

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**CONSERVAÇÃO DO FARELO ÚMIDO DE GLÚTEN DE MILHO EM
DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO**

André Madeira Silveira França
Médico Veterinário

UBERLÂNDIA – MG
MARÇO/2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONSERVAÇÃO DO FARELO ÚMIDO DE GLÚTEN DE MILHO EM
DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO**

André Madeira Silveira França

Orientadora: Prof^a. Dr^a Isabel Cristina Ferreira

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Produção Animal.

Linha de pesquisa: Produção de forragens, nutrição e alimentação animal.

**UBERLÂNDIA, MG
MARÇO/2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F814c França, André Madeira Silveira, 1976-
2014 Conservação do farelo úmido de glúten de milho em diferentes
estratégias de armazenamento / André Madeira Silveira França. –
2014.
71 f. : il.

Orientadora: Isabel Cristina Ferreira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pro-grama de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Milho – Armazenagem - Teses. I.
Ferreira, Isabel Cristina. II. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Dedicatória

A Deus.

Aos animais.

À minha mãe Clarice, minha maior motivação.

Ao meu pai Valdir, pela amizade e confiança.

À minha esposa Flávia, a tampa da panela.

Ao meu irmão Thyago, meu orgulho.

Ao professor, que compartilha em um ato magnânimo, o que tem de mais nobre.

Agradecimentos

À FAPEMIG e a CAPES pelo suporte financeiro.

À Cargill S/A pelo fornecimento do farelo úmido de glúten de milho.

À minha família. Obrigado pelo amor, dedicação, paciência e pela tranquilidade que vocês me passam, dando-me a certeza de que nunca estarei desamparado.

À minha amada e sua família, por terem me escolhido para fazer parte de suas vidas.

Aos bons amigos, pelo companheirismo nas horas boas e não tão boas assim e pela compreensão nos momentos de distanciamento.

Aos professores, funcionários, técnicos e colegas que me auxiliaram no Laboratório de Nutrição Animal, Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, Fazenda Capim Branco e Fazenda do Glória da UFU. A maior parte deste trabalho foi feita graças a vocês.

À minha orientadora, pelo investimento, confiança e afeto oferecidos.

Não vejo forma melhor de agradecer do que oferecer meu carinho e respeito por terem feito parte de um momento tão importante em minha vida.

“Tendo amor e saúde, da vida eu não reclamo.

Amo a vida que levo, e levo a vida que amo.”

Tião Carreiro / Lourival dos Santos

Dados curriculares do autor

André Madeira Silveira França – Nascido em Araguari, Minas Gerais, na data de 07 de junho de 1988, filho de Valdir Antônio França e Clarice da Aparecida Madeira. Mudou-se para a cidade de Uberlândia no ano de 1992, onde reside até os dias atuais. Ingressou no Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) em outubro de 2006. Entre 2010 e 2011 foi bolsista do Programa de Bolsas de Graduação no setor de caprinovinocultura da UFU. No mês de agosto de 2011 formou-se bacharel em Medicina Veterinária pela mesma instituição e, em dezembro deste mesmo ano, com aprovação em processo seletivo, tornou-se médico veterinário da Prefeitura Municipal de Araguari, atuando na área de inspeção de produtos de origem animal no Serviço de Inspeção Federal 177. Em março de 2012, ingressou no Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da UFU, onde se tornou bolsista da CAPES em março de 2013 dedicando-se exclusivamente à atuação como discente e pesquisador, até o momento atual.

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| LISTA DE ABREVIATURAS | vii |
| LISTA DE APÊNDICES | viii |
| RESUMO | ix |
| ABSTRACT | x |
| CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS | 1 |
| 1.1 Utilização de coprodutos agroindustriais na alimentação animal | 1 |
| 1.2 Farelo úmido de glúten de milho..... | 3 |
| 1.3 Conservação de alimentos para animais..... | 5 |
| 1.4 Microbiologia das silagens..... | 6 |
| 1.5 Avaliações físico-químicas das silagens | 8 |
| 1.6 Aditivos para silagens | 10 |
| REFERÊNCIAS | 12 |
| CAPÍTULO 2: Dinâmica química, microbiológica e física da silagem de farelo úmido de glúten de milho – Revista Ciência Rural | 19 |
| CAPÍTULO 3 - Farelo úmido de glúten de milho em diferentes métodos de armazenamento e aditivos – Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira..... | 32 |
| APÊNDICE A - PROCEDIMENTOS REALIZADOS PARA AS ANÁLISES | |
| MICROBIOLÓGICAS | 49 |
| APÊNDICE B - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – REVISTA CIÊNCIA RURAL | 51 |
| APÊNDICE C – DIRETRIZES PARA AUTORES – REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA | 55 |

LISTA DE ABREVIATURAS

- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CE – condutividade elétrica
DRBC - Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol
EE – extrato etéreo
ENN – extrativo não nitrogenado
FAPEMIG – Fundação de amparo à pesquisa do estado de Minas Gerais
FDA – fibra em detergente ácido
FDN – fibra em detergente neutro
FGM – farelo de glúten de milho
FUGM – farelo úmido de glúten de milho
log – logaritmo
ME – massa específica
MRS – Man, Rogosa and Sharpe
MS – matéria seca
MV – matéria verde
NMP – número mais provável
NDT – nutrientes digestíveis totais
pH – potencial de hidrogênio
PB – proteína bruta
PCP – polpa cítrica peletizada
Pgas – perdas por gases
Pefl – perdas por efluentes
 r^2 – coeficiente de determinação
SPS – Sulfito Polimixina Sulfadiazina
ufc – unidades formadoras de colônias
vs – versus
WCGF – wet corn gluten feed

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| APÊNDICE A - PROCEDIMENTOS REALIZADOS PARA AS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS | Erro! Indicador não definido. |
| APÊNDICE B - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – REVISTA CIÊNCIA RURAL | Erro! Indicador não definido. |
| APÊNDICE C – DIRETRIZES PARA AUTORES – REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA | Erro! Indicador não definido. |

RESUMO

O farelo úmido de glúten de milho (FUGM) é um coproducto da moagem úmida dos grãos e, apesar do potencial de uso em dietas animais, informações sobre a estocagem do ingrediente são escassas. Assim, realizou-se dois experimentos para caracterizar a conservação do FUGM em diferentes estratégias de armazenamento. No primeiro, objetivou-se avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos do FUGM em função do tempo de ensilagem. Para isso, o coproducto foi ensilado em tubos de PVC e, após um, três, sete, 14, 21, 28 e 42 dias, realizou-se avaliações físicas, químicas e microbiológicas da silagem de FUGM. Os dias de ensilagem não afetaram ($p>0,05$) o percentual de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extractivos não-nitrogenados (ENN) e nutrientes digestíveis totais (NDT), além da contagem de clostrídios. Os percentuais de matéria seca, extrato etéreo, perdas por efluentes e perdas por gases e contagem de bactérias lácticas variaram entre 46,54 e 49,05%; 0,96 e 1,71%; 17,97 e 35,14 g.kg⁻¹ de matéria natural; 1,90 e 5,68% e 5,0 e 6,9 log UFC.g⁻¹ de silagem, respectivamente. Os menores valores de pH (4,12926-0,00894dias+0,00024126dias²) foram aos 18,5 dias enquanto a temperatura (19,82657+0,11734dias-0,00502dias²) teve seu pico aos 11,7 dias. A contagem de bolores e leveduras sofreu efeito linear negativo em função do tempo de ensilagem (6,8983-0,0363dias). O processo de ensilagem permitiu eficiente conservação dos aspectos químicos, microbiológicos e físicos do FUGM. No segundo experimento objetivou-se avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos do FUGM amontoado ou ensilado com a inclusão de três aditivos. Fez-se amontoados e silos de superfície com 100% de FUGM, FUGM + 0,1% de benzoato de sódio, FUGM + inoculante bacteriano (*Lactobacillus plantarum* e *Propionibacterium acidipropionici*) e FUGM + 10% de polpa cítrica peletizada (PCP) avaliados aos zero e 35 dias. Observou-se que a adição de PCP elevou a MS e a FDA e ainda reduziu a PB, a FDN nos amontoados e elevou a contagem de clostrídios aos 35 dias. A ensilagem reduziu 6,86% da MS e 17,76% do ENN. Aos 35 dias, os NDT reduziram 1,65% e houve aumento de 12,18% da FDA e da contagem de bolores e leveduras. A inclusão de benzoato de sódio e inoculante bacteriano inibiu o crescimento fúngico em relação ao controle. O tempo de armazenamento aumentou a contagem de bactérias lácticas enquanto a inclusão de benzoato de sódio reduziu. A interação das três variáveis (método de armazenamento, dias de armazenamento e aditivo) afetou as variáveis temperatura e pH, havendo redução de seus valores no FUGM ensilado aos 35 dias. A inclusão de inoculante bacteriano, do benzoato de sódio e o processo de ensilagem favoreceram a conservação do FUGM.

Palavras-chave: Bactérias lácticas, Clostrídios, Coprodutos, Conservação, Silagem

ABSTRACT

Wet corn gluten feed (WCGF) is a byproduct of the wet milling of grains industry and, despite of potential use in animal diets, information about stock of the ingredient are scarce. Thus, were made two experiments to characterize the preservation of WCGF in different strategies of storage. In the first, aimed to evaluate physicochemical and microbiological aspects of WCGF according to time of ensilage. The coproduct was ensiled in experimental tubes of PVC and after one, three, seven, 14, 21, 28 and 42 days, physical, chemical and microbiological evaluation of the silage were made. Days of ensiling did not affect neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), crude protein (CP), mineral matter (MM), non-nitrogenous extract (NNE) e total digestive nutrients (TDN) percentages, beyond the count of colonies forming units (CFU) of clostridia. Equations of dry matter (DM), ether extract (EE), effluents losses and gas losses percentages and count of lactic bacteria had low coefficient of determination ($r^2 \leq 0.6$), with variation of 46.54 and 49.05%; 0.96 and 1.71%; 17.97 and 35,14 g kgNM⁻¹; 1.90 and 5.68% and 5.0 and 6.9 log cfu g of silage⁻¹, respectively. The pH (4.12926-0.00894days+0,00024126days²) and the counts of moulds and yeasts – log cfu g de silage⁻¹ (7.04228-0.09341days+0.00143days²) had their minor values, respectively, in 18.5 and 32.7 days, while the temperature (19,82657+0,11734dias-0,00502dias²) peaked in 11.7 days. The ensiling allows efficient chemical, microbiological and physical aspects conservation of the WCGF. In the second experiment, aimed to evaluate physicochemical and microbiological aspects of the WCGF in two methods of storage and inclusion of three additives. Were made silos and mounds with 100% of the by-product, 0.1% of sodium benzoate, bacterial inoculant and 10% of pelleted citrus pulp (PCP) evaluated at zero and 35 days. After variance analysis and means test, was observed that addition of PCP increased DM and ADF and even decreased CP, NDF in mounds and increased the count of clostridial at 35 days. The ensiling reduced 6.86% of DM and 17.76% of NNE. At 35 days, reduced 1.65% of the TDN, increased 12.18% of ADF and count of moulds and yeasts. Inclusion of sodium benzoate and bacterial inoculant inhibited fungal growth compared to control. As opposed to storage time, the sodium benzoate inhibited lactic bacteria growth. The interaction of the three variables affected temperature and pH, being lower at 35 days in the silages. Microbiological additive, sodium benzoate and ensiling favors the preserving of the wet corn gluten feed.

Keywords: By-product, Clostridia, Conservação, Lactic bacteria, Silage, *Zea mays*

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Utilização de coprodutos agroindustriais na alimentação animal

A inclusão de coprodutos agroindustriais na nutrição animal depende, basicamente, do conhecimento de diversos fatores inerentes a cada um desses resíduos, tais como a composição bromatológica, sazonalidade de oferta, viabilidade econômica, formas de armazenamento e segurança alimentar e ambiental (MENEGHETTI; DOMINGUES, 2008).

A busca por informações tem como objetivo suprir a escassez de dados sobre a utilização desses ingredientes, principalmente para dietas de ruminantes, além de evitar perdas econômicas pelo seu uso inadequado (PEREIRA et al., 2009). Também é necessário considerar o fato de que, por não tratar-se do substrato principal do processo industrial, há uma desigualdade na composição dos coprodutos de acordo com lote, época do ano, formas de armazenamento e o processo de produção pelo qual este foi obtido (NRC, 2001).

Santos et al. (2001) afirmam a ocorrência de uma redução na margem de lucro na produção de carne e leite quando é realizada a implantação de lavouras anuais para a produção de silagens. Como alternativa à necessidade do uso deste tipo de estratégia, principalmente no período com maior escassez de alimentos, compreendido pela época seca do ano, estes autores sugerem a utilização de resíduos agroindustriais com maior disponibilidade regional, visto o elevado potencial nutritivo que estes produtos têm apresentado.

Aghsaghah; Sis (2008) realizaram uma revisão sobre o uso de diversos coprodutos agroindustriais na alimentação de ruminantes em todo o mundo. Os autores observaram que, além dos coprodutos já consolidados na nutrição animal, como os farelos, farinhas, grãos e melaços, resíduos menos convencionais vêm sendo utilizados, como resíduos do processamento de frutas e vegetais. Eles compilaram resultados de diversos trabalhos e verificaram que o valor nutricional e digestibilidade destes ingredientes são influenciados pela matéria-prima e processo de produção. No entanto, concluem que os dados existentes não são suficientes para caracterizar as diferentes frações destes coprodutos e sugerem processos físicos e químicos para elevar o valor nutritivo de alguns ingredientes.

Furtado; Brandi; Ribeiro (2011) relatam que muitas vezes há ausência de pesquisas conclusivas referentes aos diversos coprodutos utilizados nas dietas para equinos. Estes autores relatam estudos com farelos de girassol, canola, linhaça, grão seco de linhaça, palhas e

cascas de cereais, resíduos de cervejaria e de mandioca, polpa cítrica peletizada e leveduras, incluindo suas restrições, limitações e benefícios do consumo para a espécie.

O uso de resíduos industriais na alimentação dos animais de produção não é uma estratégia recente e, apesar de eficiente nutricional e economicamente, a falta de padronização desses coprodutos dificultam seu uso em sistemas de produção eficientes. A caracterização de tais ingredientes, por meio de métodos analíticos simples, permite a avaliação rápida e eficaz destes alimentos (AGHSAGHAL; SIS, 2008).

Marcondes et al. (2009) objetivaram avaliar a digestibilidade ruminal *in vivo* de proteína bruta de cereais, resíduos e coprodutos industriais e concluíram que houve digestão superior a 90% da proteína dos alimentos energéticos (farelos de arroz, babaçu, trigo e de gérmen de milho, milho grão, desintegrado com sabugo e desintegrado com palha e sabugo, polpa cítrica e sorgo) e protéicos (farelos de algodão, amendoim, girassol e soja, feijão bandinha, glúten de milho, grão de soja, levedura, Promil e Refinazil).

Oliveira et al. (2012) revisaram trabalhos referentes à utilização de tortas oleaginosas oriundas da produção do biodiesel em dietas de ruminantes como tortas de algodão, amendoim, babaçu, palma, girassol e soja. Foi observado que, além do elevado teor de MS destes ingredientes (acima de 90%), estes produtos têm elevado potencial de uso na alimentação de ruminantes devido aos consideráveis teores de proteína bruta e extrato etéreo em sua composição.

A inclusão entre 4 e 16% de coproducto do urucum (*Bixa orellana*) em silagem de capim Elefante foi estudada por Rêgo et al. (2010). Houve relação linear de alto ajuste ($r^2 > 0,6$) entre o nível de inclusão do coproducto na silagem e a ingestão de matéria orgânica e de carboidratos por ovinos. Ainda com esta espécie, Santos et al. (2011) concluíram que a substituição parcial da silagem milheto por silagem de coprodutos da obtenção da fibra do sisal (mucilagem e pó) não afetou o ganho de peso dos animais, além de permitir maiores viabilidades técnica e econômica do sistema produtivo.

Silva et al. (2010) avaliaram parâmetros de consumo em cabras leiteiras alimentadas com dietas compostas entre zero e 40% de resíduo úmido de cervejaria e observaram que a inclusão deste coproducto em 25% da MS da dieta estimula o consumo alimentar.

Além da função de suprir as necessidades nutricionais das dietas de ruminantes, existem pesquisas que têm como intenção avaliar a capacidade funcional de determinados resíduos agroindustriais. Um exemplo é o trabalho realizado por Apás et al. (2008) que concluíram que o uso de resíduo da cana-de-açúcar pode ter função probiótica em caprinos, além de ter

capacidade de conservação de alimentos, pela inibição do crescimento de enterobactérias e fungos.

O processamento industrial do milho pela moagem úmida permite a separação dos diferentes componentes do grão (germe, fibra, amido e glúten) com o interesse principal na obtenção máxima de amido. Tal mecanismo consiste na maceração dos grãos em fluxo contracorrente em solução de 0,1 a 0,2% de dióxido de enxofre (SO_2), com temperatura entre 50 e 55°C por 24 a 38 horas contínuas (LOPES FILHO, 1999). Nesta etapa o grão de milho adsorve grande quantidade de água e atinge umidade em torno de 50% (STEINKE; JOHNSON; WANG, 1991). Este estágio da transformação do grão é responsável por gerar uma grande variedade de produtos, dentre estes, resíduos líquidos e sólidos com alto potencial nutritivo para a alimentação animal.

Alves et al. (2007) testaram a substituição de 8 e 16% da silagem de milho por farelo de glúten de milho (FGM) em vacas holandesas em regime de *free stall* e concluíram que os animais alimentados com dietas inclusas do coproducto do milho obtiveram, em média, aumento de 6% na produção de leite, 6,3% na produção de proteína, 6% de sólidos totais 13,7% de produção de lactose/animal/dia e com custos de produção similares, sendo, portanto, mais eficientes economicamente.

1.2 Farelo úmido de glúten de milho

Na moagem úmida dos grãos de milho (Figura 1), após o tempo de repouso em solução sulfitada, há a evaporação da água de maceração, moagem e centrifugação da massa de grãos para a obtenção do germe, além da remoção do óleo por meio de solventes. Finalmente ocorre uma moagem final em discos e peneiragem e centrifugação do material restante, resultando no recolhimento das cascas e passagem do amido e glúten. As cascas obtidas nesta etapa adicionadas da água de maceração do processo inicial consistem o farelo úmido do glúten de milho (FUGM) (MENEGETTI; DOMINGUES, 2008; FUNDAÇÃO CARGILL, 1980).

As principais características que diferem o FUGM do FGM são o processo industrial de secagem deste último, elevando assim seu teor de MS, e o tamanho maior das partículas do FUGM. Apesar disso, em geral, não são verificadas outras diferenças entre suas frações de nutrientes. Um dos fatores que favorecem o uso deste coproducto em sua forma úmida é o custo por kg de MS, porém, os maiores gastos com transporte e as perdas decorrentes da umidade superior deste produto podem gerar desvantagens em relação ao FGM (OHIO AGRICULTURAL RESEARCH AND DEVELOPMENT CENTER, 1989).

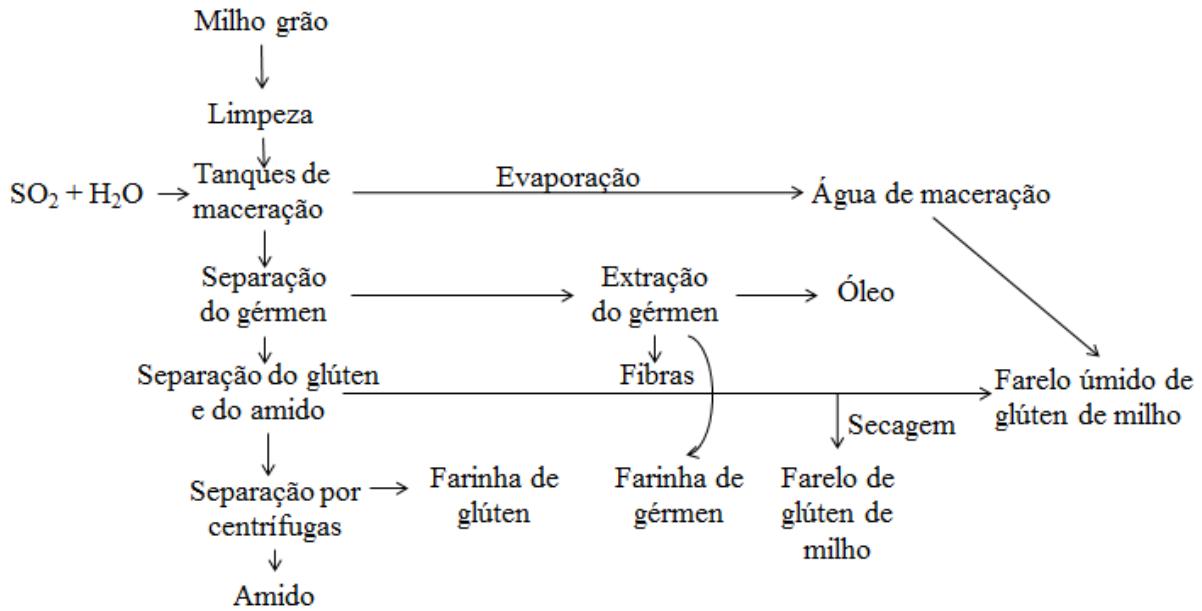


Figura 1: Fluxograma do processo de moagem úmida do milho com a obtenção de coprodutos
Adaptado de Lopes Filho (1999) e Pinto (2009)

As condições em que os grãos de milho estão envolvidos no processo de maceração úmida favorecem o crescimento de lactobacilos capazes de promover a quebra de carboidratos solúveis na água de maceração e, como consequência do consumo de açúcares, há a produção de ácido lático levando à redução de pH (LOPES FILHO, 1999). O grão do milho possui uma diversidade de microrganismos epífíticos, sendo grande quantidade removida pelos métodos físicos e químicos do processamento industrial. Portanto, espera-se alterações no perfil microbiológico das silagens das diferentes frações dos grãos.

Mullins et al. (2010) observaram que a ingestão de matéria seca de vacas lactantes teve comportamento linear em relação ao aumento dos níveis de FUGM, entre 0 e 34%, em dietas a base de silagem de milho e alfafa, provavelmente devido à redução do tamanho de partículas ingeridas que elevaram a velocidade de passagem do alimento pelo rúmen. Os autores também sugeriram que a maior eficiência na produção de leite foi decorrente da maior ingestão da matéria seca.

Sullivan; Grigsby e Bradford (2012) realizaram um experimento com objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de FUGM na dieta de vacas holandesas e observaram que o incremento do coproducto em até 35,1% da MS total da dieta não influenciou o pH ruminal. Além disso, observou-se aumento da produção de proteína e lactose de acordo com o aumento da inclusão, com comportamento quadrático na produção de leite tendo o seu pico máximo com 24,5% de FUGM na dieta.

A inclusão do FUGM em adaptação à dietas de alto grão em bovinos de corte vem sendo estudada. Em novilhos da raça Hereford, Krehbiel et al. (1995) avaliaram os efeitos do uso de FUGM no desempenho e ocorrência de acidose ruminal durante a adaptação a dietas de alto grão no início da terminação e concluíram que a inclusão do FUGM nestas condições não reduziu a ocorrência de acidose subaguda. No entanto, a inclusão do coproduto implicou em redução do tempo de exposição à acidose ruminal, sugerindo que a adaptação a dietas de alto grão com FUGM pode ser eficiente.

Em condições tropicais, Carvalho et al. (1998) incluíram 27,3% do FUGM em dietas de novilhos Nelore em terminação a base de milho moído e bagaço de cana-de-açúcar. Foi observado aumento no consumo de matéria seca e igualdade estatística na degradabilidade aparente dos nutrientes e no pH ruminal, sendo este último sempre acima de 6,2.

1.3 Conservação de alimentos para animais

Diferentes estratégias são utilizadas para a conservação de alimentos para animais, seja por meio da desidratação dos materiais, como o processo de fenação, ou realizando o armazenamento do produto na forma úmida, pelo processo de ensilagem (COSTA et al., 2002).

A ensilagem é baseada no armazenamento de uma cultura forrageira, subproduto agroindustrial ou resíduo da produção animal em condições de ausência de oxigênio. Neste ambiente, há o estímulo da proliferação de bactérias anaeróbicas que, por meio da conversão de açúcares do produto ensilado em ácidos orgânicos, com essencial destaque ao ácido lático, reduzem o pH da silagem (PEDROSO, 1998).

A fermentação bacteriana de açúcares resulta na produção dos ácidos lático e acético, responsável pela queda do pH do material ensilado. Como consequência, ocorre a supressão da atividade de enzimas proteolíticas existentes no próprio material ensilado, capazes de gerar a degradação protéica do produto. Além disso, o ambiente acidificado gera a inibição de microrganismos anaeróbicos, favorecendo a conservação do alimento (MUCK, 1988).

O início da fase anaeróbia ou fermentativa ocorre a partir do consumo de todo oxigênio existente na massa ensilada. A depleção da concentração de oxigênio é influenciada principalmente, pelo tamanho e compactação das partículas no momento da ensilagem

(SANTOS et al., 2010). O menor o tamanho da partícula promove a expulsão de ar de forma mais eficiente, levando a uma maior capacidade de compactação da massa.

Tomich et al. (2003) destacam que a expulsão do ar no momento da ensilagem está diretamente relacionada à compactação da massa que, por sua vez, tem influência direta do tamanho da partícula e teor de matéria seca (MS) do material. Dessa forma, afirmam que silagens com teor de MS acima de 60% e tamanho de partícula entre 2 e 2,5 cm permitem uma compactação adequada. Outra questão que os autores abordam é a vedação da silagem, sugerindo o fechamento do silo o mais rápido possível.

1.4 Microbiologia das silagens

Segundo Oliveira (2001), o desenvolvimento da microbiota da silagem, depende de fatores como a concentração de oxigênio, pH, temperatura e umidade da massa ensilada. Este autor afirma também que a microbiota da silagem é dividida em microrganismos desejáveis, compostos pelas bactérias produtoras de ácido lático que são as grandes responsáveis pelo abaixamento do pH e, microrganismos indesejáveis, responsáveis pela deterioração anaeróbia, como clostrídios e enterobactérias, e aeróbia, como as leveduras e bolores.

No período entre a obtenção do produto e o momento da ensilagem há uma grande disponibilidade de oxigênio, permitindo elevadas concentrações de microrganismos aeróbios estritos ou facultativos, responsáveis por perdas significativas de carboidratos solúveis e, como consequência, decréscimo do valor nutritivo da silagem. Destaca-se a ação das leveduras, que utilizam o ácido lático e favorecem o aumento do pH, estimulando o crescimento de populações de microrganismos inibidos pela acidez (JOBIM; BRANCO; SANTOS, 2003).

Muck (1988) afirma que a entrada de ar em silos mal vedados leva à multiplicação de microrganismos aeróbios, como bolores, leveduras e bacilos, que utilizam uma grande variedade de substratos existentes na matéria ensilada. Como consequência da degradação, principalmente de carboidratos, ácidos orgânicos e proteínas, ocorrem perdas de MS e energia, gerando produção de calor.

Jobim et al. (2007) enfatizam a importância de tecnologias adequadas para a produção eficiente de uma silagem, visto que as medidas de produção e conservação adotadas ocasionam eventos bioquímicos e microbiológicos variados, podendo levar a alterações no valor nutricional do alimento, determinante do consumo e do desempenho animal

Caso as condições de presença de oxigênio em silagens úmidas tornem-se prolongadas, há o desenvolvimento intenso de leveduras e mofos, além da manutenção do processo respiratório das células da planta, acarretando o aquecimento excessivo da massa ensilada, o que gera proteólise e consequente perda de compostos nitrogenados por lixiviação (PEDROSO, 1998).

Castagnara et al. (2011) observaram, em silagem experimental de aveia branca (*Avena sativa* cv. IPR 126), redução linear da contagem de bolores e leveduras ($r^2=1$) na abertura dos silos nos dias 14, 28 e 56. Borreani e Tabacco (2010) correlacionaram o aumento da temperatura do milho ensilado com a contagem de bolores e leveduras obtidas nessas áreas, obtendo, respectivamente coeficiente de determinação (r^2) de 0,59 para contagem de leveduras e 0,75 para a contagem de bolores, sugerindo o aumento da temperatura como uma consequência do consumo de lactato por fungos.

Apesar da ausência de oxigênio permitir o crescimento de enterobactérias, bactérias fermentadoras do ácido acético e clostrídios, microrganismos associados a perdas pela fermentação butírica (IGARASI, 2002), a condição de anaerobiose e aporte adequado de nutrientes, representados pelos carboidratos solúveis, favorecem o desenvolvimento de bactérias homofermentativas produtoras de ácido lático, responsáveis pela redução rápida e intensa do pH da silagem (PEDROSO, 1998).

Além da produção de ácido lático, de maior capacidade de redução do pH, bactérias heterofermentativas remanescentes da fase aeróbia produzem etanol, ácido acético e dióxido de carbono, advindos da fermentação de pentoses e hexoses (OLIVEIRA, 2001). Este autor complementa que, quanto mais acelerado se completa o processo fermentativo, menor será a perda de nutrientes e, ao atingir um pH de aproximadamente 4, ocorre a estabilização da silagem, fase onde há a inibição do crescimento bacteriano devido à elevada acidez, perdurando até o período de abertura do silo ou momento em que haja contato com o ar.

Segundo Muck (1988), os clostrídios são os principais microrganismos anaeróbicos deteriorantes da silagem, divididos em sacarolíticos e proteolíticos. Os clostrídios sacarolíticos basicamente, fermentam carboidratos e ácidos orgânicos existentes na silagem, produzindo como metabólicos, ácido butírico, dióxido de carbono e hidrogênio. Já os clostrídios proteolíticos fermentam aminoácidos, produzindo diversas espécies de ácidos orgânicos, dióxido de carbono, amônia e aminas.

Schoken-Iturrino et al. (2005) afirmam que, em silagens com pH superior a 5,2, pode haver a ocorrência de bactérias do gênero *Listeria sp.*, responsáveis por perdas de MS. Estes

autores ressaltam que estes microrganismos são altamente dependentes do pH da silagem, sendo sua multiplicação inibida parcial ou totalmente por meio do rebaixamento do pH.

1.5 Avaliações físico-químicas das silagens

A ensilagem é uma técnica de conservação do alimento que busca ao máximo, a preservação das características do produto fresco no momento da desensilagem. Jobim et al. (2007), em uma revisão detalhada sobre metodologias adequadas à avaliação da qualidade de forragens conservadas, cita diversos procedimentos auxiliares aos tradicionais métodos químicos já consolidados, como a determinação da MS, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB). Estes autores esclarecem que, complementar às características bromatológicas e sensoriais (visão e olfato), as avaliações físicas, como a determinação dos valores de pH e massa específica, e quantificação de microrganismos permitem a representação de fatores críticos do processo de ensilagem.

A massa específica (ME), medida em kg de matéria verde por m³ (kgMV.m⁻³) ou em kg de matéria seca por m³ (kgMS.m⁻³) é fator de alta relação com a qualidade da silagem e representa o nível de compactação do material, determinante da capacidade de conservação. São utilizadas diversas metodologias para a determinação da ME, sendo as mais comuns por meio da pesagem da massa ensilada retirada em um compartimento de volume conhecido (SILVA et al., 2011)

Em levantamento realizado em propriedades de leite e corte nas regiões Sudeste e Centro-oeste brasileira, Igarasi (2012) observou valores de ME entre 413 e 891 kgMV.m⁻³ em silagens de gramíneas tropicais. Entretanto, a compactação excessiva do material possibilita o aumento da perda por efluentes e tal perda é uma consequência indesejável do processo, consistindo na lixiviação de nutrientes em intensidades variáveis durante o período da ensilagem (OLIVEIRA et al., 2010).

Avaliando diferentes densidades de compactação em silos experimentais de capim Marandu (97,4; 118,6; 139,2 e 164 kgMS.m⁻³), Amaral et al. (2007) observaram menores perdas por gases nas densidades de 139,2 (5,2%) e 164 kgMS.m⁻³ (6%) em relação aos tratamentos com 118,6 kgMS.m⁻³(12,8%). No entanto, o aumento da densidade de ensilagem provocou a redução do pH, sendo observados valores de 6,8; 6,8; 4,9 e 4,8, da menor para a maior densidade.

O pH é um parâmetro físico que permite a caracterização das diferentes condições correntes no processo de ensilagem (OLIVEIRA, 2001). Pedroso (1998) complementa que a rápida queda do pH da silagem permite o controle da microbiota deteriorante da massa e que a rápida e intensa queda desses valores é fundamental na preservação do alimento ensilado.

Ferreira (2001) sugere que o pH adequado da silagem seja entre 3,8 e 4,2. No entanto, Tomich et al.(2003) afirmam que o limite superior da faixa adequada de pH para que silagens tenham fermentação adequada aumenta de acordo com o conteúdo de MS do material, podendo chegar a 4,6 quando estes teores passarem de 40%.

Em silagens de milho e girassol, Possenti et al. (2005) encontraram valores de pH, respectivamente, de 4,08 e 5,14. Os autores justificam o elevado pH da silagem de girassol como decorrência da neutralização do ácido lático, pela decomposição protéica oriunda da maior proteína bruta (11,6%) em relação à silagem de milho (9,4%). Entretanto, ao observar a MS de ambas, a silagem de milho teve maior teor desta fração (34,6 vs 22%).

A perda de nutrientes ocasionada pelo processo de ensilagem pode ser quantificada pela quantidade de partículas eletricamente carregadas, extravasadas do meio intracelular, na porção aquosa da massa. Assim, é possível a determinação deste parâmetro por meio da avaliação da condutividade elétrica (CE) da massa pela utilização de condutivímetro digital (JOBIM et al., 2007). Castro et al. (2006) avaliando silagens de capim Tifton-85 (*Cynodon spp.*) após emurcheчimento aditivadas com *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus acidilactici*, observaram aumento da CE entre zero ($879\mu\text{s.cm}^{-1}$) e 32 dias de ensilagem ($1120\mu\text{s.cm}^{-1}$), com posterior decréscimo aos 180 dias ($811\mu\text{s.cm}^{-1}$). Na avaliação de silagens de gramíneas forrageiras em propriedades comerciais, Igarasi (2012) observou média de CE de $943\mu\text{s.cm}^{-1}$.

Frequentemente são encontrados na literatura trabalhos incluindo a concentração de ácidos orgânicos e etanol como parâmetros de qualidade da silagem. Tal relação deve-se ao interesse do rebaixamento do pH da massa ensilada pelo aumento das concentrações de ácido lático produzido pelas bactérias ácido-láticas. O incremento desse ácido favorece o crescimento destes microrganismos e inibe o desenvolvimento da microbiota deteriorante das silagens (ÁVILA et al., 2010), produtora principalmente dos ácidos acético, butírico e propiônico. Tomich et al. (2003) propõem, para silagens de qualidade excelente, concentrações dos ácidos acético e butírico menores que 2,5 e 0,1% na MS, respectivamente.

Zopollatto et al. (2009) sugerem que o uso de aditivos com bactérias láticas homo e heterofermentativas tem como objetivo, além de estimular a competição por substrato,

favorecer as concentrações ideais dos ácidos lático e acético. Essa condição ótima permitirá menores concentrações de etanol e crescimento de fungos, com aumento da recuperação de energia e matéria seca.

Jobim et al. (2007) indicam outros parâmetros físicos como a determinação da estabilidade em aerobiose da silagem em função do tempo de exposição ao ar e a mensuração da atividade de água, permitindo avaliar a disponibilidade de água para o desenvolvimento de microrganismos.

1.6 Aditivos para silagens

A inclusão dos aditivos em silagens tem como propósito a modificação do processo fermentativo. São utilizados como alternativa para a manutenção da qualidade nutricional devido a redução de perdas, além de, em determinados casos, elevar os níveis nutricionais do alimento (FERRARI JÚNIOR, 2009). Essas características motivam a realização de diversas pesquisas que vêm sendo desenvolvidas com intuito de avaliar a capacidade de conservação de silagens e rações animais por meio da inclusão de aditivos químicos já consolidados na indústria alimentícia.

O benzoato de sódio ($C_7H_5O_2Na$) é um sal de sódio do ácido benzóico encontrado, em temperatura ambiente, como um pó de cor branca, sendo altamente solúvel em água. Sua função como conservante é favorecida pelo pH ácido onde é convertido em ácido benzóico não-dissociado. Dessa forma, ele é utilizado com maior frequência como agente conservante em sucos de frutas e bebidas não alcoólicas industrializadas. O uso do ácido benzóico não é empregado com frequência na indústria alimentícia devido sua solubilidade em água ser aproximadamente 200 vezes menor que o benzoato de sódio. Além disso, em testes com ratos e camundongos, não foi encontrada ação carcinogênica de tais produtos, demonstrando a segurança da sua utilização por períodos prolongados. (W.H.O, 2005).

A ação conservadora destes elementos consiste nas suas funções bacteriostáticas e fungistáticas, inibindo proliferação de microrganismos por meio da atuação em enzimas e parede celular, prolongando as características originais do alimento (KAWASE et al., 2009).

Ao comparar o benzoato de sódio a 0,1% e 0,5% de ureia como conservantes da silagem de cana-de-açúcar, Schmidt et al. (2007) não observaram diferença em nenhuma das variáveis físico-químicas, de consumo e digestibilidade, com exceção do percentual de nitrogênio amoniacial, superior no tratamento com ureia (9,61 vs 1,69%).

A polpa cítrica é um coproducto da indústria cítrica com teores de proteína bruta entre 6 e 8%, com aproximadamente 78% de nutrientes digestíveis totais (NDT) frequentemente inserida em silagens como aditivo (FERRARI JÚNIOR et al., 2009). A inclusão de polpa cítrica peletizada (PCP) permite elevar a MS de silagens de gramíneas devido ao seu baixo teor de umidade.

Evangelista; Lima; Bernardes (2000) observaram aumento da MS, do FDA e da energia bruta da silagem de capim-estrela roxa (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst) aditivada com 4% de PCP, além da redução do FDN e do pH. A composição da PCP utilizada neste experimento foi de 88% de MS, 6% de proteína bruta, 25% de fibra em detergente neutro, 24% de fibra em detergente ácido e 6% de matéria mineral.

Em silagens de capim Elefante Paraíso (*Pennisetum hybridum* cv. Paraíso) aditivadas de PCP com 5 e 10%, Ferrari Júnior et al. (2009) observaram aumento da MS gradativamente à inclusão do aditivo. A proteína bruta e o extrato etéreo foram reduzidos com a inclusão de 10% de PCP, em relação à silagem sem aditivos.

A dinâmica microbiológica da silagem de capins Tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) e Marandu (*Brachiaria brizantha* Stapf cv. Marandu) aditivadas com PCP foi avaliada por Coan et al. (2007). Os autores observaram que a inclusão do aditivo em 5% e 10% não afetou a contagem de clostrídios no momento da ensilagem, sugerindo a ausência de esporos viáveis na PCP. Após 24 horas, entretanto, houve aumento na contagem de clostrídios na silagem de capim Tanzânia aditivada, além de redução e aumento, respectivamente, da população dessas bactérias nas silagens de capim Marandu aditivadas com 5% e 10% de PCP. O pH também foi avaliado pelos autores que observaram que o aumento da inclusão de PCP promoveu uma acidificação mais brusca entre o 1º e o 4º dia de ensilagem, mantida até os 56 dias.

Recentes pesquisas demonstram a variedade de espécies de bactérias ácido lácticas responsáveis pela estabilidade aeróbica das silagens, além da frequente identificação de novas espécies ainda desconhecidas, tanto epífíticas quanto contaminantes da massa ensilada (MUCK, 2013).

Baseado no conhecimento da ação dos microrganismos que favorecem a qualidade das silagens, os inoculantes bacterianos são os aditivos mais utilizados e consistem em culturas de bactérias capazes de produzir ácido láctico em quantidades que permitem o rápido rebaixamento e manutenção do pH, favorecendo a preservação da silagem, minimizando perdas e inibindo o crescimento de clostrídios (RODRIGUES et al., 2002).

Castagnara et al. (2011) testaram a influência da inclusão de inoculante bacteriano com *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* em silagem de aveia branca (*Avena sativa* cv. IPR 126) e não observaram a interferência do aditivo na contagem de colônias de bactérias ácido lácticas, bolores, leveduras, enterobactérias e clostrídios.

Vittori (2009) também não observaram alterações nas contagens de bolores, leveduras e bacilos em silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com *Lactobacillus buchnerium*. Entretanto, ao comparar os parâmetros químicos de ambos os tratamentos, houve queda do pH (4,67 vs 4,86) e aumento da MS (24,40 vs 22,53%) na silagem aditivada.

A inclusão de *Lactobacillus plantarum* em silagem de capim Elefante (*Penisetum purpureum*) foi estudada por Zanine et al. (2007) que observaram menores pH (4,73 vs 4,35) e perdas por gases (2,15 vs 1,44 % da MS) e maior concentração de ácido láctico na silagem aditivada.

Carvalho et al. (2013) testaram a inclusão de ácido propiônico e *Lactobacillus plantarum* (UFLA SIL 1) em silagens de cana-de-açúcar aditivadas ou não com óxido de cálcio e observaram redução do pH e da contagem de microrganismos deteriorantes (fungos e clostrídios) com a adição do ácido orgânico. Apesar disso, somente com a inclusão das bactérias lácticas, onde não se encontrou alterações nas contagens de microrganismos, houve redução das perdas de matéria seca, favorecendo a manutenção da composição química da silagem.

A divergência entre os resultados obtidos com o uso de aditivos microbiológicos em silagens de milho, sorgo, cana-de-açúcar e capins no Brasil foi estudada por Zopollatto et al., (2009). Os autores puderam observar que melhorias sobre a qualidade de silagem e desempenho animal com o uso de aditivos microbiológicos tendem a ser baixas ou médias. É ressaltado também que a resposta ao uso destes inoculantes é muito dependente da espécie ensilada e dos microrganismos utilizados, sugerindo a realização de pesquisas futuras explorando a especificidade de cada uma das interações.

REFERÊNCIAS

AGHSAGHALI, A.M.; SIS, N.M. Nutritive value of some agro-industrial by-products for ruminants – A review. **World Journal of Zoology**, Dubai, UAE, v.3, n.2, p.40-46, jun., 2008. Disponível em: <[http://idosi.org/wjz/wjz3\(2\)2008/2.pdf](http://idosi.org/wjz/wjz3(2)2008/2.pdf)> Acesso em: 01 out. 2013.

ALVES, A.C.N.; MATTOS, W.R.S.; SANTOS, F.A.P.; LIMA, M.L.P.; PAZ, C.C.P.; PEDROSO, A.M. Substituição parcial de silagem de milho por farelo de glúten de milho

desidratado na alimentação de vacas holandesas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, n.5, suplemento, p.1590-1596, set./out., 2007.

AMARAL, R.C.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R.; REIS, R.A. Características fermentativas e químicas de silagem de capim-marandu produzida com quatro pressões de compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, n.1, p.532-539, jan./fev., 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v36n3/a03v36n3.pdf>>. Acesso em: 03 jan. 2014.

APÁS, A.L.; ARENA, M.E.; DRAKSLER, D.; GONZÁLEZ, S.N. Utilization of sugarcane industrial residues as animal food and probiotic medium. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, Japan, v.106, n.4, p.363-367, out., 2008. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1389172308701968/1-s2.0-S1389172308701968main.pdf?_tid=691c322c-94ca-11e3-88560000aacb35e&acdnat=1392308462_3e08d439566642fb0f45cf72ab2b9f> Acesso em: 20 jan. 2014.

ÁVILA, C.L.S.; VALERIANO, A.R.; PINTO, J.C.; FIGUEIREDO, H.C.P.; REZENDE, A.V.; SCHWAN, R.F. Chemical and microbiological characteristics of sugar cane silages treated with microbial inoculants. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.39, n.1, p.25-32, jan., 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010000100004&script=sci_arttext> Acesso em: 08 dez. 2013.

BORREANI, G; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, USA, v.93, n.6, p.2620-2629, jun., 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494171>> Acesso em: 31 jan. 2014. doi: 10.3168/jds.2009-2919.

CARVALHO, M.P.; BOIN, C.; LANNA, D.P.D.; TEDESCHI, L.O. Substituição parcial do milho por subprodutos energéticos em dietas de novilhos, com base em bagaço de cana tratado à pressão e vapor: digestibilidade, parâmetros ruminais e degradação in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.27, n.6, p.1182-1192, dez., 1998. Disponível em: <<http://www.sbz.org.br/revista/artigos/2218.pdf>> Acesso em: 08 fev. 2014

CARVALHO, B.F.; ÁVILA, C.L.S.; PINTO, J.C.; SCHWAN, R.F. Effect of propionic acid and Lactobacillus plantarum UFLA SIL 1 on the sugarcane silage with and without calcium oxide. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v.7, n.32, p.4159-4168, ago., 2013. Disponível em: <<http://academicjournals.org/journal/AJMR/article-abstract/D9BD8D713441>> Acesso em: 28 dez. 2013.

CASTAGNARA, D.D.; FERNANDES, T.; AMES, J.P.; NERES, M.A.; ZAMBOM, M.A.; HEINZEN, E.L. Perfil microbiológico da silagem de aveia branca com e sem uso de inoculante bacteriano. **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA** 48, 2011, Belém. **Anais...**, 2011. Disponível em: <http://cac.php.unioeste.br/projetos/cmetloeste/pub_tecnicas/Perfil_microbiologico_da_silagem_de_aveia_branca_com_e_sem_uso_de_inoculante_microbiano.PDF> Acesso em: 28 dez. 2013.

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**, Viçosa, MG, v.35, n.2, p.358-371, mar./abr., 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982006000200005> Acesso: 03 out. 2013.

COAN, R.M. et al. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins Tanzânia e Marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, n.5, suplemento, p.1502-1511, set./out., 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982007000700007> Acesso em: 11 set. 2013.

COSTA, C.; ARRIGONI, M.B.; SILVEIRA, A.C.; OLIVEIRA, H.N. Desempenho de bovinos superprecoce alimentados com silagem de milho ou feno de aveia e grãos de milhos ensilados ou secos. **Acta Scientarum**, Maringá, PR, v.24, n.4, p.1175-1183, 2002. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/2585/1762>>. Acesso em: 28 dez. 2013.

EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A.; BERNARDES, T.F. Avaliação de algumas características da silagem de gramínea Estrela roxa (*Cynodon nemfuensis* Vanderyst). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.29, n.4, p.941-946, jul./ago., 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v29n4/5604.pdf>> Acesso em: 12 out. 2013.

FERRARI JUNIOR, E.; PAULINO, V.T.; POSSENTI, R.A.; LUCENAS, T.L. Aditivos em silagem de capim Elefante Paraíso (*Pennisetum hybridum* cv. Paraíso). **Archivos de zootecnia**, Cordoba, Colombia, v.58, p.185-194, jun., 2009. Disponível em: scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0004-05922009000200003&script=sci_arttext&tlang=pt. Acesso em: 11 jan. 2014.

FERREIRA, J.J. Características qualitativas e produtivas da planta de milho e sorgo para silagem. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.P.; RODRIGUES, J.A.S.; FERREIRA, J.J. **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2001, 544p.

FUNDAÇÃO CARGILL. Produtos de milho processados por via úmida para o uso em rações. Campinas, SP, 20p., 1980.

FURTADO, C.E.; BRANDI, R.A.; RIBEIRO, L.B. Utilização de coprodutos e demais alimentos alternativos para dietas de equinos no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.40, suplemento especial, p.232-241, 2011. Disponível em: <www.sbz.org.br/revista/artigos/66278.pdf> Acesso em: 03 dez. 2013.

IGARASI, M.S. **Controle de perdas na ensilagem de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) sob os efeitos do teor de matéria seca, do tamanho de partícula, da estação do ano e da presença de inoculante bacteriano**. 2002, 151f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2002. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11139/tde-12082002-151258> Acesso em: 26 set. 2013.

IGARASI, M.S. Levantamento e avaliação de índices técnicos associados à produção de silagens de gramíneas tropicais em sistemas de produção animal. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, MG, v.18, n.1, p.39-48, jan./jun., 2012. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/vetnot/article/view/19796>> Acesso em: 11 jan. 2014.

JOBIM, C.C.; BRANCO, A.B.; SANTOS, G.T. **Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos leiteiros**. In: V Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte e Leite. Goiânia, GO. 2003. P.357-376. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/graosumidos.pdf>> Acesso em: 03 out. 2013.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, suplemento especial, p.101-119, jul., 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982007001000013> Acesso em: 16 out. 2013. doi: 10.1590/S1516-35982007001000013.

KAWASE, K.Y.F.; COELHO, G.L.V.; LUCHESE, L.H. Uso de ácido benzoico micronizado na conservação de suco de laranja. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, Especial VII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, p.20-26, jun., 2009. Disponível em: <bjft.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial_2009_2/v12ne_t0067.pdf> Acesso em: 04 fev. 2013.

KREHBIEL, C.R.; STOCK, R.A.; HEROLD, D.W.; SHAIN, D.W.; HAM, G.A.; CARULLA, J.E. Feeding wet corn gluten feed to reduce subacute acidosis in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, USA, v.73, n.10, p.2931-2939, out., 1995. Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/73/10/2931>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LOPES FILHO, J.F. Avaliação da maceração dinâmica do milho após um curto período de hidratação e subsequente quebra do pericarpo do grão. **Food Science and Technology**, Campinas, SP, v.19, n.3, set./dez., 1999. Disponível em: <www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611999000300005&script=sci_arttext> Acesso em: 12 out. 2013.

MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D.; SILVA, L.F.C.; FONSECA, M.A. Degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta de alimentos para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.38, n.11, p.2247-2257, nov., 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982009001100026> Acesso em: 28 dez. 2013.

MENEGHETTI, C.C.; DOMINGUES, J.L. Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, [S.l], v.5, n.2, p. 512 – 536, mar./abr., 2008. Disponível em: www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/052V5N2P512_536_MAR2008.pdf. Acesso em: 17 nov.2013.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, Champaign, USA, v.71, n.11, p. 2992-3002, nov., 1988.

MUCK, R.E. Recent advances in silage microbiology. **Agricultural and food science**, Helsinki, Finland, v.22, n.1, p.3-15, 2013. Disponível em: <<http://ojs.tsv.fi/index.php/AFS/article/view/6718>> Acesso em: 20 fev. 2014.

MULLINS, C.R.; GRIGSBY, K.N.; ANDERSON, D.E.; TITGEMEYER, E.C.; BRADFORD, B.J. Effects of feeding increasing levels of wet corn gluten feed on production and ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, USA, v.93, n.11, p.5329-5337, nov., 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20965349>. Acesso em: 07 fev. 2014.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of dairy cattle**, 7^a ed. revisada. National Academy Press, Washington, USA, 381 p., 2001.

OHIO AGRICULTURAL RESEARCH AND DEVELOPMENT CENTER. **Corn gluten feed in beef cattle diets**. The Ohio State University, Wooster, USA, 17p., 1989. Disponível em: <<http://www.ksre.ksu.edu/bookstore/pubs/mf2488.pdf>> Acesso em: 20 set. 2013.

OLIVEIRA, J.S. Manejo de silo e utilização da silagem de milho e sorgo. In: CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.P.; RODRIGUES, J.A.S.; FERREIRA, J.J. **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2001, 544p.

OLIVEIRA, L.B.; PIRES, A.J.V.; CARVALHO, G.G.P.; RIBEIRO, L.S.O.; ALMEIDA, V.V.; PEIXOTO, C.A.M. Perdas e valor nutritivo de silagens de milho, sorgo-sudão, sorgo forrageiro e girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.39, n.1, p.61-67, jan., 2010. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151635982010000100008&script=sci_abstract&tlang=pt> Acesso em: 06 out. 2013.

OLIVEIRA, R.L.; LEÃO, A.G.; RIBEIRO, O.S.; BORJA, M.S.; PINHEIRO, A.A. Biodiesel industry by-products used for ruminant feed. **Revista Colombiana de Ciências Pecuarias**, Medellin, Colombia, v.25, n.4, p.625-638, dez., 2012. Disponível em: <<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/826>> Acesso em: 20 jan. 2014.

PEDROSO, A.F. Silagem: princípios básicos – produção e manejo. In: CRUZ, G.M.; NOVO, A.L.M.; PEDROSO, A.F. **Curso de produção e manejo de silagem**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 1998.

PEREIRA, L.G.R.; AZEVEDO, J.A.G.; PINA, D.S.; BRANDÃO, L.G.N.; ARAÚJO, G.G.L.; VOLTOLINI, T.V. **Aproveitamento de coprodutos da agroindústria processadora de suco e polpa de frutas para alimentação de ruminantes**. Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE, 30 p., 2009. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/public_eletronica/downloads/SDC220.pdf> Acesso em: 25. Mai. 2013.

POSSENTI, R.A.; FERRARI JUNIOR, E.; BUENO, M.S.; BIANCHINI, D.; LEINZ, F.F.; RODRIGUES, C.F. Parâmetros bromatológicos e fermentativos das silagens de milho e girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.35, n.5, p.1185-1189, set./out., 2005. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33135531>> Acesso em: 05 jan. 2005.

RÊGO, M.M.T.; NEIVA, J.M.N.; RÊGO, A.C.; CÂNDIDO, M.J.D.; CLEMENTINO, R.H.; RESTLE, J. Nutritional evaluation of elephant-grass silages with byproduct of annato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.39, n.10, p.2281-2287, out., 2010.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001000026&script=sci_arttext> Acesso em: 20 jan. 2014.

RODRIGUES, P.H.M.; ANDRADE, S.J.T.; RUZANTE, J.M.; LIMA, F.R.; MELOTTI, L. Valor nutritivo da silagem de milho sob o efeito da inoculação de bactérias ácido-láticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.31, n.6, p.2380-2385, nov./dez., 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982002000900029&script=sci_arttext> Acesso em: 06 out. 2013.

SANTOS, G.T.; ÍAVO, L.C.V.; MODESTO, E.C.; JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J.C. Silagens alternativas de resíduos agro-industriais. In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T. SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS. **Anais...** Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2001, 319p. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/laranja.pdf>> Acesso em: 28 set. 2013.

SANTOS, M.V.F.; GÓMEZ CASTRO, A.G.; PEREA, J.M.; GARCÍA, A.; GUIM, A.; PÉREZ HERNÁNDEZ, M. Fatores que afetam o valor nutritivo das silagens de forrageiras tropicais. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, Colombia, v.59, n.25, p.25-43, mar., 2010. Disponível em:<http://www.ucd.es/organiza/departamentos/prod_animal/economia/aula/img/pictorex/24_11_57_articulo_25.pdf> Acesso em: 26 out.2013.

SANTOS, R.D.; PEREIRA, L.G.R.; NEVES, A.L.A.; BRANDÃO, L.G.N.; ARAÚJO, G.G.L.; ARAGÃO, A.S.L.; BRANDÃO, W.N.; SOUZA, R.A.; OLIVEIRA, G.F. Consumo e desempenho produtivo de ovinos alimentados com dietas que continham coprodutos do desfibramento do sisal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v.63, n.6, p.1502-1510, dez., 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352011000600030> Acesso em: 26 set. 2013.

SCHMIDT, P.; NUSSIO, L.G.; PEDROSO, A.F.; PAZIANI, S.F.; WECHSLER, F.S. Aditivos químicos e biológicos na silagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.36, suplemento, n.5, p.1666–1675, set./out., 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982007000700027> Acesso em: 06 nov. 2013.

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**, Viçosa, MG, v.34, n.2, p.464-471, mar./abr., 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000200013> Acesso em: 12 dez. 2013.

SILVA, M.S.; JOBIM, C.C.; TORMENA, C.A.; CALIXTO JÚNIOR, M.; SORIANE FILHO, J.L.; ROMAN, J. Determinação da massa específica de silagens de milho por método indireto. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.41, n.9, p.1622-1625, set., 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n9/a9311cr3761.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2013.

SILVA, V.B.; FONSECA, C.E.M.; MORENZ, M.J.F.; PEIXOTO, E.L.T.; MOURA, E.S.; CARVALHO, I.N.O. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. **Revista**

Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v.39, n.7, p.1595-1599, jul., 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010000700028&script=sci_arttext> Acesso em: 12 nov.2013.

STEINKE, J.D.; JOHNSON, L.A.; WANG, C. Steeping maize in the presence of multiples enzymes. II. Countinous countercurrent steeping. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, USA, v.68, n.1, p.12-17, jan./fev., 1991. Disponível em: <http://www.aaccnet.org/publications/cc/backissues/1991/Documents/68_12.pdf> Acesso em: 06 jan. 2014.

SULLIVAN, M.L.; GRIGSBY, K.N.; BRADFORD, B.J. Effects of wet corn gluten feed on ruminal pH and productivity of lactating dairy cattle fed diets with sufficient physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, Champaign, USA, v.95, n.9, p.5213-5220, set., 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22916927>> Acesso em: 08 jan. 2014.

TOMICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; TOMICH, R.G.P.; BORGES, I. Características químicas para a avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para a qualificação da fermentação. **Embrapa Pantanal**, Corumbá, MS, 20p., 2003. Disponível: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC57.pdf>> Acesso em: 09 set. 2013.

VITTORI, J. **Alterações microbiológicas e químicas na silagem de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) in natura e queimada, inoculadas ou não, com *Lactobacillus buchneri***. 2009. 55f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2009. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/m/3526.pdf>> Acesso: 26 set. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – W.H.O. Concise international chemical assessment document 26. **Benzoic acid and sodium benzoate**. Geneva, Suiça, 2005. Disponível em: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26_rev_1.pdf> Acesso em: 11 jan. 2014.

ZANINE, A.M.; SANTOS, E.M.; FERREIRA, D.J.; PINTO, L.F.B.; PEREIRA, O.G. Características fermentativas e composição químico-bromatológica de silagens de capim Elefante com ou sem *Lactobacillus plantarum* e farelo de trigo isoladamente ou em combinação. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, GO, v.8, n.4, p.621-628, out./dez., 2007. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/2682/0>> Acesso: 08 jan. 2014.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J.L.P.; NUSSIO, L.G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos de ensilagem e desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, número especial, p.170-189, jul., 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982009001300018&script=sci_arttext>. Acesso em: 07 nov. 2013

**CAPÍTULO 2: Dinâmica química, microbiológica e física da silagem de farelo úmido de
glúten de milho^I – Revista Ciência Rural**

Physical, chemical and microbiological dynamics of wet corn gluten feed silage

**André Madeira Silveira França^{II}, Isabel Cristina Ferreira^{III*}, Ísis Hermisdorff da
Costa^{II}, Eliane Pereira Mendonça^{II}, Daise Aparecida Rossi^{III}**

RESUMO

Objetivou-se avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos do farelo úmido de glúten de milho (FUGM) em função do tempo de ensilagem. O FUGM foi avaliado em silos experimentais e, nos dias um, três, sete, 14, 21, 28 e 42, foram realizadas as avaliações físicas, químicas e microbiológicas da silagem. O tempo de ensilagem não afetou ($p>0,05$) o percentual de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, proteína bruta, matéria mineral, extrativos não-nitrogenados, nutrientes digestíveis totais e contagem de clostrídios. As equações de percentuais de matéria seca, extrato etéreo, perdas por efluentes, perdas por gases e população de bactérias lácticas obtiveram baixos coeficientes de determinação ($r^2\leq0,6$), variando, entre 46,54 e 49,05%; 0,96 e 1,71%; 17,97 e 35,14 g.kg⁻¹ de matéria verde; 1,90 e 5,68% e 5,0 e 6,9 log UFC.g⁻¹ de silagem, respectivamente. O pH ($Y=4,12926-0,00894\text{dias}+0,00024126\text{dias}^2$) e a temperatura ($Y=19,82657+0,11734\text{dias}-0,00502\text{dias}^2$) tiveram seus menores e maiores valores, respectivamente, em 18,5 e 11,7 dias. A contagem de bolores e leveduras sofreu redução em função do tempo de ensilagem ($Y=6,8983-0,0363\text{dias}$). A ensilagem permite eficiente conservação dos aspectos químicos, microbiológicos e físicos do FUGM.

Palavras-chave: *Clostridium* sp., Conservação, Coproduto, *Lactobacillus* sp.

^ITrabalho financiado pela FAPEMIG, parte da dissertação de mestrado do 1º autor

^{II}Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal de Uberlândia

^{III}Professor Adjunto – Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará s/n. Uberlândia, MG. E-mail: isabelcfe@famev.ufu.br. Autor para correspondência.

ABSTRACT

Aimed to evaluate physicochemical and microbiological aspects of wet corn gluten feed (WCGF) according to time of ensilage. The WCGF was evaluated in experimental silos and after one, three, seven, 14, 21, 28 and 42 days, physical, chemical and microbiological evaluation of the silage were made. The days of ensiling did not affect neutral detergent fiber, acid detergent fiber, crude protein, mineral matter, non-nitrogenous extract e total digestive nutrients percentages, beyond the count of clostridia. Equations of dry matter, ether extract, effluents losses and gas losses percentages and count of lactic bacteria had low coefficient of determination ($r^2 \leq 0.6$), with variation of 46.54 and 49.05%; 0.96 and 1.71%; 17.97 and 35,14 g.kg⁻¹ of natural matter; 1.90 and 5.68% and 5.0 and 6.9 log CFU.g⁻¹ of silage, respectively. The pH (Y=4.12926-0.00894days+0,00024126days²) and temperature (19,82657+0,11734dias-0,00502dias²) had their minor and major values, respectively, in 18.5 and 11.7 days. The counts of moulds and yeasts had decrease according to time of ensilage (Y=6,8983-0,0363dias). The ensiling allows efficient chemical, microbiological and physical aspects conservation of the WCGF.

Key words: *Clostridium* sp., conservation, *Lactobacillus* sp., nutritional values

INTRODUÇÃO

A competição na utilização de matérias primas vegetais entre a nutrição humana e de animais de produção leva a uma necessidade crescente de se desvincilar ambas as atividades para que, de forma independente, haja maior oferta de alimentos e com custo mais reduzido.

O aumento no interesse da inclusão de coprodutos agroindustriais na nutrição animal ocorre devido aos preços baixos em relação a *commodities* historicamente utilizadas em dietas animais, como milho e soja em grãos. Entretanto, verificam-se empecilhos no uso de tais produtos visto a existência de fatores como a sazonalidade de oferta pelas agroindústrias,

variações em suas composições e maior predisposição à presença de contaminantes (AGHSAGHALI & SIS, 2008).

O farelo úmido de glúten de milho é um coproducto oriundo do processo industrial de separação dos componentes do grão de milho em fibra, amido, glúten e gérmen, obtendo-se o farelo de glúten de milho que, por meio do enriquecimento com água de maceração, leva a formação do produto úmido (FUNDAÇÃO CARGILL, 1980). A introdução deste ingrediente nas dietas animais tem como empecilho seu armazenamento, devido a perdas qualquantitativas ocorridas principalmente pelo elevado teor de umidade associado à exposição ambiental.

O processo de ensilagem consiste na conservação, em ambiente ácido, de alimentos úmidos ou parcialmente secos, de forma anaeróbica, que causa uma depleção na respiração celular e consequente favorecimento da proliferação de bactérias láticas. A acentuada redução do pH devido à maior concentração de ácido láctico na massa ensilada leva a uma inibição de microrganismos e enzimas putrefativas, capazes de promover à deterioração do alimento com o tempo de armazenamento (TOMICH et al., 2003).

Com o intuito de verificar a capacidade da conservação do FUGM ensilado em função do tempo, o objetivo deste trabalho foi determinar características físico-químicas e microbiológicas da silagem de FUGM em diferentes dias de abertura dos silos.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se a confecção de 28 silos de FUGM em tubos de policloreto de vinila (PVC). Inicialmente, inseriu-se areia fina seca, limpa e peneirada no fundo de cada silo experimental, suficiente para drenar todo o líquido lixiviado durante o período de ensilagem, superposta por uma tela plástica permeável. O FUGM foi compactado por meio pressão manual até que todo o volume do tubo fosse preenchido.

A parte superior do tubo foi vedada por uma tampa em PVC com bico tipo *Bunsen* para a saída dos gases oriundos do processo de fermentação. Por fim, foi utilizada fita adesiva para vedar e tornar o compartimento hermético. Durante a ensilagem do material, foram realizadas aferições da temperatura do FUGM por termômetro de infravermelho DT8530 (Instrutemp) a aproximadamente 20 cm de profundidade no amontoado, obtendo-se temperatura média de 38,2°C. A areia, tela permeável, silos vazios e FUGM ensilado foram pesados por balança de mesa (Toledo) com variação de um grama. Por fim os silos foram acondicionados em ambiente livre de exposição solar.

Quatro silos experimentais foram abertos aos um, três, sete, 14, 21, 28 e 42 dias de ensilagem. Imediatamente, foi realizada a determinação de temperatura, coloração, odor, peso final da silagem e peso final da areia. Determinou-se a coloração nos dias de abertura, pelo mesmo observador e condições de luminosidade iguais, variando em uma escala com cinco padrões: amarelo claro, amarelo escuro, esverdeado, marrom e preto. O mesmo avaliador classificou o odor em padrões: fraco, acético, alcoólico, adocicado, rancificado e podre, conforme Rios et al. (2012).

A silagem foi homogeneizada e separaram-se amostras que foram pesadas e armazenadas para as análises laboratoriais. As variáveis perda por efluentes (Pefl), massa específica (ME) e perdas gasosas (Pgas) foram determinadas de acordo com Jobim et al., (2007).

A determinação de pH e análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). O valor de pH foi mensurado com medidor eletrônico de pH (MS Tecnopon) e determinou-se a matéria seca (MS) por meio de secagem em estufa de circulação de ar (Analitica) a 55°C por 72 horas.

A determinação da fibra solúvel em detergente ácido (FDA), fibra solúvel em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) foi

realizada conforme metodologia sugerida pelo Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2005). Os valores de extractivos não nitrogenados (ENN) foram calculados pela fórmula ENN = 100 – (PB + EE + MM + FDN), conforme metodologia sugerida por Gonçalves, Borges, Ferreira (2009). Para o cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT) utilizou-se a equação NDT = 95,88 – 1,0601(FDA), de acordo com Harlan et al. (1991).

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada (LABIO) da UFU. Amostras das silagens nos dias um, três, sete, 14, 21, 28 e 42, após diluições seriadas, foram quantificadas colônias de lactobacilos, bolores e leveduras e clostrídios. Os resultados obtidos foram multiplicados pela recíproca da diluição utilizada e expressos como UFC.g⁻¹. Para análise dos resultados, as contagens foram transformadas em log UFC.g⁻¹.

As diluições das silagens foram inoculadas utilizando técnica de semeadura “Pour-plate” conforme European Union Reference Laboratory for Feed Additives (2011) com ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS-Difco), sendo invertidas e acondicionadas em jarras para anaerobiose do tipo GasPak (Probac), incubadas por 48 horas a 37°C. A quantificação de bolores e leveduras foi realizada por meio de espalhamento em placa, conforme técnica “Spread-plate” (BASSO et al., 2012), em ágar Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC-Difco), incubadas a 25°C durante 72 horas. A quantificação de clostrídios foi realizada por meio de técnica de semeadura Pour-plate, em ágar sulfito polimixina sulfadiazina (SPS-Difco) a 42°C por 48 horas em anaerobiose.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado tendo o tempo como efeito fixo com quatro repetições (abertura dos silos). As equações de regressão e médias foram obtidas pelos PROC REG e PROC MEANS do programa estatístico Statistical Analysis System (SAS, 1998). Foram consideradas as equações de regressão e coeficientes significativos ($p < 0,05$) com $r^2 \geq 0,6$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todo o período de ensilagem, não houve alteração ($p>0,05$) no percentual de FDN, FDA, PB, MM, ENN, NDT e contagem de clostrídios. Já as equações de percentuais de MS, EE, Pefl, Pgas e contagem de bactérias láticas obtiveram baixos valores de ajuste ($r^2\leq0,6$). Observou-se comportamento quadrático na dinâmica da temperatura, pH e contagem de bolores e leveduras.

Foi obtida equação de regressão quadrática para a temperatura em função dos dias de abertura dos silos (Tabela 1) onde as maiores temperaturas, em média 21,5°C, são encontradas próximas aos 12 dias de ensilagem. Nas aferições, os valores absolutos de temperatura variaram entre 14,3 (dia 42) e 22,9°C (dia 1).

Borreani e Tabacco (2010) afirmam que há uma correlação direta entre a temperatura e a qualidade da silagem, tanto que utilizam a elevação da temperatura como parâmetro para verificar o aumento da deterioração aeróbica de silagem de milho. Os autores encontraram médias de 18,6 e 30,6°C em amostras profundas e periféricas, respectivamente, de silagens de milho no norte da Itália. Sá Neto et al. (2013) encontraram valores máximos de temperatura de 37,9; 36,2 e 36,4°C respectivamente, nas silagens de milho sem inoculantes, inoculada com *Lactobacillus buchneri* e inoculada com *L. buchneri* e *Lactobacillus plantarum* em exposição aeróbica por cinco dias.

Cherney (2000) ressalta que o aumento de temperatura na silagem é decorrente da deterioração por microrganismos aeróbicos, permitindo o aumento de perdas de matéria seca, principalmente decorrentes das reações de Maillard em altas temperaturas. Entretanto, não foram observados valores absolutos de temperaturas maiores que 22,9°C neste experimento, impedindo elevadas perdas nutricionais decorrentes das reações de Maillard, ocorridas em

temperaturas bem superiores às encontradas em nosso trabalho (NUNES & BAPTISTA, 2001).

Desta maneira, acredita-se que as temperaturas encontradas na silagem de FUGM não são capazes de promover perdas nutricionais, principalmente pelo fato de que, este material, em seu processo industrial de obtenção, tenha sofrido processamento termo-químico por tempo prolongado, possibilitando possíveis perdas já nesta fase.

O pH apresentou comportamento quadrático (Tabela 1), com decréscimo do pH até 18,5 dias, tendendo à elevação até 42 dias. Tomich et al. (2003) afirmam que o pH capaz de promover a eficiente conservação da silagem está relacionado à umidade do ambiente, ao período de incidência solar e ao teor de matéria seca do material, fatores estes que influenciam diretamente a umidade da silagem. Considerando tais variáveis, em condições ótimas em silagens com teor de matéria seca acima de 40%, os valores de pH devem encontrar-se abaixo de 4,6. Tal faixa de pH foi observada neste trabalho em todo o período de ensilagem.

A ausência de alterações nos percentuais de FDN, FDA, PB, MM, ENN e NDT do FUGM do primeiro ao 42º dia de ensilagem mostra que esta forma de conservação, desde que seja feita em condições adequadas, permite a manutenção das características nutricionais deste ingrediente. A inexistência no aumento de Pgas e Pefl com o tempo de ensilagem pode indicar eficiente conservação do FUGM por meio da ensilagem, fazendo com que a deterioração aeróbica, responsável por grande parte das perdas de matéria seca, tenha sido decorrente apenas da presença de oxigênio existente no interior da massa durante a ensilagem do material e não devido à multiplicação de microrganismos indesejados.

A contagem de bactérias láticas variou entre zero e 42 dias em $2 \log \text{UFC.g}^{-1}$ de silagem (Tabela 2). Coan et al. (2007) observaram, entre zero e 56 dias de ensilagem, aumento da contagem de bactérias láticas em silagens de capim Tanzânia ($0 \text{ vs } 5 \log \text{UFC.g}^{-1}$ de silagem)

e Marandu (2 vs 5 log UFC.g⁻¹ de silagem). A contagem de bactérias láticas nos diferentes dias de abertura da silagem de FUGM estão próximos aos números observados por Sá Neto et al. (2013) em silagens de milho e cana-de-açúcar, que encontraram valores (em log UFC.g⁻¹ de silagem) de 5,32 e 6,96 após 150 dias de ensilagem, respectivamente.

O tempo de ensilagem do FUGM gerou efeito linear negativo na contagem dos bolores e leveduras, decrescendo de 7,2 para 5,5 log UFC.g⁻¹ de silagem entre 1 e 42 dias de ensilagem. Este comportamento é decorrente das condições de anaerobiose mantidas durante todo o período de ensilagem, visto que o desenvolvimento fúngico é dependente da presença de oxigênio. Nas silagens, esta característica foi observada por Borreani e Tabacco (2010) que observaram maiores contagens de bolores e leveduras em regiões periféricas de silos, áreas com maiores concentrações de oxigênio. A redução na contagem destes microrganismos também sugere que o teor de matéria seca e o tamanho de partícula do FUGM possibilita uma compactação eficiente da massa com alta capacidade de expulsão do ar contida nela.

Em ensilagem experimental de milho com inoculante bacteriano e abertura aos 110 dias, Dolci et al. (2011) observaram contagens de bolores inferiores às deste experimento, com 4,9 e 2,6 log UFC.g⁻¹ de bolores e leveduras, respectivamente, para a ensilagem padrão em bags permeáveis ao oxigênio e ensilagem com material fundido adicionado de barreiras contra oxigênio, havendo diferença entre os valores ($p<0,001$). Os autores afirmam que a deterioração de silagens por leveduras dos gêneros *Saccharomyces*, *Candida*, e *Pichia*, pela utilização do ácido lático, levam ao aumento da temperatura e do pH da massa.

A contagem de clostrídios variou entre médias de 1,5 (dia 28) e 2,1 (dia 7) log UFC.g⁻¹ de silagem, não sendo observada variação significativa nos diferentes dias de abertura dos silos. É desejável que, em todo período de ensilagem, ocorra uma população reduzida de clostrídios, pelo fato de que, as perdas por gases decorrentes da fermentação de carboidratos,

ácidos orgânicos e aminoácidos realizada por estes microrganismos ocasionam intensa perda de nutrientes (MUCK, 1988).

Borreani e Tabacco (2010) avaliaram a qualidade de silagens de milho em 54 propriedades de exploração leiteira na Itália e observaram médias de contagens de esporos viáveis de clostrídios de 1,36 log número mais provável (NMP) por grama de silagem em porções profundas da massa ensilada, sendo nas porções periféricas média de 2,75 (log NMP.g⁻¹ de silagem). McEniry et al. (2006) avaliaram silagens de gramíneas de clima temperado encontraram valores médios de clostrídios entre 3,04 e 3,7 log UFC.g⁻¹ de silagem. Estes resultados mostram que a ensilagem como método de conservação do FUGM permite a manutenção adequada da população de clostrídios.

No momento da abertura dos silos, foi verificado odor alcoólico, nos dias um, três, sete, 14, 21 e 28. Entretanto, no 42º dia, a silagem de FUGM possuiu odor predominantemente acético. Em nenhuma data de abertura foi observada alteração da cor do produto ensilado, permanecendo sempre de coloração amarela média, característica do FUGM não ensilado.

CONCLUSÃO

A ensilagem experimental do FUGM não gera influência importante em sua composição química e, apesar do pH sofrer influência do tempo de ensilagem, é mantido em uma faixa ideal. A contagem de bolores e leveduras e clostrídios encontradas permitem uma boa preservação da silagem de FUGM.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG e à CAPES pelo apoio financeiro na realização deste trabalho. Ao pessoal dos Laboratórios de Nutrição Animal e de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia pela disponibilização de estrutura e reagentes.

REFERÊNCIAS

- AGHSAGHALI, A.M.; SIS, N.M. Nutritive value of some agro-industrial by-products for ruminants – A review. **World Journal of Zoology**, v.3, n.2, p.40-46, jun., 2008. Disponível em: [http://idosi.org/wjz/wjz3\(2\)2008/2.pdf](http://idosi.org/wjz/wjz3(2)2008/2.pdf). Acesso em: 01 out. 2013.
- BASSO, F.C. et al. Fermentation and aerobic stability of high-moisture corn silages inoculated with different levels of *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.11, p.2369-2373, nov., 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982012001100011. Acesso em: 31 jan. 2014. doi: S1516-35982012001100011.
- BORREANI, G; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.6, p.2620-2629, jun., 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494171>. Acesso em: 31 jan. 2014. doi: 10.3168/jds.2009-2919.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo, 2009. 204p.
- CHERNEY, D.J.R. Characterization of forages by chemical analysis. In: GIVENS, D.I. et al. **Forage evaluation in ruminant nutrition**. New York: CABI Publishing, 2000. p.281-300.
- COAN, R.M. et al. Dinâmica fermentativa e microbiológica de silagens dos capins Tanzânia e Marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, suplemento, p.1502-1511, set./out., 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982007000700007. Acesso em: 11 set. 2013. doi: 10.1590/S1516-35982007000700007.
- DOLCI, P. et al. Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.21, p.7499-7507, ago., 2011. Disponível em: <http://aem.asm.org>. Acesso em: 07 jan. 2014. doi: 10.1128/AEM.05050-11.
- EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY FOR FEED ADDITIVES. EURL **Evaluation report on the analytical methods submitted in connection with the application for the authorisation of new feed additives according to regulation (EC) no. 1831/2003**. Geel, Bélgica, 2011. 12p. Acessado em: 14 jan. 2014. Online. Disponível em: <http://irmm.jrc.ec.europa.eu/SiteCollectionDocuments/FinRep%20FAD-2013-0025-L-Tryptophan.doc.pdf>.
- FUNDAÇÃO CARGILL. **Produtos de milho processados por via úmida para o uso em rações**. Campinas, SP, 20p., 1980.
- GONÇALVES, L.C. et al. **Alimentos para gado de leite**. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2009. 576p.

HARLAN, D.W et al. Detergent fiber triats to predict productive energy of forages fed free choice to non lactanting dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1337-1353, abr., 1991.

JOBIM, C.C. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.101-119, jul., 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982007001000013. Acesso em: 16 out. 2013. doi: 10.1590/S1516-35982007001000013.

MCENIRY, J. et al. The microbiological and chemical composition of baled and precision-chop silages on a sample of farms in County Meath. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v.45, n.1, p.73-83, 2006. Disponível em: http://www.teagasc.ie/research/journalarchives/vol45no1/p73_83.pdf. Acesso em: 28 jan. 2014.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.11, p. 2992-3002, nov., 1988.

NUNES, C.S.; BAPTISTA, A.O. Implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.96, n.538, p. 53-59, abr./jun., 2001. Disponível em: http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf6_2001/Maillard.pdf. Acesso em: 03 fev. 2014.

RIOS, M.P. et al. Aspectos físicos das silagens de capim elefante com diferentes níveis de inclusão de farelo úmido de glúten de milho. **Veterinária Notícias**, v.18, n.2, suplemento, p.110-113, jul./dez., 2012. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/vetnot/article/view/22861>. Acesso em: 27 dez. 2013.

SÁ NETO, A. et al. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L.plantarum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.5, p.528-535, mai., 2013. Disponível em: <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/13174>. Acesso em: 22 out. 2013. doi: 10.1590/S0100-204X2013000500009.

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide: statistics**. 6^a ed. Cary, 956 p.,1998. CD.

TOMICH, T.R. et al. Características químicas para a avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para a qualificação da fermentação. **Embrapa Pantanal**, Corumbá, MS, 20p. 2003. Acessado em 11 out. 2013. Online. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC57.pdf>.

Tabela 1: Médias e coeficientes de variação de pH, temperatura (°C), matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrativo não-nitrogenado (ENN), nutrientes digestíveis totais (NDT), perdas por efluentes (Pefl), perdas gasosas (Pgas) da silagem de farelo úmido de glúten de milho em diferentes dias de abertura dos silos

| Variável | Dias de ensilagem | | | | | | | |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------|-------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------|
| | 1 | 3 | 7 | 14 | 21 | 28 | 42 | CV% |
| pH | 4,11 | 4,10 | 4,09 | 4,09 | 4,04 | 4,05 | 4,18 | 0,55 |
| Temperatura (°C) | 22,4 | 20,3 | 20,5 | 20,2 | 18,9 | 20,7 | 15,4 | 11,00 |
| MS (%) ¹ | 46,54 | 47,26 | 49,05 | 48,11 | 47,24 | 47,34 | 47,54 | 0,74 |
| FDN (%) ¹ | 48,96 | 50,09 | 51,30 | 47,34 | 49,00 | 49,77 | 48,95 | 6,24 |
| FDA (%) ¹ | 13,08 | 12,83 | 13,31 | 12,93 | 13,32 | 14,10 | 13,44 | 2,04 |
| EE (%) ² | 1,63 | 1,71 | 1,20 | 1,35 | 1,44 | 1,08 | 0,96 | 18,64 |
| PB (%) ¹ | 25,34 | 25,70 | 25,13 | 26,21 | 25,67 | 26,06 | 25,90 | 2,93 |
| MM (%) ¹ | 6,77 | 7,40 | 7,15 | 7,00 | 7,12 | 6,73 | 7,64 | 8,05 |
| ENN (%) ¹ | 17,08 | 15,31 | 15,22 | 18,10 | 16,62 | 16,62 | 15,96 | 20,26 |
| NDT (%) ¹ | 78,22 | 77,96 | 78,07 | 78,33 | 78,06 | 78,56 | 77,99 | 0,72 |
| Pefl (g/kgMV) ² | 17,97 | 19,32 | 23,76 | 33,03 | 35,14 | 24,95 | 25,55 | 19,28 |
| Pgas (%) ² | - | 2,88 | 1,90 | 5,68 | 5,60 | 5,08 | 5,07 | 30,29 |
| Equação de regressão | | | | | Platô (dias) | | r^2 | |
| pH ⁴ | $Y=4,12926-0,00894\text{dias}+0,00024126\text{dias}^2$ | | | | | 18,5 | 0,75 | |
| Temperatura (°C) ³ | $Y=19,82657+0,11734\text{dias}-0,00502\text{dias}^2$ | | | | | 11,7 | 0,73 | |

¹Variável com equação de regressão não significativa (p-valor >0,05) ²Variável com equação de regressão com baixo coeficiente de determinação ($r^2<0,6$); ^{3,4}Variáveis com platô (em dias) representando o maior e menor valor no período de observação, respectivamente; (-) Dado inexistente

Tabela 2: Contagem e coeficientes de variação de unidades formadoras de colônias de bactérias láticas, bolores e leveduras e clostrídios por grama de silagem de farelo úmido de glúten de milho em diferentes dias de abertura dos silos

| Variável | Dias de ensilagem | | | | | | | | CV% |
|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|
| | 1 | 3 | 7 | 14 | 21 | 28 | 42 | | |
| Bactérias láticas ($\log \text{UFC.g}^{-1}$) ² | 6,4 | 6,9 | 5,0 | 6,7 | 6,3 | 5,8 | 4,9 | | 14,16 |
| Bolores e leveduras ($\log \text{UFC.g}^{-1}$) | 7,2 | 6,7 | 6,4 | - | 6,0 | 5,8 | 5,5 | | 9,50 |
| Clostrídios ($\log \text{UFC.g}^{-1}$) ¹ | 2,0 | 1,7 | 2,1 | 1,8 | 1,9 | 1,5 | 1,9 | | 25,28 |
| Equação de regressão | | | | | | | | r^2 | |
| Bolores e leveduras ($\log \text{UFC.g}^{-1}$) | $Y = 6,8983 - 0,0363\text{dias}$ | | | | | | | | 0,84 |

¹Variável com equação de regressão não significativa ($p>0,05$); ²Variável com equação de regressão com baixo coeficiente de determinação ($r^2 < 0,6$); (-) Dado inexistente

CAPÍTULO 3 - Farelo úmido de glúten de milho em diferentes métodos de armazenamento e aditivos¹ – Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

André Madeira Silveira França², Isabel Cristina Ferreira², Ísis Hermisdorff da Costa², Cristóvão Costa Gondim², Eliane Pereira Mendonça² e Daise Aparecida Rossi²

⁽¹⁾Projeto financiado pela FAPEMIG e parte da dissertação do primeiro autor. ⁽²⁾Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 3, Uberlândia, MG. E-mail: andrefranca@uberlandia.com, isabelcfe@famev.ufu.br, isiscdorff1989@yahoo.com.br, cristovaogondim@hotmail.com, eliane_vet@yahoo.com.br, daiser@umuarama.ufu.br

Resumo– Avaliou-se aspectos físico-químicos e microbiológicos do farelo úmido de glúten de milho em dois métodos de armazenamento e inclusão de três aditivos. Foram feitos quatro silos e quatro amontoados do coproduto e inclusos de 0,1% de benzoato de sódio, inoculante bacteriano e 10% de polpa cítrica peletizada avaliados aos zero e 35 dias. A adição de polpa cítrica reduziu a proteína bruta e fibra detergente neutro nos amontoados e elevou a matéria seca, a fibra em detergente ácido e, aos 35 dias, a contagem de clostrídios. A ensilagem reduziu 6,86% da matéria seca, 17,76% do extrativo não-nitrogenado e, aos 35 dias, reduziu 1,65% dos nutrientes digestíveis totais, elevou 12,18% da fibra em detergente ácido e a contagem de bolores e leveduras. A inclusão de benzoato de sódio e inoculante bacteriano inibiu o crescimento fúngico em relação ao controle. Ao contrário do tempo de armazenamento, o benzoato de sódio inibiu o crescimento de bactérias láticas. A interação das três variáveis (método, tempo de armazenamento e aditivos) afetou temperatura e pH, menores aos 35 dias nas silagens. O aditivo microbiológico, benzoato de sódio e a ensilagem

favorecem a conservação do farelo úmido de glúten de milho, ao contrário da polpa cítrica peletizada.

Termos para indexação: Aditivos, Benzoato de sódio, Conservantes, Microbiologia, Silagem, *Zea mays*.

Wet corn gluten feed in different storage methods and additives

Abstract- Aimed to evaluate physicochemical and microbiological aspects of the wet corn gluten feed in two methods of storage and inclusion of three additives. Silos and mounds were made with 100% of the by-product, 0.1% of sodium benzoate, bacterial inoculant and 10% of pelleted citrus pulp evaluated at zero and 35 days. After variance analysis and means test, was observed that addition of citrus pulp increased dry matter and acid detergent fiber and even decreased crude protein, neutral detergent fiber in mounds and increased the count of clostridial at 35 days. The ensiling reduced 6.86% of dry matter and 17.76% of non-nitrogenous extract. At 35 days, reduced 1.65% of the total digestible nutrients, increased 12.18% of acid detergent fiber and count of moulds and yeasts. Inclusion of sodium benzoate and bacterial inoculant inhibited fungal growth compared to control. As opposed to storage time, the sodium benzoate inhibited lactic bacteria growth. The interaction of the three variables affected temperature and pH, being lower at 35 days in the silages. Microbiological additive, sodium benzoate and ensiling favors the preserving of the wet corn gluten feed.

Index terms: Additives, Microbiology, Preservatives, Silage, Sodium benzoate, *Zea mays*

Introdução

A utilização de aditivos químicos, microbiológicos ou alimentares na conservação de alimentos para ruminantes, principalmente no processo de ensilagem, vem sendo estudado

com o objetivo de inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes e da ocorrência de reações indesejáveis (NEUMANN et al., 2010), além de, em alguns casos, possibilitar a melhoria do valor nutritivo do alimento.

O farelo úmido de glúten de milho (FUGM) é um coproducto oriundo da maceração úmida do grão de milho realizada nas indústrias transformadoras deste cereal com intuito principal na obtenção de óleo e amido. Os grãos de milho são introduzidos em tanques denominados maceradores por aproximadamente 42 horas, onde recebem corrente contínua de água sulfitada (água de maceração), responsável pelo amolecimento e assepsia do material. Posteriormente, a massa de grãos é moída e centrifugada para a obtenção do germe e após a extração do óleo por solventes, há a separação do amido e do glúten, novamente, pelo processo de centrifugação. A massa restante desta última etapa é adicionada da água de maceração gerando o FUGM (MENEGHETTI & DOMINGUES, 2008; MUSSOLINI; 2009).

Na literatura, são encontrados poucos relatos sobre recomendações técnicas ou tecnologias para o armazenamento deste produto, observando-se nas propriedades rurais a disposição do FUGM em amontoados expostos ao ambiente ou cobertos por lonas, tornando-o passível a perdas de matéria seca pela deterioração aeróbica. Devido aos fatores supracitados, objetivou-se avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos do FUGM em diferentes métodos de armazenamento e inclusão de aditivos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na fazenda experimental do Glória, da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia, MG, entre outubro e novembro de 2013. Foram formados quatro amontoados e quatro silos tipo superfície de uma tonelada de FUGM totalizando oito unidades experimentais que foram compostas de um silo e um amontoado

controle (100% FUGM), um silo e um amontoado de FUGM aditivado com 0,1% de benzoato de sódio em pó, um silo e um amontoado de FUGM aditivados com inoculante bacteriano e um silo e um amontoado de FUGM aditivado com 10% de polpa cítrica peletizada (PCP). Os amontoados e silos foram confeccionados em dias distintos, com dois lotes diferentes do FUGM.

Nos tratamentos aditivados com benzoato de sódio 0,1% foi adicionado um quilo do conservante a lanço de forma homogênea em uma tonelada de FUGM. O inoculante bacteriano utilizado nos tratamentos Nos aditivados com inoculante bacteriano foram aplicados, por meio de aspersão, quatro gramas do Biomax Milho (Lallemand) diluídos em quatro litros de água potável sem cloro por tonelada de FUGM. O produto, apresentado em forma de pó hidrodispersível, possui valores de garantia por grama de aditivo, de $2,5 \times 10^{10}$ unidades formadores de colônias (UFC) de *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U e $2,5 \times 10^{10}$ UFC de *Propionibacterium acidipropionici* MA 26/4U, conforme fabricante. O processo de confecção do amontoado e silo PCP. 10% baseou-se na introdução de 100 quilos de polpa cítrica peletizada homogeneizados manualmente em 900 quilos de FUGM.

A ensilagem foi realizada por meio do pisoteio do material sobre lona plástica em uma área de 2,25 x 2,25m delimitada por tábuas de madeira formando silos com aproximadamente 0,5m de altura. Ao fim da confecção das unidades experimentais, estas foram cobertas com lona plástica de dupla face com 200 µm de espessura protegidas por terra em suas laterais. No dia da confecção (dia zero) e após 35 dias, foram feitas coletas de três amostras (repetições) em três profundidades (5 cm, 20 cm e porção central) das massas.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). O valor de pH foi mensurado por medidor eletrônico de pH (MS Tecnopen) e a matéria seca obtida pela secagem em estufa de circulação de ar (Fanem) a 55°C por 72 horas.

A determinação da fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) foi realizada na matéria seca das amostras, conforme metodologia sugerida pelo Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009). Os valores de extractivos não nitrogenados (ENN) foram calculados pela fórmula $ENN = 100 - (PB + EE + MM + FDN)$ e, para o cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT) utilizou-se a equação sugerida por Harlan et al. (1991) para mensuração de NDT em silagem de milho, onde $NDT = 95,88 - 1,0601(FDA)$.

As análises microbiológicas, realizadas no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), consistiram na quantificação de bactérias láticas, bolores e leveduras e de clostrídios após diluições seriadas, nos dias zero e 35 dos silos e amontoados com diferentes aditivos. Os resultados obtidos foram multiplicados pela recíproca da diluição utilizada e expressos como $UFC.g^{-1}$. Para análise dos resultados, as contagens foram transformadas em $\log UFC.g^{-1}$.

As diluições das silagens foram inoculadas utilizando técnica de semeadura “Pour-plate” conforme European Union Reference Laboratory for Feed Additives (2011) com ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS-Difco), sendo invertidas e acondicionadas em jarras para anaerobiose do tipo GasPak (Probac), incubadas por 48 horas a 37°C. A quantificação de bolores e leveduras foi realizada por meio de espalhamento em placa, conforme técnica “Spread-plate” (BASSO et al., 2012), em ágar Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC-Difco), incubadas a 25°C durante 72 horas. A quantificação de clostrídios foi realizada por meio de técnica de semeadura Pour-plate, em ágar sulfito polimixina sulfadiazina (SPS-Difco) a 42°C por 48 horas em anaerobiose.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2X3+2 sendo dois métodos de armazenamento e três tipos de aditivos com um silo e um amontoado controle com três repetições (amostras) e dois dias de coletas (zero e 35). As

análises de variância foram realizadas pelo PROG GLM do programa estatístico SAS (SAS, 1998), utilizando teste de Tukey com níveis de significância de 5% ($p<0,05$). Para atender a condição de normalidade, os dados originais de temperatura e pH foram transformados em arcoseno e função logaritmo, respectivamente. Foram testadas interações duplas e triplas entre os efeitos fixos (método de armazenamento, tipo de aditivo e dia de coleta).

Resultados e discussão

O aditivo utilizado afetou as MS, FDA, PB, ENN e NDT. Já o método e/ou período em que o FUGM foi armazenado afetaram isoladamente as variáveis MS, EE e ENN (Tabela 1). A MS aumentou nos tratamentos com inclusão de 10% de PCP. Assim como Ferrari Júnior et al. (2009) que observaram aumento da MS com a inclusão de PCP até 10% em silagens de capim Elefante Paraíso (*Pennisetum hybridum* cv. Paraíso). A baixa umidade da PCP faz com que tal produto seja utilizado amplamente como aditivos para silagens, visto que permite o aumento do teor de matéria seca do alimento.

Os valores de FDA foram superiores nos tratamentos com inclusão de PCP (19,03%). A polpa cítrica é composta basicamente do bagaço da laranja desidratada e peletizada e, de acordo com os processos industriais realizados para a sua obtenção, seus níveis de FDA podem variar, estando próximos dos 22% (ÍTAVO et al., 2000), o que possibilita o aumento da FDA do material. Como consequência à maior FDA, o NDT foi menor no FUGM com 10% de PCP, não alterando com os demais aditivos e tratamento controle.

A PB foi inferior nos tratamentos com 10% de PCP, ocorrido possivelmente pelo baixo teor desta fração na matéria seca do ingrediente, conforme Assis et al. (2004), que afirmam que a PB da PCP é de aproximadamente 7%. Devido aos menores valores percentuais de FDA e PB deste tratamento, o ENN do FUGM aditivado com 10% de PCP foi 18,27% superior ao

do material aditivado com inoculante bacteriano. Não foi observada diferença ($P>0,05$) entre os demais tratamentos para as variáveis PB e ENN.

A MS no material amontoado foi 6,86% maior em relação ao FUGM ensilado, além de ter sofrido uma redução de 1,65% aos 35 dias. A perda de MS em função do período do armazenamento é consequência da atuação de microrganismos que utilizam o material armazenado como substrato (TOMICH et al., 2003). Já a alteração de MS entre os dois métodos de armazenamento pode ser decorrente da variação intrínseca ao FUGM utilizado, pela ausência de padrões de qualidade e dos diferentes lotes do produto.

A EE sofreu efeito apenas dos dias de armazenamento, sendo maior no dia 35 (1,0%) quando comparado ao dia zero (0,8%). Os baixos teores de extrato etéreo obtidos neste experimento são decorrentes da máxima extração do óleo dos grãos de milho durante o processo industrial que tem como resíduo o FUGM. Os valores de EE são inferiores aos encontrados por Possenti et al. (2005) para silagens de milho (3,2%) e girassol (10,1%)

Somente a FDN foi influenciada pela interação entre aditivo e tipo de armazenamento (Tabela 2) onde se observou que, com exceção do FUGM sem aditivos, a FDN foi superior no material ensilado. No entanto, dentre os amontoados de FUGM, o percentual de FDN do material com inclusão de 10% de PCP foi inferior ao dos demais tratamentos (43,62%). Os menores valores de FDN encontrados no FUGM amontoado com inclusão de 10% de PCP justificam-se pelo teor desta fração da fibra encontrada no resíduo cítrico, próximo aos 25% (RODRIGUES et al., 2005).

Os percentuais de FDA, PB e NDT foram afetados pela interação entre o método e dias de armazenagem (Tabela 3). O aumento da FDA pode ter ocorrido pela redução da MS ocorrida no produto ensilado aos 35 dias visto que os valores desta fração são baseados na MS. A maior PB encontrada nos amontoados quando comparados aos ensilados no dia zero

pode ser decorrente de variações industriais na obtenção do FUGM. Apesar disso, houve um aumento da PB de 13,26% aos 35 dias no material ensilado.

Na interação entre métodos e dias de armazenagem, os NDT do material ensilado e aos 35 dias foi inferior (75,20%) comparado ao dia zero (76,46%) e do amontoado na mesma data (77%) (Tabela 3). Devido à dependência dos valores de fibra em detergente ácido para a obtenção dos NDT, observa-se um comportamento de variação do NDT inversamente proporcional ao da FDA, onde os fatores que geram aumento desta última variável influenciaram diretamente na redução dos NDT.

O pH e a temperatura foram afetados pela interação tripla (método de armazenamento x dias de armazenamento x aditivo) (Tabela 4) onde houve aumento da temperatura do FUGM entre zero e 35 dias apenas nos amontoados com 0,1% de benzoato de sódio. Aos 35 dias a temperatura da massa no momento da abertura foi inferior no material ensilado em relação aos amontoados. Esse perfil pode ter sido causado pela maior concentração e entrada de oxigênio nos amontoados, substrato para fungos e leveduras que degradam matéria orgânica e geram aquecimento da massa (PEDROSO, 1998).

Nos diferentes tratamentos e dias de armazenagem, houve variação de pH de 3,86 a 4,14 (Tabela 4). Quando comparados os métodos de armazenamento, todas as silagens aos 35 dias tiveram pH inferior ao dos mesmos tratamentos amontoados. As médias de pH de todos os tratamentos, independente do dia de armazenamento, ficaram em uma faixa adequada, ou seja, abaixo dos 4,6, para silagens com MS acima de 40% (TOMICH et al., 2003).

Apenas com o uso de benzoato de sódio não houve aumento do pH do material amontoado. Já nos silos, houve queda do pH com o tempo de armazenamento, com exceção do material com inclusão de 10% de PCP. Esses resultados sugerem que a ensilagem gerou condições de anaerobiose adequadas à eficiente fermentação lática que reduziu ou manteve o pH em uma faixa adequada, possibilitando o controle de perdas nutricionais e de MS, que

poderiam acarretar em redução do desempenho animal, além da possível transmissão de microrganismos possivelmente patogênicos pela cadeia alimentar (BORREANI et al., 2008)

Observou-se interação entre o método e o período de armazenamento na contagem de bolores e leveduras (Tabela 5), reduzindo com o tempo na forma amontoada, em oposição ao material ensilado. O aditivo utilizado influenciou o crescimento de bolores e leveduras e bactérias láticas, enquanto o período de armazenamento afetou o número de bactérias láticas.

Ao dia zero foi observada variação na contagem de bolores e leveduras, sendo 39,53% maior no FUGM amontoado (Tabela 5). Acredita-se que esta variação inesperada seja advinda da diferença entre lotes de FUGM utilizados, oriundos de matérias-primas variadas, o que pode ocasionar em alterações dos subprodutos da moagem úmida, conforme demonstrado por Mussolini (2009).

Quanto aos tipos de armazenamento, ocorreu a redução de 25,6% na contagem de bolores e leveduras do FUGM amontoado aos 35 dias, enquanto o produto ensilado sofreu aumento de 96,15% (Tabela 5). Este resultado não é condizente com a revisão de Borreani et al. (2008) que sugere que, o maior contato com o oxigênio leva à proliferação de leveduras responsáveis pela deterioração aeróbica. Segundo Tomich et al. (2003), a MS abaixo de 40% favorece a compactação do material ensilado. O teor de MS encontrado, entre 44 e 51%, pode ter impedido a compactação adequada do FUGM ensilado, permitindo a presença de oxigênio no interior da massa.

Ao comparar os diferentes aditivos utilizados, houve contagem de bolores e leveduras menores nos tratamentos com inclusão de benzoato de sódio e inoculante bacteriano em relação ao FUGM sem aditivos (Tabela 5). Em silagem de milho inoculada com *Lactobacillus buchneri* e *L. plantarum*, Sá Neto et al., (2013) observaram valores de bolores e leveduras de 12,4 log UFC.g⁻¹ de silagem no D0 e próximo a 7,8 log UFC.g⁻¹ após 150 dias de ensilagem. Em silagem de grãos úmidos de milho aditivados com 0,1% de benzoato de sódio,

Oliveira (2009) observou valores médios de bolores e leveduras de 5,5 log UFC.g⁻¹ em silagem exposta à aerobiose.

Houve formação de colônias de bactérias láticas inferior nos tratamentos com inclusão de benzoato de sódio (Tabela 5). Apesar da ação deste conservante ser voltada principalmente para inibição do crescimento de bolores e leveduras, o ácido benzoico dissociado neste conservante possui significativa ação contra bactérias ácido-láticas (TURANTAS et al., 1999; KAWASE et al., 2009). Além disso, ocorreu um aumento das bactérias láticas de acordo com o tempo de armazenamento. As condições de baixas concentrações de oxigênio associadas aos teores de matéria seca do FUGM possibilitaram o aumento de bactérias láticas.

O número de clostrídios sofreu interferência das interações entre o aditivo e o tempo de armazenamento e entre o aditivo e o método de armazenamento (Tabela 6). Houve redução e aumento da contagem de clostrídios nos tratamentos controle e com 10% de PCP e, além disso, não houve variação entre a contagem destes microrganismos nos silos ou amontoados de FUGM aditivados com 10%, demonstrando a ineficiência da introdução de PCP na inibição de microrganismos deteriorantes da matéria orgânica.

Conclusão

1. O processo de ensilagem possibilitou a redução de temperatura, pH, favorecendo a conservação do FUGM em relação aos amontoados. Apesar disso devem ser considerados os gastos com o processo.

2. A utilização de benzoato de sódio ou inoculante bacteriano com *L. plantarum* e *P. acidipropionici* permitem manutenção dos valores nutritivos e inocuidade do FUGM, independente do método de armazenamento, pela redução da contagem de bolores e leveduras.

3. A utilização de 10% de polpa cítrica peletizada como aditivo no armazenamento do FUGM não é indicado por afetar negativamente a composição química do coproducto.

Referências

ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; QUIEROZ, A.C.; LANA, R.P.; EUCLYDES, R.F.; MENDES NETO, J.; MAGALHÃES, A.L.R.; MENDONÇA, S.S. Polpa cítrica em dietas de vacas em lactação. 1. Consumo de nutrientes, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.33, n.1, p.242 – 250, jan./fev., 2004. Disponível em: <www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982004000100028> Acesso em: 23 dez. 2013.

BORREANI, G.; BERNARDES, T.F.; TABACCO, E. Aerobic deterioration influences the fermentative, microbiological and nutritional quality of maize and sorghum silages on farm in high quality milk and cheese production chains. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.37, suplemento especial, p.68-77, jul., 2008. Disponível em: <www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982008001300009&script=sci_arttext> Acesso em: 22 out. 2013.

BORREANI, G; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, USA, v.93, n.6, p.2620-2629, jun., 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494171>> Acesso em: 31 jan. 2014. doi: 10.3168/jds.2009-2919.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo, 2009.

FERRARI JUNIOR, E.; PAULINO, V.T.; POSSENTI, R.A.; LUCENAS, T.L. Aditivos em silagem de capim Elefante Paraíso (*Pennisetum hybricum* cv. Paraíso). **Archivos de zootecnia**, Cordoba, Colombia, v.58, n. 222, p.185-194, jun., 2009. Disponível em: <scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0004-05922009000200003&script=sci_arttext&tlang=pt> Acesso em: 11 jan. 2014.

HARLAN, D.W.; HOLTER, J.B.; HAYES, H.H. Detergent fiber triats to predict productive energy of forages fed free choice to non lactanting dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, USA, v.74, n.4, p.1337-1353, abr, 1991.

ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T.; 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**, Viçosa, MG, v.29, n. 5, p.1485-1490, set./out., 2000. Disponível em: <www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151635982000000500029&tlang=pt&nrm=iso> Acesso em: 28 nov. 2013.

KAWASE, K.Y.F.; COELHO, G.L.V.; LUCHESE, L.H. Uso de ácido benzoico micronizado na conservação de suco de laranja. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, Especial VII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, p.20-26, jun., 2009. Disponível em: <bjft.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial_2009_2/v12ne_t0067.pdf> Acesso em: 04 fev. 2013.

MENEGHETTI, C.C.; DOMINGUES, J.L. Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, [S.l.], v.5, n.2, p. 512 – 536, mar./abr., 2008. Disponível em: <www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/052V5N2P512_536_MAR2008.pdf> Acesso em: 17 nov.2013.

MUSSOLINI, R.C. **Caracterização físico-química e rendimento da moagem úmida de quatro híbridos de milho**. 2009. 58p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, SP.

NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA, M.R.; FARIA, M.V.; UENO, R.K.; REINERH, L.L.; DURMAN, T. Aditivos químicos utilizados em silagens. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, Guarapuava, PR, v.3, n.2, p. 187-195, mai./ago., 2010. Disponível em: <revistas.unicentro.br/index.php/repaa/article/viewFile/1155/1230> Acesso em: 07 set. 2013.

OLIVEIRA, R.V. **Avaliação e utilização de silagens de grão úmido de milho sobre o desempenho e características de carcaça de caprinos**. 2009. 111p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP.

PEDROSO, A.F. Silagem: princípios básicos – produção e manejo. In: CRUZ, G.M.; NOVO, A.L.M.; PEDROSO, A.F. **Curso de produção e manejo de silagem**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 1998.

POSSENTI, R.A.; FERRARI JUNIOR, E.; BUENO, M.S.; BIANCHINI, D.; LEINZ, F.F.; RODRIGUES, C.F. Parâmetros bromatológicos e fermentativos das silagens de milho e girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.5, p.1185-1189, set./out., 2005. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33135531>> Acesso em 01 fev. 2014.

RODRIGUES, P.H.M.; BORGATTI, L.M.O.; GOMES, R.W.; PASSINI, R.; MEYER, P.M. Efeito da adição de níveis crescentes de polpa cítrica sobre a qualidade fermentativa e o valor nutritivo da silagem de capim elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.34, n.4, p.1138-1145, jul./ago., 2005. Disponível em: <www.scielo.br/pdf/rbz/v34n4/26382.pdf> Acesso em: 16 jan. 2014.

SÁ NETO, A.; NUSSIO, L.G.; ZOPOLLATTO, M.; JUNGES, D.; BISPO, A.W. Silagem de milho ou de cana-de-açúcar com *Lactobacillus buchneri* exclusivamente ou em associação com *L.plantarum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.48, n.5, p.528-535, mai., 2013. Disponível em: <seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/13174> Acesso em 02 jan. 2014.

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide: statistics**. 6^a ed. Cary, 956 p.,1998. CD.

TOMICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; TOMICH, R.G.P.; BORGES, I. **Características químicas para a avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para a qualificação da fermentação**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 20p.

Disponível em: www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC57.pdf. Acesso em: 18 out. 2013.

TURANTAS, F.; GÖKSUNGUR, Y.; DINÇER, A.H.; ÜNLÜTÜRK, A.; GÜVENÇ, U.; ZORLU, N. Effect of potassium sorbate and sodium benzoate on microbial population and fermentation of black olives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, England, v.79,n.1., p.1197-1202, jan., 1999. Disponível em: <[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(19990701\)79:9%3C1197::AID-JSFA349%3E3.0.CO;2-A/pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0010(19990701)79:9%3C1197::AID-JSFA349%3E3.0.CO;2-A/pdf)> Acesso em 04 fev. 2014.

Tabela 1: Valor médio, desvio padrão e erro padrão da média (EPM) da matéria seca (MS), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), extrativo não-nitrogenado (ENN), nutrientes digestíveis totais (NDT) e extrato etéreo (EE) do farelo úmido de glúten de milho com diferentes métodos de armazenamento e aditivos

| Aditivo | Controle | Benzoato de sódio 0,1% | Inoculante bacteriano | PCP 10% | Média | EPM |
|---------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------|---------------|
| MS (%) | 44,74(1,55) ^b | 45,58(2,08) ^b | 44,73(1,58) ^b | 50,28(2,54) ^a | 46,33 | 0,13 |
| FDA (%) | 17,08(1,46) ^b | 14,93(1,74) ^b | 15,53(1,75) ^b | 19,03(3,19) ^a | 16,14 | 1,78 |
| PB (%) | 22,20(1,36) ^a | 21,68(1,25) ^a | 22,22(1,16) ^a | 20,73(2,10) ^b | 21,70 | 0,12 |
| ENN (%) | 22,69(7,88) ^{ab} | 23,23(3,37) ^{ab} | 21,74(4,00) ^b | 26,60(5,35) ^a | 23,57 | 1,21 |
| NDT (%) | 76,91(0,96) ^a | 77,01(1,15) ^a | 76,61(1,15) ^a | 74,67(1,79) ^b | 76,33 | 1,10 |
| Armazenamento | | Significância | | Dias | | Significância |
| Amontoado | | Silo | | D0 | D35 | |
| MS | 47,98(2,68) | 44,69(2,40) | ** | 46,72(3,08) | 45,95(2,97) | ** |
| EE | 0,90(0,25) | 0,91(0,27) | NS | 0,80(0,23) | 1,00(0,20) | ** |
| ENN | 25,95(4,41) | 21,34(5,61) | ** | 23,6(4,67) | 23,48(6,39) | NS |

^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey $p<0,05$, *Médias diferenciam entre si na linha quando $P<0,05$, ** Médias diferenciam entre si na linha quando $P<0,01$, PCP 10% - inclusão de 10% de polpa cítrica peletizada, Valores entre parênteses representam o desvio padrão da variável

Tabela 2: Valores médios e erro padrão da média (EPM) de fibra em detergente neutro (FDN) do farelo úmido de glúten de milho utilizando diferentes métodos de armazenamento e aditivos

| FDN (%) | Aditivo | | | | | Média | EPM |
|-------------------------|----------|------------------------|-----------------------|---------|-------|-------|-----|
| | Controle | Benzoato de sódio 0,1% | Inoculante bacteriano | PCP 10% | Média | | |
| Método de armazenamento | | | | | | | |
| Amontoado | 50,71Aa | 49,20Ab | 48,60Ab | 43,62Bb | 48,03 | 0,81 | |
| Silo | 55,87Aa | 54,55Aa | 55,62Aa | 54,63Aa | 55,14 | 1,15 | |
| Média | 53,29 | 51,87 | 52,11 | 49,12 | | | |
| EPM | 0,94 | 0,99 | 1,22 | 1,89 | | | |

^{AB}Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05, ^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05

Tabela 3: Valores médios e erro padrão da média (EPM) de fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) do farelo úmido de glúten de milho em diferentes métodos de armazenamento nos dias zero e 35

| FDA (%) | | Método de armazenamento | | |
|-----------------------|--|-------------------------|---------------------|-------|
| Dias de armazenamento | | Amontoados | Ensilados | Média |
| Zero | | 16,18 ^{Aa} | 15,76 ^{Ab} | 15,97 |
| 35 | | 14,94 ^{Ba} | 17,68 ^{Aa} | 16,31 |
| Média | | 15,56 | 16,72 | |
| EPM | | 0,66 | 0,47 | |
| PB (%) | | Método de armazenamento | | |
| Dias de armazenamento | | Amontoados | Ensilados | Média |
| Zero | | 22,73 ^{Aa} | 19,61 ^{Bb} | 21,00 |
| 35 | | 22,12 ^{Aa} | 22,21 ^{Aa} | 22,17 |
| Média | | 22,42 | 20,96 | |
| EPM | | 0,22 | 0,44 | |
| NDT (%) | | Método de armazenamento | | |
| Dias de armazenamento | | Amontoados | Ensilados | Média |
| Zero | | 76,44 ^{Aa} | 76,46 ^{Aa} | 76,45 |
| 35 | | 77,00 ^{Aa} | 75,20 ^{Bb} | 76,10 |
| Média | | 76,72 | 75,83 | |
| EPM | | 0,36 | 0,25 | |

^{AB}Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05,

^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05

Tabela 4: Valores médios e erro padrão da média (EPM) de temperatura (°C) e pH do farelo úmido de glúten de milho em diferentes métodos de armazenamento e aditivos nos dias zero e 35

| TEMPERATURA | | | | | | | |
|--------------------------|---------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------|-------|------|--|
| Dias de armazenamento | Aditivo | | | | | | |
| | Controle | Benzoato de sódio 0,1% | Inoculante bacteriano | PCP 10% | Média | EPM | |
| | FUGM Amontoado | | | | | | |
| Zero | 28,4 ^{BaE} | 27,9 ^{BbE} | 31,3 ^{AaE} | 27,5 ^{BBF} | 28,8 | 0,54 | |
| 35 | 28,7 ^{CaE} | 31 ^{BaE} | 30,9 ^{BaE} | 35,3 ^{AaE} | 31,5 | 0,79 | |
| Média | 26,8 | 29,5 | 31,1 | 31,4 | | | |
| EPM | 0,45 | 0,83 | 0,51 | 1,78 | | | |
| FUGM ensilado | | | | | | | |
| Zero | 28,4 ^{AaE} | 28,2 ^{AaE} | 28,8 ^{AaF} | 29,2 ^{AaE} | 28,6 | 0,12 | |
| 35 | 22,6 ^{AbF} | 21,3 ^{AbF} | 22,3 ^{AbF} | 22,8 ^{AbF} | 22,3 | 0,24 | |
| Média | 25,5 | 24,8 | 25,6 | 26,0 | | | |
| EPM | 1,30 | 1,57 | 1,44 | 1,43 | | | |
| pH | | | | | | | |
| FUGM Amontoado | | | | | | | |
| Zero | 3,97 ^{BbE} | 4,00 ^{ABaE} | 3,97 ^{BbE} | 4,04 ^{AbE} | 3,99 | 0,01 | |
| 35 | 4,13 ^{AaE} | 4,04 ^{BaE} | 4,18 ^{AaE} | 4,14 ^{AaE} | 4,12 | 0,06 | |
| Média | 4,05 | 4,02 | 4,07 | 4,08 | | | |
| EPM | 0,05 | 0,02 | 0,05 | 0,13 | | | |
| FUGM Ensilado | | | | | | | |
| Zero | 3,98 ^{AaE} | 3,98 ^{AaE} | 3,98 ^{AaE} | 4,03 ^{AaE} | 3,99 | 0,01 | |
| 35 | 3,86 ^{BbF} | 3,87 ^{BbF} | 3,87 ^{BbF} | 4,01 ^{AaF} | 3,90 | 0,02 | |
| Média | 3,92 | 3,93 | 3,92 | 4,02 | | | |
| EPM | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,01 | | | |

^{AB}Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05, ^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05, ^{EF}Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna da variável diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05 nos diferentes formas de armazenamento (silo ou amontoado)

Tabela 5: Valores médios e erro padrão da média (EPM) de bolores e leveduras e bactérias láticas (em log UFC.g⁻¹) no farelo úmido de glúten de milho em diferentes métodos de armazenamento e aditivos nos dias zero e 35

| log UFC de bolores e leveduras.g ⁻¹ de FUGM | | | | | |
|--------------------------------------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------|
| Dias de armazenamento | Amontoado | | Ensilado | Média | EPM |
| Dia zero | | 4,3 ^{Aa} | 2,3 ^{Bb} | 3,7 | 0,31 |
| Dia 35 | | 3,2 ^{Bb} | 5,1 ^{Aa} | 3,9 | 0,36 |
| Média | | 3,5 | | 4,1 | |
| EPM | | 0,34 | | 0,35 | |
| Aditivo | Controle | Benzoato de sódio 0,1% | Inoculante bacteriano | PCP. 10% | EPM |
| Bolores e leveduras | 4,8±1,4 ^A | 3,1±1,3 ^B | 3,4±1,7 ^B | 4,0±1,8 ^{AB} | 0,24 |
| Bactérias láticas | 5,4±1,3 ^A | 3,3±1,6 ^B | 5,1±1,1 ^A | 4,9±1,1 ^A | 0,22 |
| Dia zero | | Dia 35 | | | |
| Bactérias láticas | 4,1±1,6 ^B | | 5,2±1,2 ^A | | 0,22 |

^{AB}Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05, ^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05

Tabela 6: Valores médios e erro padrão da média (EPM) de clostrídios (em log UFC.g⁻¹) no farelo úmido de glúten de milho em diferentes métodos de armazenamento e aditivos nos dias zero e 35

| log de UFC de clostrídios.g ⁻¹ de FUGM | | | | | | |
|---------------------------------------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|-------------------|-------|------|
| Dias de armazenamento | Controle | Benzoato de sódio 0,1% | Inoculante bacteriano | PCP. 10% | Média | EPM |
| Zero | 2,4 ^{Aa} | 1,6 ^{Ba} | 1,8 ^{Ba} | 1,9 ^{Ba} | 1,91 | 0,11 |
| Dia 35 | 1,4 ^{Bb} | 1,4 ^{Ba} | 1,4 ^{Ba} | 2,3 ^{Ab} | 1,63 | 0,11 |
| Média | 1,92 | 1,51 | 1,56 | 2,10 | | |
| Método de armazenamento | | | | | | |
| Amontoado | 2,2 ^{Aa} | 1,7 ^{ABa} | 1,3 ^{Bb} | 2,1 ^{Aa} | 1,81 | 0,12 |
| Ensilado | 1,7 ^{ABa} | 1,3 ^{Ba} | 1,8 ^{Aa} | 2,1 ^{Aa} | 1,73 | 0,12 |
| Média | 1,92 | 1,51 | 1,56 | 2,10 | | |
| EPM | 0,18 | 0,13 | 0,15 | 0,14 | | |

^{AB}Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05

^{ab}Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey p<0,05

APÊNDICE A - PROCEDIMENTOS REALIZADOS PARA AS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Condições dos procedimentos:

As diluições seriadas e plaqueamento foram realizadas em câmara de fluxo laminar após 15 minutos de incidência de luz ultravioleta;

As contagens de colônias foram realizadas por em contador manual de unidades formadoras de colônias.

Diluições seriadas:

25g de amostra em 225ml de solução peptonada a 0,1% (diluição 10^{-1});

A partir da diluição 10^{-1} , pipetou-se 1mL da diluição em tubos de ensaio com 9mL de solução peptonada a 0,1%, até a obtenção da diluição adequada.

Análise de ufc de bactérias ácido láticas:

Plaqueamento: pipetou-se 1mL da diluição desejada em placas de Petri e, posteriormente, inseridos aproximadamente 20mL de ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS) levemente aquecidos com homogeneização com movimento em formato de “8”;

Incubação: após a solidificação do meio, incubou-se as placas invertidas em jarras de anaerobiose adicionadas de gerador de anaerobiose, em estufas de demanda biológica de oxigênio (B.O.D) a 37°C por 48±2 horas;

Contagem: foram calculadas as médias das diluições inversas das placas com contagem entre 25 e 250 unidades formadoras de colônias.

Análise de ufc de clostrídios

Plaqueamento: pipetou-se 1mL da diluição desejada em placas de Petri e, posteriormente, inseridos aproximadamente 20mL de Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) levemente aquecidos com homogeneização com movimento em formato de “8”;

Incubação: após a solidificação do meio, incubou-se as placas invertidas em jarras de anaerobiose adicionadas de gerador de anaerobiose, em estufas de demanda biológica de oxigênio (B.O.D) a 42°C por 48±2 horas;

Contagem: foram calculadas as médias das diluições inversas das placas com contagem entre 20 e 200 unidades formadoras de colônias enegrecidas.

Análise de UFC de bolores e leveduras

Plaqueamento: pipetou-se superficialmente 0,1mL da solução com diluição abaixo da desejada em placas de Petri com aproximadamente 20mL de Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC) em temperatura ambiente. Homogeneizou-se a amostra por toda superfície do ágar por auxílio de alças de Drigalski.

Incubação: Incubou-se as placas em estufas de demanda biológica de oxigênio (B.O.D) a 25°C por 72±2 horas;

Contagem: foram calculadas as médias das diluições inversas das placas com contagem entre 15 e 150 unidades formadoras de colônias.

APÊNDICE B - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – REVISTA CIÊNCIA RURAL

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests **Tribolium confusum**(Coleoptera: Tenebrionidae), **Tenebrio molitor** (Coleoptera: Tenebrionidae), **Sitophilus granarius** (Coleoptera: Curculionidae) and **Plodia interpunctella** (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em:
[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3). Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de **Sitophilus oryzae** (L.), **Cryptolestes ferrugineus** (Stephens) e **Oryzaephilus surinamensis** (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-

84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas caracterísitcas digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad).** 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose.** São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico.** São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Artroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos.** Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

APÊNDICE C – DIRETRIZES PARA AUTORES – REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.
- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.
- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.
- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.
- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.
- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.
- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.
- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.
- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.

- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no [AGROVOC : Multilingual Agricultural Thesaurus](#) ou no [Índice de Assuntos da base SciELO](#).

Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.

- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- A palavra Referências deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)
AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.
- Artigos de periódicos
SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre Bradyrhizobium japonicum, B. elkanii e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

- Teses

HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste**: relatório do ano de 2003.

Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.

- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.

- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.

- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

- Redação das citações fora de parênteses

- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.

- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.