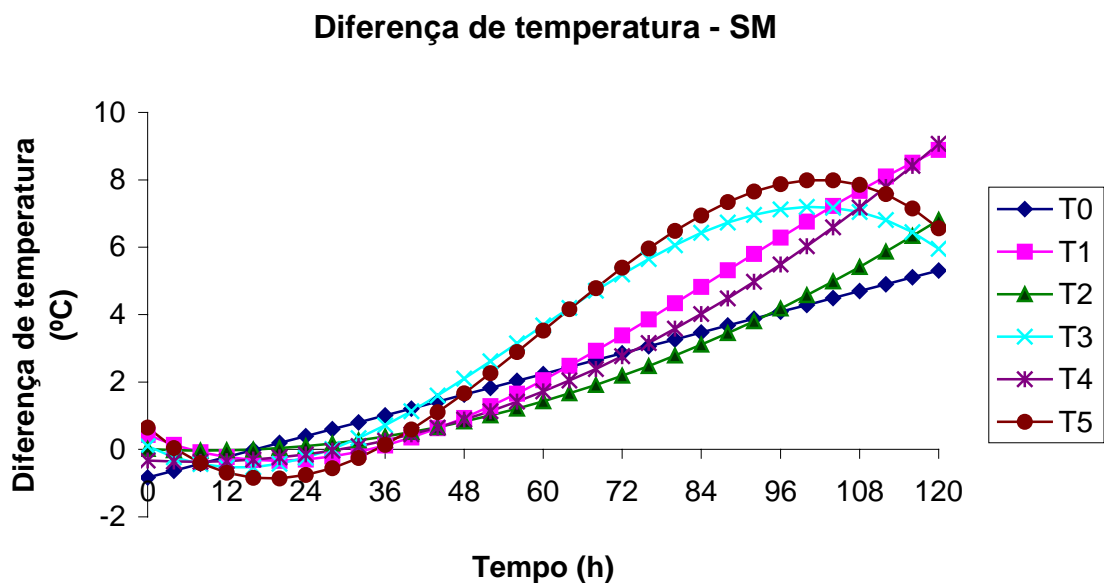
T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%.

Nas figuras estão representados os efeitos dos inoculantes sobre a diferença de temperatura da silagem de bagaço de laranja (Figura 1) e da silagem de milho (Figura 2).



T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%.

Figura 1. Efeito dos inoculantes sobre a diferença de temperatura da silagem de bagaço de laranja (SBL) durante exposição aeróbica.



T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%.

Figura 2. Efeito dos inoculantes sobre a diferença de temperatura da silagem de milho (SM) durante exposição aeróbica.

Observa-se na Figura 1 que a silagem de bagaço de laranja tratada com inoculante enzimático, aqueceu mais lentamente do que os outros tratamentos, fato não observado na

silagem de milho, onde o tratamento que aqueceu mais lentamente foi o da silagem de milho com inoculante microbiano/enzimático (Figura 2).

6.5.2. Contagem microbiana nas silagens

A Tabela 3 mostra o efeito dos inoculantes sobre a média de contagem de bactérias e leveduras nos diferentes tratamentos, após exposição ao ar. Houve interação entre silagem e tratamento para a contagem de bactérias e de leveduras. A Tabela 4 mostra a contagem de bactérias e leveduras das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos, durante exposição aeróbica.

Tabela 3. Efeito dos inoculantes sobre a média da contagem de bactérias e leveduras das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos, após cinco dias de exposição ao ar.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
Bactérias (log UFC/g)	SBL	5,55Bd	6,34Bb	7,29Aa	6,04Bc	5,57Bd	5,49Bd
	SM	7,59Aa	7,38Acb	7,44Ab	7,26Ac	7,47Aab	7,62Aa
Leveduras (log UFC/g)	SBL	1,81Be	2,39Bd	3,76Ba	2,59Bc	2,34Bd	2,77Bb
	SM	6,56Ae	6,72Ad	5,58Af	7,11Ab	7,00Ac	7,56Aa

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%; CV Bactérias = 1,37; CV Leveduras = 2,39. Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna, dentro de componente analisado e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

A silagem de bagaço de laranja tratada com aditivo microbiano/enzimático (T2), que obteve menor estabilidade aeróbica (43h), apresentou maior média de contagem de leveduras (3,76 log UFC/g) entre os tratamentos da SBL (Tabela 3). Observou-se que na SM que havia apresentado menor estabilidade aeróbica (T3), houve a segunda maior contagem de leveduras (7,11 log UFC/g) entre os tratamentos (Tabela 3).

A SBL apresentou médias menores ($P < 0,05$) do que a SM para contagem de leveduras em todos os tratamentos (Tabela 3), indicando que a ensilagem pode ser uma boa forma de

conservação para este subproduto, sem necessidade do uso de aditivos, uma vez que a SBL sem inoculante apresentou menor média de contagem de leveduras, indicando que esta silagem possui boa conservação apesar de apresentar menor estabilidade aeróbica quando comparada com a silagem de milho.

A deterioração aeróbica da silagem está associada, principalmente, com o desenvolvimento de fungos e leveduras, sendo o processo iniciado pelas leveduras, que apresentam alta resistência às variações de pH e sobrevivem em meio anaeróbico, acompanhadas subsequentemente pelo crescimento de bactérias, que podem estar envolvidas no processo de deterioração (Tosi & Jobim, 2001).

A SM apresentou maior média de contagem bacteriana (Tabela 3) quando comparada com a SBL, exceto para o tratamento com inoculante microbiano/enzimático, onde as duas silagens não diferiram ($P>0,05$). Quando se avaliou as horas de exposição ao ar (Tabela 4), observou-se que a silagem de milho apresentou maiores contagens, em todos os tempos analisados e em todos os tratamentos, exceto no tratamento com inoculante microbiano/enzimático.

Entretanto, não foi realizada identificação das bactérias, o que pode indicar que as altas contagens de bactérias podem estar relacionadas com o processo de deterioração junto com as leveduras e os fungos, não sendo portanto, exclusivamente bactérias ácido lácticas, uma vez que todos os tratamentos nas duas silagens aumentaram a contagem de bactérias de acordo com o período de exposição ao ar.

A contagem de bactérias nas duas silagens foram inferiores aos relatados por Ashbell & Weinberg (1988) e Higginbotham et al (1998), respectivamente, para silagem de bagaço de laranja tratada ou não (6,27 a 8,47 log UFC/g) e silagem de milho com diferentes aditivos bacterianos, após 7 dias de exposição ao ar (8,0 a 8,7 log UFC/g).

Em geral, segundo Kung Jr. & Stokes (2003), silagens que apresentam mais do que 5,00 log UFC de leveduras/g de silagem são mais propensas à deterioração aeróbica, devido à ação das leveduras que degradam o ácido láctico e são a causa primária da deterioração da silagem.

Portanto, isto indica que a SM tem probabilidade de apodrecer mais rapidamente do que a SBL quando exposta ao ar, uma vez que o único tratamento que apresentou níveis menores de levedura após 24 horas de exposição, foi aquela tratada com inoculante microbiano/enzimático (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem de bactérias e leveduras das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos, durante exposição aeróbica.

		Bactérias (log UFC/g)			
Trat	Sil	24h	48h	72h	96h
T0	SBL	5,00Gb	5,00Fb	6,19Fa	6,01Fa
	SM	7,57Aa	7,68Aa	7,38Cb	7,71Ca
T1	SBL	6,26Db	6,00Dc	6,54Da	6,58Ea
	SM	7,20Bb	7,32Bb	7,38Cb	7,63Ca
T2	SBL	7,04BCc	7,02Cc	7,33Cb	7,77Ca
	SM	7,62Ab	7,03Cc	7,91Ba	7,19Dc
T3	SBL	5,50Fc	5,24Ed	6,39Deb	7,02Da
	SM	5,61Efd	7,13Cc	7,84Bb	8,46Aa
T4	SBL	5,71Eb	4,39Hc	5,62Gb	6,55Ea
	SM	6,99Cc	7,06Cc	7,74Bb	8,10Ba
T5	SBL	4,54Hc	4,74Gb	6,27Efa	6,41Ea
	SM	6,22Dc	7,17BCb	8,45Aa	8,63Aa
		Leveduras (log UFC/g)			
T0	SBL	1,00Gc	1,00Ic	2,00Ib	3,24Ha
	SM	4,93Cd	6,42Dc	7,14Db	7,77Ca
T1	SBL	1,00Gc	2,16Hb	3,20Fga	3,19Ha
	SM	5,26Abd	6,76BCc	7,27Db	7,57Ca
T2	SBL	3,06Dc	3,11Fbc	3,31Fb	5,56Ea
	SM	3,00Dd	5,87Ec	6,38Eb	7,06Da
T3	SBL	2,00Ec	2,00Hc	2,38Hb	3,97Fga
	SM	5,14BCd	6,67Cc	7,99Bb	8,66Aa
T4	SBL	1,30Fc	1,15Ic	3,05Gb	3,86Ga
	SM	5,21Abd	6,90Bc	7,74Cb	8,15Ba
T5	SBL	1,39Fd	2,54Gc	3,00Gb	4,15Fa
	SM	5,37Ac	7,63Ab	8,60Aa	8,63Aa

T0 = sem inoculante; T1 = com inoculante microbiano; T2 = com inoculante microbiano e enzimático; T3 = com inoculante enzimático; T4 = com ácido propiônico a 15% e T5 = com ácido acético a 15%. Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna, dentro de componente analisado e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

A SBL apresentou níveis maiores que 5,00 log UFC de leveduras/g quando foi tratada com inoculante microbiano/enzimático (5,56 log UFC/g), entretanto, este valor foi observado somente após 96 horas de exposição aeróbica (Tabela 4).

A contagem de leveduras da SM foi próxima aos valores observados por Ranjit & Kung Jr (2000), que exceto no tratamento com *L. Buchneri* (1×10^6 UFC/g), onde obtiveram 2,01 log UFC/g, os outros tratamentos com inoculantes e ácido propiônico, apresentaram valores que variaram de 5,63 a 6,04 log UFC/g para silagem de milho com diferentes aditivos,

aberta com 100 dias de ensilagem. Entretanto, foi superior aos valores observados por Taylor & Kung Jr. (2002), para silagem de milho aberta com 92 dias, onde observaram valores que variaram de 2,12 a 3,25 log UFC/g.

De acordo com Tosi & Jobim (2001), silagens que na abertura do silo apresentam contagem de 6 log UFC de leveduras/g de silagem podem, em dois ou três dias, atingir 9 log UFC/g, sendo consideradas de baixa estabilidade. Neste experimento, as silagens que chegaram mais próximas a 9 log UFC/g foram as silagens de milho com inoculante enzimático, ácido propiônico e ácido acético (Tabela 4), ficando a SBL com contagem de leveduras bem inferiores, indicando possuir uma boa estabilidade.

De acordo com Archundia & Bolsen (2001), a contagem de leveduras pode ser de valores menores que 1 log UFC/g para silagem bem preservada, até 12 log UFC/g para silagem deteriorada aerobicamente, sendo que silagens com 5 log UFC/g são muito susceptíveis a deterioração aeróbica.

Não foi detectado presença de fungos (<1,0 log UFC/g na silagem de bagaço de laranja e <2,0 log UFC/g na silagem de milho) em nenhum dos tratamentos analisados durante o período de exposição aeróbica, também não sendo detectado presença de patulina e fumonisina na matéria prima. Taylor & Kung Jr. (2002) também não detectaram presença de fungos (<2,0 log UFC/g) nas silagens de milho abertas com 14, 49 e 92 dias de ensilagem, entretanto observaram níveis de 2,23 log UFC/g na silagem controle aberta com 166 dias.

Os resultados obtidos divergem daqueles encontrados por Higginbotham et al (1998) em experimento com silagem de milho, onde observaram presença de fungos após 7 dias de exposição ao ar, variando de 7,1 a 8,3 log UFC/g e de leveduras variando de 5,1 a 9,0 log UFC/g e 8,2 a 9,1 log UFC/g, respectivamente, para 0 e 7 dias de exposição aeróbica.

Não se observou efeito do ácido propiônico nas silagens. De acordo com Woolford (1999), se o ácido propiônico exógeno for aplicado em níveis sub-inibidores, pode induzir a

deterioração aeróbica, servindo de substrato para os microrganismos que deterioram a silagem.

6.6. CONCLUSÕES

A silagem de bagaço de laranja apesar da menor estabilidade aeróbica, apresentou menor quantidade de leveduras do que a silagem de milho, indicando que a ensilagem pode ser uma boa forma de conservação para este subproduto não havendo necessidade do uso de aditivos em sua conservação.

A silagem de milho apresenta melhor estabilidade aeróbica do que a silagem de bagaço de laranja, havendo efeito positivo somente do inoculante microbiano/enzimático sobre a contagem de leveduras da silagem de milho.

6.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 2000.
- ARCHUNDIA, M.E.U.; BOLSEN, K.K.. Aerobic deterioration of silage: processes and prevention. **Science and Technology in the Feed Industry**. In: Proceeding of Alltech's 17th Annual Symposium. Edited by LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., p. 127-144, 2001.
- ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G. Orange Pells: The effect of blanching and calcium hydroxide addition on ensiling losses. **Biological Wastes**, v. 23, p. 73-77, 1988.
- COSTA, C.; MONTEIRO, A.L.G.; BERTO, D.A.; ALMEIDA JUNIOR, G.A.; LOPES, A.B.R.C. Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 87-126, 2001.
- GIMENES, A.L.G. Avaliação nutricional de silagens de milho preparadas com inoculantes bacterianos enzimáticos. Dissertação de mestrado em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina, 73p., 2003.

HIGGINBOTHAM, G.E.; MUELLER, S.C.; BOLSEN, K.K.; DePETERS, E.J.. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.8, p.2185-2192, 1998.

KLEINSCHMIT, D.H.; KUNG, JR., L. The Effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the Fermentation of Corn Silage. **Journal of Dairy Science**, v.89, p. 3999-4004, 2006.

KUNG JR., L.. Silage fermentation and additives. **Science and Technology in the Feed Industry**. In: Proceeding of Alltech's 17th Annual Symposium. Edited by LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., p. 145-159, 2001.

KUNG Jr., L.; RANJIT, N.K.. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1149-1155, 2001.

KUNG Jr., L.; STOKES, M.R. Analyzing silages for fermentation end products. Disponível em: http://ag.udel.edu/departments/anfs/faculty/kung/articles/analyzing_silages_for_ferme.. acesso em 22/04/2003

MORAN, J.P.; WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; OWEN, T.R.. A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. **Proc. XI Int. Silage Conf. Univ. Of Wales**, Aberystwyth, UK, pages 162-163, 1996.

PEREIRA, J.R.A.; REIS, R.A. Produção de silagem pré-secada com forrageiras temperadas e tropicais. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 64-86, 2001.

RANJIT, N. K., KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal Dairy Science**, v.83, n. 3, p. 526-535. 2000.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais. In II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 35-74, 2004.

SAS – STATÍSTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's guide: statistics. Cary: SAS Institute, 2001.

SHEPARD, G. S.; SYDENHAM, E. W.; THIEL, P. G. AND GELDERBLUM, W. C. A. Quantitative determination of fumonisins B1 and B2 by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Liquid Chromatography**, v 13, p. 2077-2087, 1990.

TOSI, H.; JOBIM, C.C.. Conservação de forragens: silagem. In **Biotechnology Industrial volume IV Biotechnology na produção de alimentos**, AQUARONE, E.; BORZANI, W. SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Editora Edgard Blücher Ltda, 491-505, 2001.

TAYLOR, C.C.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. *Journal Dairy Science*, v.85, n. 6, p. 1526-1532. 2002.

UENO, Y.; AOYAMA, S.; SUGIURA, Y.; WANG, D.S.; LEE, U.S.; HIROOKA, E.Y.; HARA, S.; KARKI, T.; CHEN G. AND YU, S.Z. A limited survey of fumonisins in corn and corn-based products in Asian countries. *Mycotoxin Research*, v.9, p.27-34, 1993.

WOOLFORD, M. **Ciência e tecnologia na produção de silagem**. Kentucky: Alltech Biotechnology Center, 1999, 59p.

7. Artigo 4

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE LARANJA E DE MILHO COM DIFERENTES ADITIVOS PROTÉICOS

7.1. RESUMO

Foram confeccionados minisilos experimentais, em delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos (T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol). Os aditivos protéicos foram adicionados para que cada silagem obtivesse um teor protéico ao redor de 10%. Os silos foram abertos com 90 dias. Foram determinados pH, ácido láctico (AL), nitrogênio amoniacal (NNH₃), capacidade tampão (CATP), matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas para cálculo de matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), cálcio (Ca) e digestibilidade *in vitro* (DIV). Os aditivos protéicos aumentaram (P<0,05) os teores de MS das silagens sendo que a silagem de bagaço de laranja (SBL) e de milho (SM) adicionados de farelo de girassol (28,38%) e esterco de poedeira (43,50%) apresentaram os maiores teores de MS, respectivamente. A matéria orgânica da SBL, com exceção da silagem com uréia, foi superior à SM, variando de 90,17 a 93,78% na SBL e de 85,35 a 93,34% na SM. O pH das silagens variou de 3,41 a 4,09, sendo que o maior pH observado nas duas silagens foi com esterco de poedeira (3,73 e 4,09, respectivamente para SBL e SM). A CATP variou de 66,44 a 90,07 n.e.mg HCl/100g MS para SBL e de 42,43 a 69,43 n.e.mg HCl/100g MS para SM. Os teores de AL nas SBL (4,17 a 5,68%) foram muito superiores ao da SM (1,97 a 3,41%). A silagem de bagaço de laranja apresentou maior digestibilidade *in vitro* da matéria seca, parede celular e proteína bruta quando comparada à silagem de milho em todos os tratamentos. Conclui-se que as silagens apresentaram pH adequado para boa fermentação, sendo que a SBL, apesar da maior capacidade tampão, apresentou maior produção de ácido láctico, indicando ser adequadamente preservada na forma de silagem com aditivos protéicos, sendo altamente digestível. O uso de aditivo protéico na silagem de milho melhora sua digestibilidade e produção de ácido láctico.

PALAVRAS CHAVES: ácido láctico, capacidade tampão, farelo de algodão, farelo de girassol, farelo de soja, uréia

CHEMICAL CHARACTERISTICS, FERMENTATION PARAMETERS AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF ORANGE PULP AND CORN SILAGES WITH DIFFERENT PROTEIN ADDITIVES

7.2. ABSTRACT

Experimental mini-silos were prepared, in a completely randomized design distributed in a 2 x 6 factorial arrangement, being two silages (orange pulp and corn) and six treatments (T0 = without protein source; T1 = with urea; T2 = with soybean meal; T3 = with cotton seed meal; T4 = with poultry waste and T5 = with sunflower meal. The protein additives were added to each silage to achieve about 10% protein. The silos were opened at the 90 days. The following determinations were accomplished: pH, lactic acid (LA), ammonia-N (NH₃-N), buffering capacity (BC), dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), ashes for calculation of organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), total carbohydrates (TC), calcium (Ca) and *in vitro* digestibility (IVD). The protein additives increased (P<0.05) the DM averages of the silages, being that the orange pulp silage (OPS) and corn silage (CS) added of sunflower meal (28.38%) and poultry waste (43.50%), presented the highest DM values, respectively. The organic matter of OPS, except for the silage with urea, was superior to CS, varying from 90.17 to 93.78% in OPS and from 85.35 to 93.34% in CS. The pH of silages varied from 3.41 to 4.09, and the highest pH observed in the two silages was with poultry waste (3.73 and 4.09, respectively for OPS and CS). BC varied from 66.44 to 90.07 meq HCl/100g of DM for OPS and from 42.43 to 69.43 meq HCl/100g of DM for CS. The LA content in OPS (4.17 to 5.68%) were very superior to the CS (1.97 to 3.41%). The orange pulp silage presented higher *in vitro* digestibility of dry matter, cellular wall and crude protein when compared to the corn silage in all treatments. It can be concluded that the silages presented appropriate pH for good fermentation, and OPS, in spite of the highest buffering capacity, presented high production of lactic acid, indicating to be preserved in silage form with protein source and highly digestible. The use of protein additive in corn silage improves its digestibility and lactic acid production.

KEY WORDS: buffering capacity, cotton seed meal, lactic acid, soybean meal, sunflower meal, urea

7.3. INTRODUÇÃO

A conservação dos alimentos em forma de silagem está sujeito a grandes variações, uma vez que a conservação depende da fermentação natural dos açúcares a ácidos, sob condições anaeróbicas, pelas bactérias ácido lácticas, produzindo como produto final principalmente o ácido láctico e o ácido acético (Santos et al, 2001), sendo as alterações ocorridas durante os primeiros dias após a ensilagem, críticas para o sucesso da fermentação (Castro et al, 2006).

De acordo com Kung Jr. (2001), os três fatores mais importantes para que se tenha uma boa silagem são a rápida remoção do ar, rápida produção de ácido láctico que resulta em declínio do pH e a continuação da exclusão do ar da massa ensilada durante o período de armazenagem e fornecimento.

A rápida redução do pH ajuda a limitar a degradação da proteína do material ensilado pela inativação das proteases da planta e também inibe o crescimento de microrganismos anaeróbicos indesejáveis como as enterobactérias e os clostrídeos (Kung Jr., 2001).

O uso de aditivos na ensilagem possui duas finalidades principais: influenciar o curso da fermentação, favorecendo a preservação e alterar a composição, melhorando o valor nutritivo (Van Soest, 1983; Backes et al, 2001). Os aditivos estimulantes da fermentação, como os que elevam o conteúdo de matéria seca e carboidratos solúveis, aumentam a produção de ácido láctico, conseqüentemente, diminuindo o pH, além de minimizar as perdas de matéria seca (Reis et al, 2004). Uma série de mudanças na composição química ocorrem durante o processo de fermentação no silo, principalmente na proteína bruta, devido a ação de proteases da planta ou degradação pela atividade microbiana indesejável (Reis et al, 2004).

O uso de ingredientes secos na ensilagem absorve a umidade e eleva o teor de matéria seca da silagem, estabilizando a fermentação láctica. Segundo Van Soest (1983), o objetivo da

preservação é conservar a digestibilidade dos nutrientes tão eficiente quanto possível, recuperando os nutrientes e resultando em um produto final de qualidade. Uma boa preservação através da fermentação depende da produção de ácido lático para estabilizar a silagem em baixo pH e isto depende de um adequado suprimento de açúcar para que haja uma produção adequada de ácido que se sobreponha à capacidade tampão da forragem (Van Soest, 1983).

Alternativas alimentares que minimizam o custo da ração e possam substituir silagens tradicionais, como a silagem de milho, tem sido amplamente pesquisadas. De acordo com Carvalho (1995), os subprodutos cítricos possuem boas qualidades nutricionais e sua época de produção é extremamente favorável, pois coincide com a entressafra de grãos como o milho, e com o período de escassez de forragem.

Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes aditivos protéicos sobre as características químicas, fermentação e a digestibilidade *in vitro* das silagens de bagaço de laranja e de milho.

7.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Metabolismo Animal dos Departamentos de Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina e da Universidade Estadual de Maringá.

As silagens de bagaço de laranja e milho foram confeccionadas em baldes de polietileno de 16,5 cm de diâmetro x 19 cm de altura, com capacidade para 3,6 kg, que foram imediatamente lacrados. Para ensilagem, o milho (cultivar BRS 4157) foi cortado no estágio de grão farináceo. O bagaço de laranja foi fornecido pela Cooperativa agropecuária de Rolândia – COROL.

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuído em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e de milho) e 6 tratamentos (T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol), com três repetições. Os aditivos protéicos foram adicionados para que cada silagem obtivesse um teor protéico ao redor de 10%.

A composição química do bagaço de laranja e do milho *in natura* e os teores de matéria seca e proteína bruta dos aditivos protéicos podem ser observadas nas Tabela 1 e 2.

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃) (% do N total), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT) e capacidade tampão (CATP) (n.e.mg/100g MS) do bagaço de laranja (BL) e do milho (M) *in natura*.

	MS	pH	NNH ₃	MO*	PB*	EE*	Ca*	FDN*	CHOT*	CATP
BL	26,61	4,14	8,24	93,05	7,04	1,25	2,05	32,93	84,77	30,44
M	30,74	4,56	4,52	93,64	7,25	1,89	0,23	62,78	84,49	33,29

* em % da MS

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), e proteína bruta (PB) dos aditivos protéicos.

	Farelo de Soja	Farelo de Algodão	Farelo de Girassol	Esterco de Poedeira	Uréia
MS (%)	88,20	88,83	91,71	81,87	95,30
PB (% da MS)	51,52	40,74	25,95	23,87	297,78

As amostras para análises foram retiradas antes da ensilagem e 90 dias após o fechamento dos silos, e armazenadas a -20°C para posterior análise.

Para execução das análises no material pré-seco, as amostras frescas foram colocadas em estufa com circulação forçada de ar a 55 ± 5°C por 48 horas, para que fosse realizada a pré-secagem. Em seguida, todas as amostras experimentais pré-secas foram moídas em moinho de faca tipo “Willye”, de modo que o tamanho das partículas fosse de aproximadamente 1 mm.

Foram determinados, na amostra fresca: pH e ácido láctico (AL) conforme Silva & Queiroz (2002), nitrogênio amoniacal (NNH_3) de acordo com Tosi et al (1973), capacidade tampão (CATP) conforme Playne & Mc Donald (1966) e matéria pré-seca (ASA) de acordo com metodologia descrita por AOAC (1990), e na amostra pré-seca: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas (CIN) para cálculo da matéria orgânica (MO) segundo as metodologias descritas por AOAC (1990), fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Goering & Van Soest (1970), carboidratos totais (CHOT) de acordo com Sniffen et al (1992), cálcio de acordo com Silva (1999), e digestibilidade *in vitro* (DIV) conforme técnica de Tilley & Terry (1963), adaptada ao Rúmen Artificial, desenvolvido pela ANKOM[®], conforme descrito por Holden (1999).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAS (2001), conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + T_j + (S_i \times T_j) + \varepsilon_{ij}$$

sendo: Y_{ij} = Parâmetros de características químicas, fermentação e digestibilidade *in vitro* no tipo de silagem i , no aditivo j ;

μ = média geral;

S_i = efeito do tipo de silagem i ($i = 1, 2$);

T_j = efeito do aditivo j ($j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$);

$(S_i \times T_j)$ = efeito da interação ($S_i \times T_j$);

ε_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

7.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.5.1. Características químicas do bagaço de laranja e do milho nos diferentes tratamentos antes da ensilagem

Na Tabela 1 encontram-se a composição química do bagaço de laranja e do milho com diferentes aditivos protéicos antes da ensilagem.

Tabela 3. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos totais (CHOT) do bagaço de laranja (BL) e milho (M) nos diferentes tratamentos antes da ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
MS (%)	BL	26,61	27,46	28,35	28,87	29,68	29,60
	M	30,74	31,66	33,23	33,87	35,59	35,22
MO (% na MS)	BL	93,13	92,91	92,60	92,71	88,51	93,42
	M	93,73	93,52	93,37	92,46	87,38	93,77
PB (% na MS)	BL	7,05	10,46	9,90	10,00	10,06	10,26
	M	6,49	9,39	10,22	11,15	11,67	10,70
EE (% na MS)	BL	1,25	1,37	1,28	1,39	1,18	1,25
	M	1,89	1,14	1,05	1,33	1,13	1,52
Ca (% na MS)	BL	2,05	1,96	2,04	2,06	2,26	1,98
	M	0,23	0,21	0,24	0,23	1,42	0,24
FDN (% na MS)	BL	32,36	30,83	29,15	32,70	31,25	33,50
	M	63,52	55,50	62,14	52,04	51,91	61,39
CHOT (% na MS)	BL	84,83	81,09	81,42	81,32	77,27	81,91
	M	85,36	82,98	82,10	79,99	74,58	81,55

T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol.

Com adição dos aditivos protéicos houve um aumento no teor de MS de todos os tratamentos quando comparados com o tratamento sem aditivo (Tabela 3). O milho apresentou teores de MS dentro dos valores preconizados para que se tenha uma boa silagem (30 a 35%), ficando o bagaço de laranja com os aditivos, próximo de 30%.

A utilização de aditivos protéicos eleva o teor de proteína do material, entretanto, houve uma diluição do teor de fibra em detergente neutro e de carboidratos totais (Tabela 3).

O bagaço de laranja possui um alto teor de cálcio devido ao tipo de processamento utilizado pela COROL, com adição de hidróxido de cálcio para obtenção de um resíduo mais seco, entretanto, o tratamento com adição de esterco de poedeira, apresentou maior teor de cálcio (2,26 e 1,42%, respectivamente, para bagaço de laranja e milho).

Na Tabela 4 encontram-se os valores de pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃) e capacidade tampão (CATP) do bagaço de laranja e milho nos diferentes tratamentos antes da ensilagem.

Tabela 4. Valores de pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃) e capacidade tampão (CATP) do bagaço de laranja (BL) e milho (M) nos diferentes tratamentos antes da ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
pH	BL	4,14	4,16	4,15	4,16	4,41	4,15
	M	4,56	4,93	4,45	4,48	5,29	4,58
NNH ₃ (% do N total)	BL	5,81	3,83	2,94	2,82	7,56	3,18
	M	5,06	24,24	4,43	4,00	8,50	4,01
CATP (n.e.mg/100g MS)	BL	30,44	29,74	40,92	39,25	46,98	34,49
	M	33,51	41,27	28,49	27,16	67,32	37,29

T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol.

O pH do bagaço de laranja antes da ensilagem variou de 4,14 a 4,41 e do milho, de 4,45 a 5,29 (Tabela 4).

No bagaço de laranja o teor de nitrogênio amoniacal em porcentagem do nitrogênio total foi maior para o bagaço com esterco de poedeira (7,56%), entretanto no milho foi maior quando acrescido de uréia (24,24%), seguido do milho com esterco de poedeira (8,50%) (Tabela 4).

A capacidade tampão para o bagaço de laranja variou de 29,74 a 46,98 n.e.mg/100g MS e para o milho variou de 27,16 a 67,32 n.e.mg/100g MS.

7.5.2. Características químicas e parâmetros de fermentação das silagens

Na Tabela 5 encontram-se a composição química das silagens nos diferentes tratamentos. Houve interação entre silagem e tratamento para todos os componentes analisados.

Tabela 5. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos totais (CHOT) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
MS (%)	SBL	26,04Bf	26,80Be	27,11Bd	27,40Bc	27,68Bb	28,38Ba
	SM	34,17Af	35,24Ae	37,82Ad	42,59Ab	43,50Aa	40,64Ac
MO (% na MS)	SBL	92,70Ac	92,82Bbc	93,78Aa	93,02Ab	90,17Ad	93,12Ab
	SM	91,95Bd	93,34Aa	92,99Bb	92,59Bc	85,35Be	92,41Bc
PB (% na MS)	SBL	7,18Ad	10,94Aa	9,74Bc	9,81Bc	10,04Bb	10,09Bb
	SM	7,15Af	9,44Be	10,93Ab	10,67Ac	10,36Ad	11,42Aa
EE (% na MS)	SBL	1,23Bbc	1,27Bb	1,09Bc	1,24Abc	1,47Aa	1,29Bab
	SM	1,45Aabc	1,46Aabc	1,50Aab	1,31Ac	1,40Abc	1,59Aa
Ca (% na MS)	SBL	2,33Ab	2,08Ac	1,90Ad	1,60Ae	2,53Aa	2,02Acd
	SM	0,21Bb	0,20Bb	0,17Bb	0,14Bb	0,58Ba	0,27Bb
FDN (% na MS)	SBL	31,64Bab	32,11Ba	30,29Bb	31,46Bab	31,70Bab	32,66Ba
	SM	52,14Ab	46,20Acd	44,95Ad	47,76Ac	46,63Acd	55,36Aa
CHOT (% na MS)	SBL	84,29Aa	80,61Bd	82,94Ab	81,98Ac	78,66Ae	81,74Ac
	SM	83,35Ba	82,44Ab	80,57Bc	80,61Bc	73,59Be	79,40Bd

T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol. CV MS = 0,16; CV MO = 0,20; CV PB = 1,36; CV EE = 7,82; CV Ca = 7,69; CV FDN = 2,53; CV CHOT = 0,37. Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

A silagem de bagaço de laranja com farelo de girassol e a de milho com esterco de poedeira apresentaram os maiores teores de MS (28,38% e 43,50% respectivamente). Após o processo de fermentação, houve uma diminuição nos teores de MS das silagens de bagaço de laranja e um aumento nos teores das silagens de milho (Tabela 3 e 5).

Os teores de MS da SBL ficaram próximo aos valores mínimos de 30% preconizados por Arcuri et al (2004), como o segundo fator que opera na supressão do crescimento de clostrídeos, sendo o primeiro fator a redução do pH, pois este gênero não tolera condições ácidas.

Os teores de MS da SBL e SM foram superiores aos observados por Surita et al (1998) para SBL com diferentes aditivos protéicos (12,96 a 15,92%) e por Higginbotham et al (1998) e Rosa et al (2000) para SM com diferentes aditivos protéicos e/ou bacterianos (19,5 a 22,4% e 29,44 a 37,54%, respectivamente).

A matéria orgânica da SBL, com exceção da silagem com uréia, apresentou valores superiores à silagem de milho para todos os tratamentos, sendo os valores inferiores aos mencionados por Rosa et al (2000) para silagem de milho controle (96,36%), com uréia (96,27%) e com cama de frango (95,86%). Em ambas silagens, SBL e SM, observaram-se que quando tratadas com esterco de poedeira, houve menor teor de matéria orgânica. Este fato foi devido à maior presença de cálcio no tratamento com esterco (Tabela 5), fazendo com que ambas as silagens apresentassem teores superiores ($P < 0,05$) de cálcio quando comparadas com os outros tratamentos (2,53% e 0,58%, respectivamente para SBL e SM).

Com relação à proteína bruta, foram calculadas para que as silagens tivessem ao redor de 10% de PB. Portanto, as diferenças observadas entre os tratamentos, exceto para as silagens controle, foram devido ao baixo coeficiente de variação nas análises, sendo que os valores de PB variaram de 9,44 a 11,42% para as silagens com aditivos e 7,18 e 7,15% para a silagem controle de bagaço de laranja e de milho, respectivamente.

De maneira geral, a SM em todos os tratamentos, apresentou maior teor de FDN do que a SBL, sendo que os valores encontrados para SM foram semelhantes aos relatados por Rosa et al (2000) para SM com uréia (47,42%) e com cama de frango (45,39%) e por Higginbotham et al (1998) para SM com diferentes aditivos (46,1 a 48,7%).

Observou-se que a SBL apresentou teores de FDN (30,29 a 32,66%) superiores aos mencionados por Surita et al (1998) (19,47 a 21,82%) e Ítavo et al (2000) (16,27 a 20,18%) que trabalharam com SBL contendo diferentes aditivos protéicos. O farelo de girassol

proporcionou maior teor de FDN (32,66%) à SBL, entretanto não diferiu da silagem controle, fato também observado para os demais tratamentos.

Os teores de FDN de todos os tratamentos da silagem de milho (Tabela 5) diminuíram após a ensilagem, sendo que na silagem de bagaço de laranja, isto só ocorreu na silagem controle, com farelo de algodão e com farelo de girassol. Essa diminuição pode ser explicada pelo processo bioquímico que ocorre na silagem, onde pequena porção da celulose sofre degradação enzimática e a hemicelulose apresenta degradação em extensão variável durante o processo fermentativo da silagem (Tosi & Jobim, 2001), podendo contribuir para uma diminuição na quantidade de FDN da silagem.

As silagens de bagaço de laranja e milho sem tratamento apresentaram maior teor de carboidratos totais (84,29 e 83,35%, respectivamente) devido ao fato das mesmas terem apresentado menores teores de PB.

Na Tabela 6 observam-se os valores de pH, nitrogênio amoniacal, capacidade tampão e ácido lático das silagens de bagaço de laranja e milho com diferentes fontes protéicas, abertos com 90 dias de ensilagem. Houve interação entre silagem e tratamento para todas as análises.

Tabela 6. Valores de pH, nitrogênio amoniacal (NNH₃), capacidade tampão (CATP) e ácido lático (AL) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
pH	SBL	3,49Bb	3,43Bc	3,41Bc	3,42Bc	3,73Ba	3,41Bc
	SM	3,74Ac	3,95Ab	3,70Ad	3,67Ad	4,09Aa	3,68Ad
NNH ₃ (% do N total)	SBL	4,71Ab	3,37Bc	3,29Ac	3,70Abc	8,58Aa	3,49Ac
	SM	4,11Ac	15,31Aa	3,98Ac	3,21Ac	6,05Bb	3,74Ac
CATP (n.e.mg/100g MS)	SBL	79,98Ab	70,90Ac	66,44Ad	79,66Ab	90,07Aa	81,04Ab
	SM	42,43Be	65,92Bb	49,36Bc	44,69Bd	69,43Ba	49,39Bc
AL (% na MS)	SBL	4,45Ac	5,68Aa	5,48Aab	4,17Ac	5,26Ab	4,44Ac
	SM	1,97Bd	3,41Ba	2,57Bb	2,33Bbc	2,54Bb	2,10Bcd

T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol; CV pH = 0,45; CV NNH₃ = 11,36; CV CAPT = 1,62; CV AL = 4,85. Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, e minúscula na linha, diferem entre si (P<0,05) pelo Teste de Tukey.

O pH das silagens variou de 3,41 a 4,09, sendo que o maior valor observado nas duas silagens foi com esterco de poedeira (3,73 e 4,09, respectivamente, para SBL e SM), diferindo dos outros tratamentos. O esterco de poedeira possui maior capacidade tampão, o que significa que há necessidade de maior produção de ácido láctico para reduzir o pH da silagem. Isto provavelmente ocorre porque o esterco possui amônia e Ca. O cálcio dependendo do composto formado pode ter efeito neutralizante, e a amônia, de acordo com Tosi & Jobim, (2001) também neutraliza os ácidos que estão sendo formados durante a fermentação. Por isso, a silagem com esterco apresentou maior pH nas duas silagens (Tabela 6).

De maneira geral, a SBL apresentou menor pH do que a SM em todos os tratamentos, entretanto, todos os tratamentos que antes da ensilagem apresentavam pH acima do ideal (Tabela 4), atingiram níveis satisfatórios para garantir uma boa preservação do material ensilado e prevenir fermentações indesejáveis (Tabela 6). De acordo com Kung Jr. (2001) e Kung Jr. & Stokes (2003), o pH ideal para boa preservação da silagem de milho está em torno de 3,7 a 4,2.

Silagens com alto pH indicam má conservação devido à falta de substrato para as bactérias produzirem ácido láctico, favorecendo fermentações indesejáveis ou devido à baixa umidade do material produzindo uma silagem com alto pH (Kung Jr & Stokes, 2003).

O teor de nitrogênio amoniacal da SBL, com exceção da SBL com esterco de poedeira (8,58%), variou de 3,29 a 4,71%, e para SM, com exceção da SM com uréia (15,31%) e com esterco de poedeira (6,05%), variou de 3,21 a 4,11%, indicando não ter ocorrido fermentações indesejáveis nem extensa degradação da proteína nesses tratamentos.

Na literatura observam-se teores de nitrogênio amoniacal na faixa de 5,0 a 8,9% para silagem de milho (Higginbotham et al, 1998) e de 3,63 a 13,86% para silagem de bagaço de laranja (Ítavo et al, 2000).

O nitrogênio amoniacal presente na silagem é um indicador da extensão da atividade dos clostrídeos, uma vez que é produzido em pequenas quantidades por outros microrganismos da silagem e enzimas da planta (Tosi & Jobim, 2001), sendo o teor de 5 a 7% aceitável para silagem de milho (Kung Jr., 2001 e Kung Jr. & Stokes, 2003). Altas concentrações indicam extensiva degradação da proteína que pode ocorrer com silagens muito úmidas (menos de 30% de MS), ou devido à fermentação por microrganismos indesejáveis (clostrídeos) ou degradação por enzimas da planta (Kung Jr. & Stokes, 2003).

Rosa et al (2000) justificam o aumento do pH (4,71 e 4,48) e do nitrogênio amoniacal (9,37 e 6,54%) das silagens de milho tratadas, respectivamente, com uréia e cama de frango devido à formação de bases voláteis que neutralizam o ácido lático, aumentando o pH. O uso de cama de frango que é composto de excretas que carregam inúmeras bactérias pode favorecer a desaminação das proteínas pela fermentação heterolática ou clostrídica, aumentando o nitrogênio amoniacal da silagem.

A silagem de bagaço de laranja apresentou maior capacidade tampão do que a silagem de milho, em todos os tratamentos, com valores que variaram de 66,44 n.e.mg HCl/100g MS (com farelo de soja) a 90,07 n.e.mg HCl/100g MS (com esterco de poedeira). No entanto, apesar da alta capacidade tampão da silagem de bagaço de laranja, a mesma não apresentou elevados teores de pH (Tabela 6), e seus teores de MS estavam próximos aos 30% preconizados para que se tenha uma boa silagem, indicando que a mesma pode ser adequadamente preservada na forma de silagem.

Na silagem de milho observou-se que os maiores valores de capacidade tampão foram para SM com uréia (65,92 n.e.mg HCl/100g MS) e com esterco de poedeira (69,43 n.e.mg HCl/100g MS), sendo os demais valores semelhantes aos obtidos por Rodrigues et al (2004) (41,36 a 47,72 n.e.mg HCl/100g MS). Para a SBL, de modo geral, os valores médios de todos os tratamentos foram maiores do que os relatados por Ítavo et al (2000) para SBL aberto com

64d (39,09 a 63,39 n.e.mg HCl/100g MS) e por Surita et al (1998) para SBL com diferentes aditivos protéicos (38,97 a 50,16 n.e.mg HCl/100g MS).

Os teores de ácido láctico foram muito superiores na silagem de bagaço de laranja (4,17 a 5,68%) quando comparada com a silagem de milho (1,97 a 3,41%). O ácido láctico é um ácido forte produzido em abundância durante a fermentação ideal, onde deve haver produção de níveis moderados, sendo que para silagem de milho deve ocorrer entre 4 e 6% da MS (Kung Jr. & Stokes, 2003). Os valores observados neste experimento, para SBL, embora altos, estão dentro da faixa recomendada por Kung Jr. & Stokes, (2003).

Na silagem de milho observou-se que todos os aditivos aumentaram o teor de ácido láctico da silagem (Tabela 6).

7.5.3. Digestibilidade *in vitro* das silagens

Na Tabela 7 estão contidas as digestibilidades *in vitro* da matéria seca, parede celular e proteína bruta das silagens de bagaço de laranja e milho nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem. Houve interação entre silagem e tratamento para todas as digestibilidades avaliadas.

Tabela 7. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), parede celular (DIVPC) e proteína bruta (DIVPB) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos abertos com 90 dias de ensilagem.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
DIVMS	SBL	97,03Aa	97,25Aa	95,07Ab	93,81Abc	93,99Abc	92,82Ac
	SM	67,86Bbc	66,67Bc	71,49Ba	67,38Bc	69,63Bb	64,77Bd
DIVPC	SBL	97,82Aa	97,66Aa	97,18Aa	96,68Aa	94,75Ab	93,44Ab
	SM	75,21Bb	77,45Ba	78,15Ba	78,07Ba	78,96Ba	73,43Bb
DIVPB	SBL	96,17Aab	95,44Abc	93,41Ad	94,53Ac	96,80Aa	95,38Abc
	SM	72,29Bf	75,80Bd	79,08Bb	73,40Be	81,92Ba	77,71Bc

T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol; CV DIVMS = 1,30; CV DIVPC = 1,31; CV DIVPB = 0,71. Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, e minúscula na linha, diferem entre si (P<0,05) pelo Teste de Tukey.

A silagem de bagaço de laranja apresentou maior digestibilidade *in vitro* da matéria seca, parede celular e proteína bruta quando comparada à silagem de milho em todos os tratamentos, provavelmente devido aos baixos valores de lignina no bagaço de laranja (1 a 3%) e à presença de pectina que é um carboidrato estrutural de alta e rápida degradação ruminal (Van Soest, 1983).

Não se observou diferença entre a DIVMS da silagem de bagaço de laranja controle (97,03%) e com uréia (97,25%), sendo estas digestibilidades maiores do que os demais tratamentos. Ítavo et al (2000) e Santos et al (1999), obtiveram valores de DIVMS que variaram de 86,23 a 89,60% e 85,21 a 87,77%, respectivamente, para SBL com diferentes aditivos. Ashbell & Weinberg (1988), observaram valores de 92,5% e 93% para SBL sem e com aditivo protéico.

A DIVPC da silagem de bagaço de laranja foi menor para as silagens com esterco de poedeira (94,75%) e farelo de girassol (93,44%). Ítavo et al (2000) e Santos et al (1999) encontraram, respectivamente, valores de 91,81 a 96,64% e 91,8 a 96,6% para DIVPC da SBL com diferentes aditivos. Quanto à DIVPB, observou-se que o esterco de poedeira proporcionou melhor efeito nas duas silagens do que os demais tratamentos.

A silagem de milho que apresentou maior DIVMS foi aquela adicionada de farelo de soja (71,49%), mostrando um efeito positivo do aditivo quando adicionado ao milho na ensilagem. Possivelmente a alta DIVMS do farelo de soja contribuiu para a elevação da DIV da silagem de milho. Os valores encontrados neste trabalho estão de acordo com valores observados por vários pesquisadores (Campos et al, 2000; Campos et al, 2001; Silva et al, 2005). Ezequiel et al (2001) trabalharam com silagem e farelo de algodão, e silagem e uréia, e encontraram valores de 70,5% e 72,7%, respectivamente, para DIVMS.

Com relação à digestibilidade da parede celular da silagem de milho, todos os aditivos protéicos, exceto o farelo de girassol, aumentaram a digestibilidade da silagem de milho,

provavelmente devido ao maior suprimento de proteína para os microrganismos do rúmen, levando a um maior aproveitamento da parede celular dos alimentos.

7.6. CONCLUSÕES

O uso de aditivos protéicos no processo de ensilagem, além de aumentar o teor de proteína bruta, aumenta também os teores de MS das silagens de bagaço de laranja, melhorando o processo fermentativo.

O pH das silagens, acrescidas de aditivos protéicos, atingiram níveis satisfatórios para garantir uma boa preservação do material ensilado e prevenir fermentações indesejáveis.

O bagaço de laranja pode ser adequadamente preservado na forma de silagem com aditivos protéicos pois apesar da elevada capacidade tampão, apresenta maior produção de ácido láctico e níveis adequados de pH.

O aditivo protéico não melhorou a digestibilidade *in vitro* da silagem de bagaço de laranja, mas melhorou a digestibilidade da silagem de milho e a produção de ácido láctico, podendo ser empregado durante o processo de ensilagem.

7.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Edited by Kenneth Helrich. Fifteenth edition. Arlington, Virgínia. v.1, 684p, 1990.

ARCURI, P.B.; CARNEIRO, J.C.; LOPES, F.C.F.. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 172-197, 2004.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G. Orange peels: the effect of blanching and calcium hydroxide addition on ensiling losses. **Biological Wastes**, v. 23, p. 73-77, 1988.

BACKES, A.A.; SANCHEZ, L.M.B.; GONÇALVES, M.B.F. Desempenho de Novilhos Santa Gertrudis Confinados Submetidos a Dietas com Diferentes Fontes Protéicas e Silagem de Milho, com ou sem Inoculante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30 (6S), p.2121-2125, 2001.

CAMPOS, F.P.; BOSE, M.L.V.; BOIN, C.; LANNA, D.P.D.; MORAIS, J.P.G. Comparação do sistema de monitoramento computadorizado de digestão *in vitro* com os métodos *in vivo* e *in situ*. 2. Uso do resíduo da matéria seca de forragens. **Revista Brasileira de Zootécnica**. v.29, n. 2, p. 531-536, 2000.

CAMPOS, F.P.; SAMPAIO, A.A.M.; VIEIRA, P.F.; BOSE, M.L.V. Digestibilidade *in vitro*/gás de volumosos exclusivos ou combinados avaliados pelo resíduo remanescente da digestão da matéria seca e produção de gás. **Revista Brasileira de Zootécnica**. v.30, n. 5, p. 1579-1589, 2001.

CARVALHO, M.P. Citros. In Anais do VI simpósio sobre Nutrição de Bovinos. Tema: Utilização de Resíduos Culturais e de Beneficiamento na Alimentação de Bovinos. PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (eds), Fealq, p.171-214, 1995.

CASTRO, F.G.F.; NUSSIO; L.G.; HADDAD, C.M.; CAMPOS, F.P.; COELHO, R.M.; MARI, L.J.; TOLEDO, P.A.. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.358-371, 2006.

EZEQUIEL, J.M.B.; SOARES, W.V.B.; SEIXAS, J.R.C. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca, nitrogênio e fibra em detergente ácido de dietas completas contendo farelo de algodão, uréia ou amiréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 30, n. 1, p. 236-241, 2001.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J.. Forage fiber analyses; Apparatus, reagents, procedures and some applications. Washington: USDA/**Agricultural Research Service**. 19p, 1970.

HIGGINBOTHAM, G.E.; MUELLER, S.C.; BOLSEN, K.K.; DePETERS, E.J. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal Dairy Science**, v.81, n. 8, p. 2185-2192, 1998

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* matter digestibility for ten feeds. **J. Dairy Science**, Campaign, v.25, n.8, p.1791-1794, 1999.

ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T. dos; JOBIM, C.C.; VOLTOLINI, T.V.; BORTOLASSI, J.R.; FERREIRA, C.C.B.. Aditivos na conservação do bagaço de laranja “*in natura*” na forma de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1474-1484, 2000.

KUNG JR., L.. Silage fermentation and additives. **Science and Technology in the Feed Industry**. In: Proceeding of Alltech’s 17th Annual Symposium. Edited by LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., p. 145-159, 2001.

KUNG, L.; STOKES, M.R. Analyzing silages for fermentation end products. Disponível em: http://ag.udel.edu/departments/anfs/faculty/kung/articles/analyzing_silages_for_ferme.. acesso em 22/04/2003

PLAYNE, M.J.; Mc DONALD, P. The buffering constituents of herbage and silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 17, n. 2, p.262-268, 1966.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais. In II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 35-74, 2004.

RODRIGUES, P.H.M.; RUZANTE, J.M.; SENATORE, A.L.; LIMA, F.R.; MELOTTI, L.; MEYER, P.M.. Avaliação do uso de inoculantes microbianos sobre a qualidade fermentativa e nutricional da silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.538-545, 2004.

ROSA, B.; MATOS NETO, J.M.; TAMASSIA, L.F.; CUNHA, P.H.J.; ALMEIDA, P.V.. Composição Bromatológica da Silagem de Milho (*Zea mays* L.) submetida a diferentes aditivos. In: XXXVII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000. n. 326.

SANTOS, G.T. dos; ÍTAVO, L.C.V.; JOBIM, C.C.; SILVA, E. de C. da; VOLTOLINI, T.V.; FARIA, K.P. Digestibilidade *in vitro* da silagem de bagaço de laranja pelo método da ANKOM® – avaliação da quantidade de material utilizado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. n. NUR131.

SANTOS, G.T.; ÍTAVO, L.C.V.; MODESTO, E.C.; JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J.C. Silagens alternativas de resíduos agro-industriais. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 262-285, 2001.

SAS – STATÍSTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's guide: statistics. Cary: SAS Institute, 2001.

SILVA, F. C. da . **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. EMBRAPA. 370p. 1999.

SILVA. D.J.; QUEIROZ, A.C. de. **Análise de alimentos - métodos químicos e biológicos**. Editora UFV. 2002, 235p.

SILVA, A.V.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; FERREIRA, C.L.L.F.. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e sorgo tratadas com inoculantes microbianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.1881-1890, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science** v. 70 n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SURITA, C.A.S.; JOBIM, C.C.; PINTO, A.A.; MACHADO, R.M.; RIBEIRO, C.R. Avaliação de fontes protéicas na composição do bagaço de laranja. In: REUNIÃO ANUAL

DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998, nutrição de ruminantes, n. 062.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A.. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

TOSI, H.; FARIA, V.P.; SILVEIRA, A.C.. Determinação de bases voláteis em silagem. Congresso Brasileiro de Forragens, 1º Anais da X Reunião Anual da SBZ. S1, p.58-59, 1973.

TOSI, H.; JOBIM, C.C.. Conservação de forragens: silagem. In Biotecnologia Industrial volume IV Biotecnologia na produção de alimentos, AQUARONE, E.; BORZANI, W. SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Editora Edgard Blücher Ltda, 491-505, 2001.

VAN SOEST, P. Nutritional Ecology of the Ruminant – Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, the Cellulolytic Fermentation and the Chemistry of Forages and Plant Fibers. O e B Books, Inc. Corvallis, Oregon, 1983, 374p.

8. Artigo 5

AValiação DA ESTABILIDADE AERÓBICA E CONTAGEM MICROBIANA DAS SILAGENS DE BAGAÇO DE LARANJA E DE MILHO COM DIFERENTES ADITIVOS PROTÉICOS

8.1. RESUMO

Foram confeccionados minisilos experimentais, em delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos (T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol). Os silos foram abertos com 90 dias, arejados, avaliando-se a estabilidade aeróbica e a contagem microbiana, após exposição ao ar, durante cinco dias, mantidos em sala com temperatura controlada (22 a 27°C). Na matéria prima avaliou-se a presença de patulina e fumonisina. O menor pico de temperatura na silagem de bagaço de laranja (SBL) foi observado para a silagem com esterco de poedeira (28,93°C), seguido da silagem com farelo de algodão (35,70°C). Na silagem de milho (SM) o maior e o menor pico de temperatura foi observado, respectivamente, para a silagem com farelo de soja (36,53°C) e com esterco de poedeira (27,03°C). A estabilidade aeróbica não diferiu entre as silagens controle, sendo superior nos outros tratamentos para a SM quando comparada com a SBL, exceto naquelas com farelo de soja. Na SBL, somente o esterco de poedeira melhorou a estabilidade aeróbica da silagem (84h), e na SM, todos os aditivos, com exceção do farelo de soja, melhoraram a estabilidade aeróbica, aumentando em no mínimo 22h o tempo de exposição ao ar. A SBL em todos os tratamentos, apresentou menor média de contagem de leveduras quando comparada com a SM. A contagem de bactérias aumentou na SBL com farelo de algodão e com farelo de girassol e na SM com farelo de soja, após exposição aeróbica. Não foram detectadas presenças de fungos em nenhum dos tratamentos analisados durante o período de exposição aeróbica, bem como não foi detectada presença de patulina e fumonisina na matéria prima. Conclui-se que os aditivos protéicos, exceto o farelo de soja, melhoram a estabilidade aeróbica da silagem de milho. A silagem de bagaço de laranja apresenta menor estabilidade aeróbica do que a silagem de milho e apresenta menor contagem de leveduras, podendo ser bem conservado na forma de silagem.

PALAVRAS CHAVES: bactérias, farelo de algodão, farelo de girassol, farelo de soja, fungos, leveduras

EVALUATION OF THE AEROBIC STABILITY AND MICROBIAL COUNT OF ORANGE PULP AND CORN SILAGES WITH DIFFERENT PROTEIN ADDITIVES

8.2. ABSTRACT

Experimental mini-silos were prepared, in completely randomized design distributed in a 2 x 6 factorial arrangement, being two silages (orange pulp and corn) and six treatments (T0 = without source protein; T1 = with urea; T2 = with soybean meal; T3 = with cotton seed meal; T4 = with poultry waste and T5 = with sunflower meal). All silos were opened after 90 days, airy, evaluating the aerobic stability and microbial counting after aerobic exposition, during five days, stored at ambient temperature (22 to 27°C). In the fresh orange pulp and corn, the patulin and fumonisin presence was evaluated. The lowest temperature peak in the orange pulp silage (OPS) was observed for the silage with poultry waste (28.93°C), followed by silage with cotton seed meal (35.70°C). In the corn silage (CS) the highest and the lowest temperature peak was observed, respectively, for the silage with soybean meal (36.53°C) and poultry waste (27.03°C). The aerobic stability did not differ among the control silages, being superior in the other treatments for CS when compared with OPS, except in the silage with soybean meal. In the OPS, only poultry waste improved the aerobic stability (84h), and in the CS, all additives, except for the soybean meal, improved the aerobic stability, increasing in at least 22 h the time of aerobic exhibition. All treatments of orange pulp silage, presented lowest yeasts count averages when compared with corn silage. The bacteria count increased in the OPS with cotton seed meal and sunflower meal and in the CS with soybean meal, after aerobic exposition. Presence of molds was not detected in none of the treatments analyzed during the period of aerobic exhibition, as well as, patulin and fumonisin presence was not detected in the fresh orange pulp and corn. It can be concluded the protein additives, except the soybean meal, improve the aerobic stability of the corn silage. The orange pulp silage presents lowest aerobic stability than corn silage and it presents lowest yeasts count. The orange pulp can be well conserved in the silage form.

KEY WORDS: bacteria, cotton seed meal, mold, soybean meal, sunflower meal, yeast

8.3. INTRODUÇÃO

De acordo com Castro et al (2006), as alterações ocorridas durante os primeiros dias após a ensilagem são críticas para o sucesso da fermentação. A rápida remoção do ar no processo de ensilagem é importante para prevenir o crescimento de bactérias aeróbicas, fungos e leveduras que competem com as bactérias benéficas pelo substrato (Kung Jr., 2001). Se o ar não for removido rapidamente, comumente são observados altos aquecimentos da massa ensilada. De acordo com Evangelista et al (2004), essas altas temperaturas, aliadas ao baixo conteúdo de MS e de carboidratos solúveis, ou até mesmo na demora para o fechamento do silo e alta capacidade tamponante, são fatores que favorecem o crescimento clostridiano. Caso não haja uma silagem estável com baixo pH, a atividade clostridiana é maior e as fermentações secundárias ocorrem após estabelecimento da anaerobiose.

A preservação do alimento na forma de silagem está condicionada à exclusão do oxigênio e à produção de ácido lático suficiente para abaixar o mais rápido possível o pH e inibir a atividade de microrganismos indesejáveis (Cai et al, 1999, Ranjit & Kung Jr, 2000). Porém, outro ponto importante no manejo das silagens, está relacionado com o manejo de abertura do silo e fornecimento aos animais (Castro et al, 2006), onde a qualidade da silagem se reduz devido à introdução de oxigênio os quais promovem o crescimento de certos microrganismos oportunistas (leveduras, fungos e bactérias aeróbicas), que se tornam metabolicamente ativos, produzindo calor e consumindo os nutrientes da silagem resultando em sua deterioração (Higginbotham et al, 1998; Ranjit & Kung Jr, 2000; Castro et al, 2006).

As silagens normalmente diferem em sua susceptibilidade à deterioração aeróbica dependendo das suas características, da forma como são manejadas durante a fase de ensilagem e fornecimento no cocho e de acordo com as características do silo. Segundo Ranjit

& Kung Jr (2000), a inabilidade em remover quantidades suficientes de silagem do silo entre as refeições pode resultar em prolongada exposição do silo ao ar.

Geralmente as silagens que foram bem conservadas estão mais propensas à deterioração aeróbica do que as silagens pobremente fermentadas (Cai et al, 1999; Tosi & Jobim, 2001), devido ao maior teor de carboidratos solúveis e ácido lático residuais (Tosi & Jobim, 2001) e devido à baixa existência ou ausência de ácido butírico (Woolford, 1999).

As leveduras são os microrganismos primários que causam a deterioração aeróbica e o aquecimento, elas metabolizam o ácido lático aumentando o pH e favorecendo o crescimento das bactérias que haviam sido inibidas pelo baixo pH da silagem (Kung Jr., 2001).

A inibição de bactérias (via baixo pH), dos fungos (via eliminação do oxigênio) no processo de fermentação da silagem são os fatores responsáveis pela alta qualidade da silagem e estabilidade quando exposta ao ar (Ranjit & Kung Jr., 2000).

Manter o ambiente em anaerobiose durante a fase de fermentação e armazenamento, bem como a estabilidade aeróbica durante a fase de fornecimento no cocho, são fatores importantes para a preservação do valor nutritivo do material ensilado. Este trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade aeróbica e a contagem microbiana de silagens de bagaço de laranja e milho com diferentes aditivos protéicos durante o período de cinco dias de exposição ao ar.

8.4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

As silagens de bagaço de laranja (SBL) e de milho (SM) foram confeccionadas em baldes de polietileno de 16,5 cm de diâmetro x 19 cm de altura, com capacidade para 3,6 kg, que foram imediatamente lacrados. Para a ensilagem, o milho (cultivar BRS 4157) foi cortado no estádio de grão farináceo. O bagaço de laranja foi fornecido pela Cooperativa Agropecuária de Rolândia – COROL.

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, distribuído em arranjo fatorial 2 x 6, sendo, 2 tipos de silagem (bagaço de laranja e milho) e 6 tratamentos: (T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol). Os aditivos protéicos foram adicionados para que cada silagem obtivesse um teor protéico ao redor de 10%.

Após a abertura dos silos aos 90 dias, desprezou-se a camada superficial e o conteúdo ensilado foi descompactado, favorecendo a penetração de ar, ficando cada silo com 2,0 kg de silagem para se estudar a estabilidade aeróbica e contagem microbiana, após exposição ao ar. Os silos foram mantidos em sala com temperatura controlada (22 a 27°C), durante cinco dias, sendo utilizadas três repetições de cada tratamento para avaliação da estabilidade aeróbica e três para contagem microbiana. Também foi realizada análise de patulina e fumonisina na matéria-prima (bagaço de laranja e milho *in natura*), sendo que estas análises seriam realizadas nos diferentes tratamentos, apenas se houvesse presença das micotoxinas no material *in natura*, sem aditivo.

O estudo da estabilidade aeróbica foi realizado conforme metodologia recomendada por Ranjit & Kung Jr.. (2000). A temperatura da sala e do centro do silo foram monitoradas a cada 2 horas durante 5 dias. Utilizou-se um termômetro de ambiente (termômetro de máxima e mínima) para o controle da temperatura da sala e um termômetro digital (GULterm 180 – Gulton do Brasil Ltda) com leitura de -30°C a +180°C para medir a temperatura do silo, introduzindo-se a ponta de inox no centro do silo. A estabilidade aeróbica

foi definida como o número de horas em que a massa ensilada permaneceu estável antes de atingir mais do que 2^oC acima da temperatura ambiente da sala onde permaneceram os silos (Moran et al, 1996).

Foram coletadas amostras diárias para contagem de bactérias ácido lácticas, fungos e leveduras. A contagem de bactérias ácido lácticas foi realizada conforme metodologia descrita por Ranjit & Kung Jr. (2000) com adaptações para as condições do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL. Vinte e cinco gramas de forragem fresca de cada tratamento foram homogeneizadas com 225 mL de solução estéril de água peptonada a 0,1%. Para contagem de lactobacilos, fungos e leveduras foram realizadas diluições sucessivas em solução estéril de água peptonada a 0,1%. Para bactérias ácido lácticas as amostras foram plaqueadas em Ágar MRS (Man Rogosa Sharpe), incubadas anaerobicamente a 32^oC por 48 horas. Para fungos e leveduras as amostras foram plaqueadas em ágar extrato de malte previamente acidificado pela adição de ácido láctico a 85% a uma taxa de 0,5% vol/vol e incubadas aerobicamente a 25^oC por 120 horas. O número de lactobacilos viáveis, fungos e leveduras foram determinados por contagem das colônias nas placas contendo o mínimo de 30 colônias (Kung Jr. & Ranjit, 2001), sendo os dados transformados em log₁₀ para realização da análise estatística.

As micotoxinas foram determinadas no material *in natura*, patulina de acordo com metodologia descrita por AOAC (2000) e fumonisina de acordo com Shephard et al (1990) adaptado por Ueno et al (1993).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAS (2001), conforme o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + T_j + (S_i \times T_j) + \varepsilon_{ij}$$

sendo: Y_{ij} = Parâmetros de estabilidade aeróbica e quantificação microbiana no tipo de silagem i , no aditivo j ;

μ = média geral;

S_i = efeito do tipo de silagem i ($i = 1, 2$);

T_j = efeito do aditivo j ($j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$);

$(S_i \times T_j)$ = efeito da interação ($S_i \times T_j$);

ε_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e a diferença de temperatura através de análise de regressão.

8.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.5.1. Estabilidade aeróbica das silagens

Na Tabela 1 estão contidos os picos de temperatura e a estabilidade aeróbica das silagens nos diferentes tratamentos. Houve interação entre silagem e tratamento para as duas variáveis analisadas.

Tabela 1. Pico de temperatura (PT) e estabilidade aeróbica (EA) das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) com diferentes aditivos protéicos, durante exposição aeróbica.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
PT (°C)	SBL	35,87Aab	37,90Aa	37,13Aab	35,70Ab	28,93Ac	36,10Aab
	SM	31,20Bb	28,43Bcd	36,53Aa	30,23Bbc	27,03Ad	29,30Bbc
EA (h)	SBL	59Ab	54Bb	61Ab	52Bb	84Ba	61Bb
	SM	54Ad	101Aab	36Be	76Ac	108Aa	92Ab

T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol; CV PT = 3,91; CV EA = 10,69. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

O pico de temperatura não diferiu entre as silagens adicionadas de farelo de soja e esterco de poedeira, tendo sido nos demais tratamentos, maior para a SBL (Tabela 1).

O menor pico de temperatura na SBL foi observado para a silagem com esterco de poedeira (28,93°C), seguido da silagem com farelo de algodão (35,70°C). Na SM o maior e o menor pico de temperatura foi observado, respectivamente, para a silagem com farelo de soja (36,53°C) e com esterco de poedeira (27,03°C).

O pico de temperatura em todos os tratamentos, nas duas silagens, foram inferiores aos picos de temperatura obtidos por Higginbotham et al (1998) para SM com diferentes aditivos bacterianos (39,8 a 42,4°C).

Não houve interação entre silagens e tratamentos em relação ao tempo para atingir o pico de temperatura, sendo que independente do tratamento avaliado, a SBL apresentou menor tempo para atingir o pico de temperatura (88h) quando comparado com a SM (107h), sendo esses tempos muito superiores aos observados por Higginbotham et al (1998) (38,7 a 43,7h).

A estabilidade aeróbica não diferiu entre as silagens controle, sendo superior nos demais tratamentos para a SM quando comparada com a SBL, exceto naquelas com farelo de soja. Na SBL, somente o esterco de poedeira melhorou a estabilidade aeróbica da silagem (84h). Por outro lado, na SM, todos os aditivos, com exceção do farelo de soja, melhoraram a estabilidade aeróbica, aumentando em no mínimo 22h o tempo de exposição ao ar da silagem.

Os dados sobre estabilidade aeróbica na literatura são muito controversos, encontrando-se valores inferiores aos obtidos neste experimento (Higginbotham et al 1998; Gimenes, 2003), semelhantes (Kung Jr. et al, 1998; Kung Jr., 2003) e também, superiores (Driehuis et al, 1999, Taylor & Kung Jr., 2002; Kleinschmit & Kung, Jr., 2006), sendo esses trabalhos realizados com silagem de milho com diferentes aditivos.

Houve efeito cúbico em quase todos os tratamentos, como pode ser observado pelas equações de regressão da diferença de temperatura das silagens nos diferentes tratamentos em função do tempo de exposição ao ar (Tabela 2).

Nas figuras estão representados os efeitos dos aditivos sobre a diferença de temperatura da silagem de bagaço de laranja (Figura 1) e da silagem de milho (Figura 2).

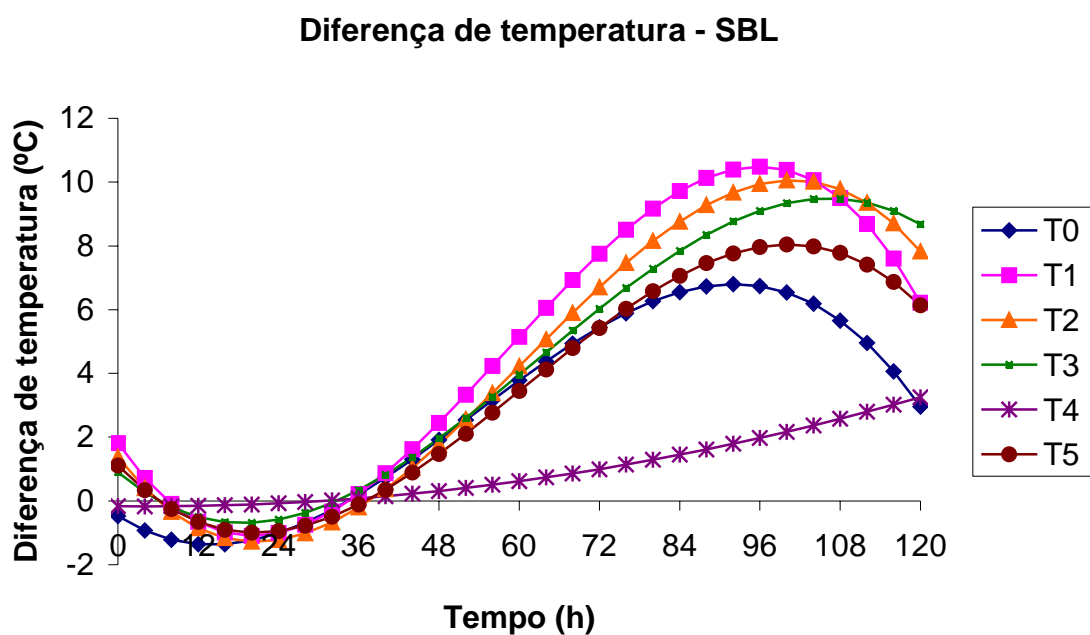
Tabela 2. Equações de regressão da diferença de temperatura das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) nos diferentes tratamentos em função do tempo (d) de exposição ao ar.

Tratamento	Silagem de bagaço de laranja (SBL)	R ²	CV
T0	$Y = -0,47788 - 0,13372X + 0,00547X^2 - 0,00003431X^3$	65,07	76,84
T1	$Y = 1,81314 - 0,30972X + 0,00929X^2 - 0,00005336X^3$	86,93	35,34
T2	$Y = 1,37073 - 0,27543X + 0,00802X^2 - 0,00004397X^3$	90,88	31,59
T3	$Y = 0,89738 - 0,18073X + 0,00568X^2 - 0,00003028X^3$	89,35	32,00
T4	$Y = -0,16455 - 0,00241X + 0,00025725X^2$ (Pmín = 4,68)	60,16	91,34
T5	$Y = 1,11597 - 0,22019X + 0,00645X^2 - 0,00003555X^3$	84,35	42,36
Silagem de milho (SM)			
T0	$Y = -0,83688 + 0,05126X$	78,04	43,01
T1	$Y = 1,62938 - 0,10236X + 0,00177X^2 - 0,00000740X^3$	50,77	90,42
T2	$Y = -0,01905 + 0,01748X + 0,00162X^2 - 0,00000905X^3$	81,91	32,22
T3	$Y = 1,53682 - 0,10530X + 0,00187X^2 - 0,00000603X^3$	84,21	45,45
T4	$Y = 1,52005 - 0,09422X + 0,00154X^2 - 0,00000650X^3$	38,74	139,03
T5	$Y = 0,89424 - 0,0337X + 0,00011857X^2 + 0,00000353X^3$	70,22	83,22

T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol.

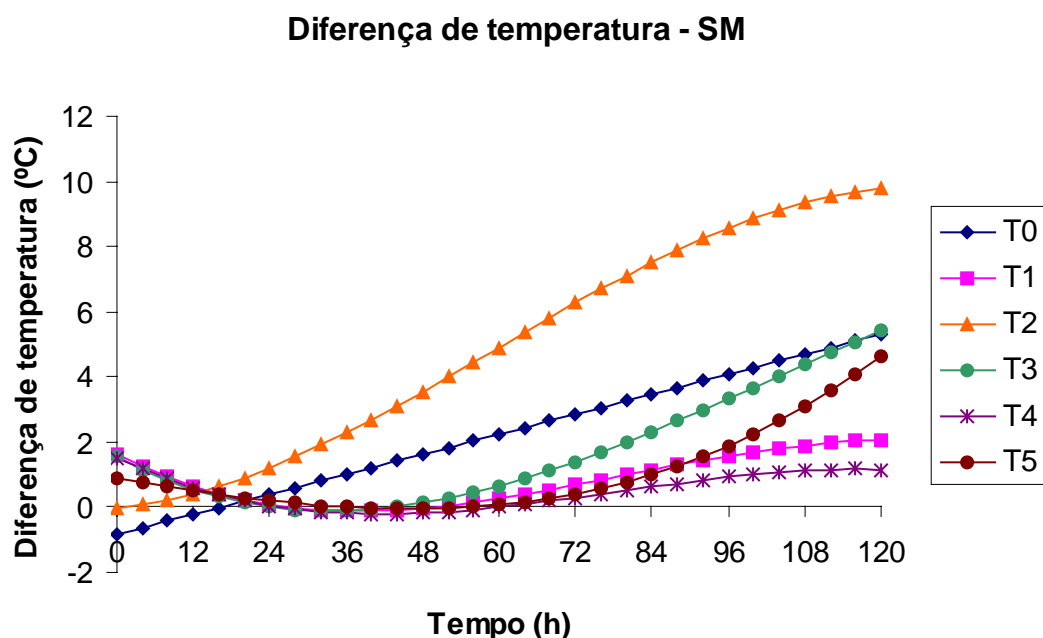
A SBL com uréia aqueceu mais rapidamente apresentando maiores diferenças de temperatura quando comparada com os outros tratamentos na mesma silagem (Figura 1), e a SBL com esterco de poedeira aqueceu mais lentamente, apresentando uma melhor estabilidade.

Na silagem de milho observou-se um efeito diferente dos aditivos protéicos, sendo que a silagem que apresentou maior aquecimento foi aquela com farelo de soja (Figura 2), mostrando que a combinação do milho com farelo de soja resulta em uma silagem com menor estabilidade quando exposta ao ar. Os demais aditivos (Figura 2) mostraram um efeito positivo na estabilidade da silagem de milho quando adicionados antes da ensilagem, apresentando um menor aquecimento quando comparados com a silagem de milho controle (T0).



T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol.

Figura 1. Diferença de temperatura da silagem de bagaço de laranja (SBL) com diferentes aditivos protéicos, durante exposição aeróbica.



T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol.

Figura 2. Diferença de temperatura da silagem de milho (SM) com diferentes aditivos protéicos, durante exposição aeróbica.

8.5.2. Contagem microbiana nas silagens

Na Tabela 3 estão contidos as contagens de bactérias e leveduras das silagens de bagaço de laranja e milho nos diferentes tratamentos durante o período de exposição aeróbica.

Houve interação entre silagem, tratamento e tempo para as duas contagens avaliadas.

Tabela 3. Contagem de bactérias e leveduras das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) com diferentes aditivos protéicos, durante exposição aeróbica.

Bactérias (log UFC/g)					
Trat	Sil	24h	48h	72h	96h
T0	SBL	5,00Fb	5,00Fb	6,19Ea	6,01Ga
	SM	7,57ABab	7,68Aa	7,38BCb	7,71Ba
T1	SBL	6,01Eb	5,47Ec	7,05Ca	4,99Hd
	SM	7,82Aa	7,17Bc	7,14Cc	7,55BCb
T2	SBL	6,36Da	5,37Eb	5,12Fb	6,43Fa
	SM	6,12DEd	7,10Bc	8,09Ab	8,49Aa
T3	SBL	4,03Gd	6,41Cb	6,05Ec	6,78Ea
	SM	7,50Ba	7,03Bb	7,63Ba	7,38CDa
T4	SBL	6,17DEb	6,28CDab	6,61Da	5,81Gc
	SM	7,05Ca	7,04Ba	7,13Ca	7,26Da
T5	SBL	6,15DEb	6,31Cb	6,06Eb	7,15Da
	SM	7,31BCa	6,04Db	7,18Ca	7,14Da
Leveduras (log UFC/g)					
T0	SBL	1,00Jc	1,00Gc	2,00Gb	3,24GHa
	SM	4,93Bd	6,42Bc	7,14Bb	7,77Ca
T1	SBL	2,50Fb	2,39Eb	2,00Gc	3,09HIa
	SM	3,48Dd	4,77Cc	6,15Cb	6,55Ea
T2	SBL	2,01Gc	2,36EFbc	2,42Fb	2,83Ia
	SM	5,22Ad	7,23Ac	8,36Ab	8,83Aa
T3	SBL	1,63Hd	2,00Fc	2,96Eb	3,52Ga
	SM	3,13Ed	6,21Bc	7,14Bb	8,37Ba
T4	SBL	1,30Ib	1,24Gb	1,45Hab	1,65Ja
	SM	4,00Cb	4,00Db	5,56Da	5,59Fa
T5	SBL	1,98GHc	2,59Eb	1,99Gc	3,30GHa
	SM	3,41Dd	4,70Cc	6,41Cb	6,94Da

T0 = sem fonte protéica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol. Médias seguidas de letras diferentes, maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

A silagem de bagaço de laranja sem aditivo apresentou menor contagem de leveduras nas primeiras 24h, entretanto após 48h de exposição ao ar, tanto a SBL quanto a de milho com esterco de poedeira apresentaram menor contagem de leveduras (Tabela 3).

O efeito positivo do esterco de poedeira poderia estar relacionado ao fato do material ter sido previamente fermentado, se tornando um material inócuo devido a provável atividade competitiva e antimicrobiana de microrganismos lácticos contra microbiota contaminante do esterco.

Durante todo o período de exposição aeróbica, a SBL apresentou menor contagem de leveduras (Tabela 3) quando comparada com a SM, indicando ser a SBL mais estável após exposição ao ar.

A SM apresentou maior aumento de leveduras conforme as horas de exposição aeróbica do que a SBL.

A contagem de bactérias aumentou na SBL com farelo de algodão e com farelo de girassol e na SM com farelo de soja, após exposição aeróbica (Tabela 3), entretanto este aumento de bactérias provavelmente está relacionado com bactérias que deterioram a silagem após exposição ao ar.

As contagens de bactérias foram semelhantes aos observados por Ashbell & Weinberg, 1988 (6,27 a 8,47 log UFC/g), Higginbotham et al, 1998 (6,2 a 8,7 log UFC/g) e Ranjit & Kung Jr., 2000 (7,32 a 7,62 log UFC/g) para SM, sendo que a SBL normalmente apresenta menores contagens de bactérias quando comparado com os mesmos tratamentos na SM.

Não foi detectado presença de fungos (<1,0 log UFC/g na silagem de bagaço de laranja e <2,0 log UFC/g na silagem de milho) em nenhum dos tratamentos analisados durante o período de exposição aeróbica, também não sendo detectado presença de patulina e fumonisina na matéria prima.

Na Tabela 4 estão contidas as médias de contagem de bactérias e leveduras das SBL e SM com diferentes aditivos protéicos após exposição aeróbica. Houve interação entre silagem e tratamento para a contagem de bactérias e leveduras.

Tabela 4. Média de contagem de bactérias e leveduras das silagens de bagaço de laranja (SBL) e milho (SM) com diferentes aditivos protéicos após exposição aeróbica.

		T0	T1	T2	T3	T4	T5
Bactérias (log UFC/g)	SBL	5,55Bc	5,88Bb	5,82Bb	5,82Bb	6,22Ba	6,42Ba
	SM	7,59Aa	7,42Aab	7,45Aab	7,38Ab	7,12Ac	6,92Ad
Leveduras (log UFC/g)	SBL	1,81Bb	2,49Ba	2,40Ba	2,53Ba	1,41Bc	2,46Ba
	SM	6,56Ab	5,23Ad	7,41Aa	6,21Ac	4,79Ae	5,36Ad

T0 = sem fonte proteica; T1 = com uréia; T2 = com farelo de soja; T3 = com farelo de algodão; T4 = com esterco de poedeira e T5 = com farelo de girassol; CV Bactérias = 1,92; CV Leveduras = 3,30. Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, dentro de componente analisado, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

As silagens que apresentaram menor média de contagem de leveduras foram aquelas tratadas com esterco de poedeira, seguida na SBL pela silagem controle e na SM, pela silagem com uréia e com farelo de girassol. As SM em todos os tratamentos, apresentaram maior média de contagem de leveduras quando comparados com as SBL.

A silagem de milho apresentou maior média de contagem de bactérias, entretanto, como foi feita apenas contagem total de bactérias, não se pode garantir que todas as bactérias eram ácido lácticas, podendo, quando ocorre elevação na contagem de bactérias após exposição ao ar, estar associado com bactérias que degradam a silagem.

8.6. CONCLUSÕES

O esterco de poedeira melhorou a estabilidade aeróbica da silagem de bagaço de laranja, não havendo efeito dos outros aditivos, e os demais aditivos protéicos não diferiram da silagem controle, indicando que os mesmos podem ser utilizados no bagaço de laranja durante o processo de ensilagem.

Apesar da silagem de bagaço de laranja apresentar menor estabilidade aeróbica quando comparada com a silagem de milho, apresenta menor contagem de leveduras, o que indica que o material pode ser bem conservado na forma de silagem e que um manejo adequado do silo após a sua abertura pode reduzir ou até mesmo evitar as perdas decorrentes da aeração da silagem.

Os aditivos protéicos, com exceção do farelo de soja, melhoram a estabilidade aeróbica da silagem de milho.

8.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 2000.

ASHBELL, G.; WEINBERG, Z.G. Orange peels: the effect of blanching and calcium hydroxide addition on ensiling losses. **Biological Wastes**, v. 23, p. 73-77, 1988.

CAI, Y.; BENNO, Y.; OGAWA, M.; KUMAI, S.. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. **Journal Dairy Science**, v.82, n. 3, p. 520-526, 1999.

CASTRO, F.G.F.; NUSSIO, L.G.; HADDAD, C.M.; CAMPOS, F.P.; COELHO, R.M.; MARI, L.J.; TOLEDO, P.A.. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbica de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.358-371, 2006.

DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S.J.W.H.O.; SPOELSTRA, S.F. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal of Applied Microbiology**, v. 87, p. 583-594, 1999.

EVANGELISTA, A.R.; ABREU, J.G.; PEREIRA, R.C. Perdas na conservação de forragens. In: II Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (eds), Universidade Estadual de Maringá – Maringá / PR, p. 75-112, 2004.

GIMENES, A.L.G. Avaliação nutricional de silagens de milho preparadas com inoculantes bacterianos enzimáticos. Dissertação de mestrado em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina, 73p., 2003.

HIGGINBOTHAM, G.E.; MUELLER, S.C.; BOLSEN, K.K.; DePETERS, E.J. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal Dairy Science**, v.81, n. 8, p. 2185-2192, 1998

KLEINSCHMIT, D.H.; KUNG, JR., L. A Meta-Analysis of the Effects of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages. **Journal of Dairy Science**, v.89, p. 4005-4013, 2006.

KUNG JR., L.. Silage fermentation and additives. **Science and Technology in the Feed Industry**. In: Proceeding of Alltech's 17th Annual Symposium. Edited by LYONS, T.P.; JACQUES, K.A., p. 145-159, 2001.

KUNG JR., L.. Improving the aerobic stability of silages. **Animal e Food Sciences**. Disponível em: http://ag.edu/departments/anfs/faculty/kung/articles/improving_the_aerobic, acesso em 22/04/2003.

KUNK Jr., L.; RANJIT, N.K.. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1149-1155, 2001.

KUNG JR., L.; SHEPERD, A.C.; SMAGALA, A.M.; ENDRES, K.M.; BESSETT, C.A.; RANJIT, N.K.; GLANCEY, J.L. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1322-1330, 1998.

MORAN, J.P.; WEINBERG, Z.G.; ASHBELL, G.; HEN, Y.; OWEN, T.R.. A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. **Proc. XI Int. Silage Conf. Univ. Of Wales**, Aberystwyth, UK, pages 162-163, 1996.

RANJIT, N. K., KUNG Jr, L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal Dairy Science**, v.83, n. 3, p. 526-535. 2000.

SAS – STATÍSTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's guide: statistics. Cary: SAS Institute, 2001.

SHEPHARD, G. S.; SYDENHAM, E. W.; THIEL, P. G. AND GELDERBLUM, W. C. A. Quantitative determination of fumonisins B1 and B2 by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Liquid Chromatography*, v 13, p. 2077-2087, 1990.

TAYLOR, C.C.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. *Journal Dairy Science*, v.85, n. 6, p. 1526-1532. 2002.

TOSI, H.; JOBIM, C.C.. Conservação de forragens: silagem. In *Biotecnologia Industrial volume IV Biotecnologia na produção de alimentos*, AQUARONE, E.; BORZANI, W. SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. Editora Edgard Blücher Ltda, 491-505, 2001.

UENO, Y.; AOYAMA, S.; SUGIURA, Y.; WANG, D.S.; LEE, U.S.; HIROOKA, E.Y.; HARA, S.; KARKI, T.; CHEN G. AND YU, S.Z. A limited survey of fumonisins in corn and corn-based products in Asian countries. *Mycotoxin Research*, v.9, p.27-34, 1993.

WOOLFORD, M. **Ciência e tecnologia na produção de silagem**. Kentucky: Alltech Biotechnology Center, 1999, 59p.

9 CONCLUSÕES GERAIS

A silagem de bagaço de laranja quando comparada com a silagem de milho, apresentou um bom padrão de fermentação com pouca alteração nos valores nutricionais, podendo ser aberta a partir de 10 dias de ensilagem.

O bagaço de laranja pode ser bem conservado na forma de silagem quando apresenta teores de matéria seca acima de 26%, podendo ser utilizado aditivos protéicos durante o processo de ensilagem, entretanto, não há necessidade do uso de aditivos ácidos, microbianos e/ou enzimáticos na sua conservação.

A silagem de bagaço de laranja possui menor teor de fibra do que a silagem de milho, não devendo ser utilizada como único volumoso, devendo-se estar atento também ao teor de cálcio do bagaço de laranja que varia de acordo com o tipo de processamento utilizado pela indústria.

As silagens de bagaço de laranja e milho com inoculantes e aditivos protéicos apresentam bom padrão de fermentação e sem detecção de fungos.

A utilização de inoculantes ácidos, microbianos e/ou enzimáticos e aditivos protéicos, não apresentou efeito sobre a digestibilidade *in vitro* da silagem de bagaço de laranja, por ser um alimento altamente digestível, melhorando apenas a digestibilidade *in vitro* da silagem de milho.

A silagem de bagaço de laranja apesar da menor estabilidade aeróbica quando comparada com a silagem de milho, apresenta menor contagem de leveduras, podendo ser uma boa alternativa de alimento a ser utilizado nos períodos de escassez de forragens.

O uso de inoculante microbiano/enzimático na silagem de milho diminuiu a contagem de leveduras, mostrando um efeito positivo do aditivo.

REFERÊNCIAS

ABECITRUS – **Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos**. Disponível em: <http://abecitrus.com.br> Acesso em: 31/08/2006.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. *Nutrição Animal – As bases e os fundamentos da nutrição animal – Os alimentos – 5º edição*, São Paulo:Nobel, v 1, 395p, 1981.

ASHBELL, G.. Conservation of citrus peels by ensiling for ruminant feed. In: SIMPÓSIO “UTILIZAÇÃO DE SUB-PRODUTOS AGROINDUSTRIAIS E RESÍDUOS DE COLHEITA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES”, 1992, São Carlos. **Anais...** São Carlos: EMBRAPA, 1992.

BACKES, A.A.; SANCHEZ, L.M.B.; GONÇALVES, M.B.F. Desempenho de Novilhos Santa Gertrudis Confinados Submetidos a Dietas com Diferentes Fontes Protéicas e Silagem de Milho, com ou sem Inoculante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30 (6S), p.2121-2125, 2001.

BRUNO FILHO, J.R.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P. de; FRANCO, G.L.; PORCIONATO, M.A. de F.; AZEVEDO JR., M.A.; SILVEIRA, R.N. da; SOARES, W.V.B.; FREITAS, D. de. Digestibilidade da polpa cítrica peletizada na alimentação de bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ/Gnosis, [2000] CD-ROM. Nutrição de Ruminantes. n. 0806.

CASTRO, F.G.F.; NUSSIO; L.G.; HADDAD, C.M.; CAMPOS, F.P.; COELHO, R.M.; MARI, L.J.; TOLEDO, P.A.. Perfil microbiológico, parâmetros físicos e estabilidade aeróbia de silagens de capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.) confeccionadas com distintas concentrações de matéria seca e aplicação de aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.358-371, 2006.

CRUZ, G.M. da; RODRIGUES, A. de A.; ESTEVES, S.N.; MARSON, E.P.; SILVA, J.H.G. da; WENZEL, I.M.. Qualidade de silagens de bagaço úmido de laranja e cama de frango e desempenho de novilhos canchim. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998, nutrição de ruminantes, n. 104.

DUTRA, A.R.; QUEIROZ, A.C. de; PEREIRA, J.C.; et al Efeitos dos níveis de fibra e das fontes de proteínas sobre o consumo e digestão dos nutrientes em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.4, p.787-796, 1997.

GOHL, B.I. Citrus by-products for animal feed. *World Animal Review*, 6:24-27, 1973.

HENRIQUE, W.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; ALLEONI, G.F.; COUTINHO FILHO, J.L.V.; SAMPAIO, A.A.M.. Efeito de diferentes fontes de polpa cítrica peletizada e níveis de concentrado na dieta de novilhas confinadas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998a, v.1, p.344-346.

HENRIQUE, W.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; COUTINHO FILHO, J.L.V.; PERES, R.M.; JUSTO, C.L.; SIQUEIRA, P.A. de; ALLEONI, G.F.. Substituição de amido por pectina em dietas com diferentes níveis de concentrado 1. Desempenho animal e características da carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.6, p.1206-1211, 1998b.

LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; HENRIQUE, W.; ALLEONI, G.F.; BOIN, C.. Substituição do grão de milho por polpa de citros em dietas com diferentes níveis de concentrado. 2. Taxas de deposição e composição química corporal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.834-839, 2000.

MEJÍA, A.M.G.; FERREIRA, W.M.. Produção e caracterização bromatológica da polpa cítrica seca. **Revista CFMV - Suplemento técnico**, Brasília, Jan/Fev/Mar/Abr - 2000. n.19.

MENEZES JR., M.P.; SANTOS, F.A.P.; GUIDI, M.T.; SIMAS, J.M.C. de; IMAIZUMI, H.. Efeito do processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa cítrica peletizada sobre a digestibilidade de nutrientes de vacas em lactação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ/Gnosis, [2000] CD-ROM. Nutrição de Ruminantes. n. 1049.

MONTEIRO, A.L.G.; GARCIA, C.A.; NERES, M.A.; SPERS, R.C.; PRADO, O.R.. Efeito da substituição do milho pela polpa cítrica no desempenho e características das carcaças de cordeiros confinados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. Nutrição de Ruminantes. n. 088, p.95-97.

NOGUEIRA, K.A.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LEME, P.R.; VALINOTE, A.C.; SILVA, S.L.; CUNHA, J.A.. Substituição do milho pela polpa de citros sobre a fermentação ruminal e protozoários ciliados. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.27, n.1, p.123-127, 2005.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; PIRES, A.V.; BEM, M. de; ZOPOLLATTO, M.; BARNABÉ, E.C.. Efeito do processamento do milho e sua substituição por polpa de citros peletizada sobre consumo de matéria seca, produção e composição de leite de vacas em lactação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ/Gnosis, [2000] CD-ROM. Nutrição de Ruminantes. n. 1022.

PRADO, I.N. do; PINHEIRO, A.D.; ALCALDE, C.R.; ZEOULA, L.M.; NASCIMENTO, W.G. do; SOUZA, N.E. de. Níveis de substituição do milho pela polpa de citrus peletizada sobre o desempenho e características de carcaça de bovinos mestiços confinados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2135-2141, 2000 (Suplemento 1).

SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L.. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.280-285, 2001.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; REIS, R.A.; COAN, R.M.; BERNARDES, T.F.; PANIZZI, R.C.; POIATTI, M.L.; PEDREIRA, M.S.. Alterações Químicas e Microbiológicas nas Silagens de Capim-Tifton 85 após a Abertura dos Silos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.464-471, 2005.

VIJCHUALTA, P.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. et al Effect of dried citrus pulp and cage layer manure in combination with monensin on performance and tissue mineral composition in finishing steers. **Journal Animal Science**, n.50, p. 1022-1030, 1980.