

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**  
**Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis**

**Cíntia Gonçalves Guimarães**

**SILAGENS DE CAPIM-ELEFANTE ADITIVADAS COM COPRODUTOS DO**  
**BIODIESEL**

**Diamantina**

**2018**



**Cíntia Gonçalves Guimarães**

**SILAGENS DE CAPIM-ELEFANTE ADITIVADAS COM COPRODUTOS DO  
BIODIESEL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Ricardo Evangelista

Coorientadores:

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Marcela Azevedo Magalhães

Prof. Dr. Alexandre Soares dos Santos

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Lílian de Araújo Pantoja

**Diamantina**

**2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G947s

Guimarães, Cíntia Gonçalves

Silagens de capim-elefante aditivadas com coprodutos do biodiesel /  
Cíntia Gonçalves Guimarães. – Diamantina, 2018.  
165 p. : il.

Orientador: Antônio Ricardo Evangelista

Coorientadores: Marcela Azevedo Magalhães, Alexandre Soares dos  
Santos, Lílian de Araújo Pantoja.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em  
Biocombustíveis) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e  
Mucuri.

1. Biocombustível. 2. Farelo de crambe. 3. Níveis de inclusão.  
4. Tempos de abertura. 5. Torta de macaúba. I. Evangelista, Antônio  
Ricardo. II. Magalhães, Marcela Azevedo. III. Santos, Alexandre  
Soares dos. IV. Pantoja, Lílian de Araújo. V. Título. VI. Universidade  
Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 636.2**

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

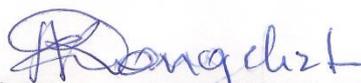
CÍNTIA GONÇALVES GUIMARÃES

**Silagens de capim-elefante aditivadas com coprodutos do biodiesel**

Tese apresentada ao DOUTORADO  
EM BIOCOMBUSTÍVEIS, nível de  
DOUTORADO como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
DOCTOR SCIENTIAE EM  
BIOCOMBUSTÍVEIS

Orientador (a): Prof. Dr. Antônio  
Ricardo Evangelista

Data da aprovação: 20/08/2018



Prof. Dr. ANTÔNIO RICARDO EVANGELISTA -UFVJM



Dr. LEANDRO DIEGO DA SILVA - UFVJM



Prof. Dr. EMERSON DELANO LOPES - IFNMG



Prof. Dr. ROMILDO DA SILVA - UFLA



Dr.ª FLAVIA CAMPOS VIEIRA - IEF

À Deus, à minha família pelo apoio de sempre, incentivo e compreensão e, meus amigos pelo  
companheirismo

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por sempre está guiando meus passos, mesmo nos momentos mais difíceis, me amparando.

À minha mãezinha (Cecília), *in memoriam*, que mesmo não estando presente fisicamente, com certeza esteve comigo em todas as fases da minha vida e principalmente durante o período do doutorado, me ajudando a tomar decisões. E, claro aplaudindo em cada fase concluída. Eternas saudades ☹!

Ao meu pai (Márcio), que nunca mediu esforços para sempre me ajudar, para que eu conseguisse alcançar algo que desejava. Pelo carinho incondicional, pela atenção, pelo apoio, por sempre está presente na minha vida. Sei que não conseguirei agradecer por tudo que fez e faz por mim. Te amo pai!!! Tenho muito orgulho do senhor!!!

À minha irmã (Amanda), por sermos muito unidas, graças a Deus, por sempre está do meu lado, pela nossa amizade, pela confiança, por mostrar meus defeitos, agradeço até pelas discussões rsrs, porque com certeza serviram para meu crescimento e amadurecimento. E, nos dois últimos anos do doutorado tive o prazer de voltar a morar novamente com você, que com certeza me ajudou muito nos trabalhos de laboratório, na parte escrita, na estatística. Irmã você é muito importante para mim!

Ao meu namorado (Marcão), pela paciência, carinho, atenção, pelos auxílios no laboratório, na leitura da tese, agradeço à Deus por ter te conhecido no período do doutorado, pois foi fundamental em minha vida.

Ao meu orientador (prof. Evangelista), pela paciência, pelos ensinamentos, pela compreensão, pelos momentos de descontração. Sei que acertei muito bem na escolha do orientador ☺. O senhor será meu exemplo, sempre preocupado com o bem estar, com a saúde emocional de suas orientadas e acima de tudo o respeito e dedicação, mesmo estando morando em outra cidade. É muito querido por todas nós, não conseguiria chegar até aqui sem sua ajuda. Sou muito grata!!!!

À Carol, que antes de ter entrado no doutorado, mesmo sem conhecê-la fiz o primeiro contato via e-mail e ela foi muito atenciosa, a partir daí vi que nossa parceria seria fantástica! Nossa amizade foi fortificando e hoje posso dizer que será pra vida inteira. Você sabe que jamais teria conseguido finalizar o doutorado sem você, sem seus auxílios no laboratório, na escrita, nas apresentações, nas nossas conversas, enfim, em tudo, pois você participou de tudo inclusive da minha vida durante o período do doutorado, dos conselhos, dos momentos difíceis que somente nós sabemos, e do alívio que foi quando conseguimos

concluir a primeira fase das análises, uhuuuu, ufa!!!! Passamos momentos bons também, tentávamos tornar as coisas mais leves, nas danças no laboratório rsrs, músicas cantadas, das besteiras que falávamos rsrs tudo isso era muito divertido e sem falar nos lanches, hummm, como era bom nossos lanches de laboratório. Mas, não deixávamos de lado a seriedade do trabalho, para que conseguíssemos alcançar bons resultados nas análises. Obrigada por tudo Carol, foi um grande ganho que tive no doutorado ter te conhecido, pode ter certeza que terá que me aturar para o resto da vida!!!

À professora Marcela, coorientadora, que possibilitou auxiliá-la na disciplina de Forragicultura, onde aprendi muito. Obrigada pelo carinho, pela tranquilidade que sempre me passou, pelas palavras de apoio, tirando dúvidas com muito boa vontade, e, pelas parcerias que ultimamente estamos fazendo com trabalhos e projetos.

Agradeço à Fran, por toda ajuda no laboratório e no experimento de uma forma geral. Aos meninos do Pará, Jorge e Arilson, que foram os primeiros contatos que fiz quando cheguei em Diamantina, por terem me mostrado como seria um experimento com análises microbianas da silagem.

Agradeço aos amigos que foram fundamentais durante o período do doutorado como a Gabi, Luciana, Elizandra, Jéssica, Nayara, Andreia, Philipe, Cláudio, Lelê, Selma Aurora, Mari, Ilva, Gláucia, Viviane. Aos amigos da EaD: Iracema, Celmo, Marcelo e Andrezza.

A todas as pessoas que nos ajudaram no dia da ensilagem, sei que não foi um trabalho fácil, mas conseguimos tornar o trabalho divertido com as piadas, conversas, lanches.

Ao técnico Geraldo, que sempre tentou ajudar com tudo que estava ao seu alcance, e que torno um grande amigo.

Agradeço a todos os técnicos que auxiliaram com boa vontade: Elizandra, Mari, Andrezza, Abraão, Altair, Ilva, Elisângela.

Aos funcionários de campo, as meninas da limpeza da UFVJM e todos que de certa forma ajudaram tornando os dias melhores, mais agradáveis.

Agradeço aos responsáveis pelo LabBio (Laboratório de Biocombustíveis), LNA (Laboratório de Nutrição Animal) e Lipemvale (Laboratório de Pesquisa Multiusuário dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri), pelo espaço cedido para a execução deste trabalho. Aos professores Alexandre, Lílian e Gustavo.

Agradeço a todos do departamento de Zootecnia que me acolheram muito bem.

Agradeço a todos os familiares que de certa forma me ajudaram, dando uma palavra de apoio, de conselho no período do doutorado.

Aos amigos de Paraopeba, Caetanópolis e Sete Lagoas, que sempre estão presentes, seja fisicamente, pelo telefone, whatsapp, com palavras doces para aliviar as tensões do dia-a-dia.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.



## RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da torta de macaúba e farelo de crambe, oriundos da cadeia produtiva do biodiesel, em diferentes níveis de inclusão na ensilagem de capim-elefante. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. O material foi ensilado em silos experimentais elaborados com tubos de PVC com tampas providas de válvula tipo Bunsen, compactou-se o material obtendo-se massa específica de  $600 \text{ kg/m}^3$ . Foi analisado teores de ácidos orgânicos, população microbiana, composição químico-bromatológica e as perdas geradas durante o processo fermentativo. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial  $3 \times 6$ , sendo três níveis de inclusão de cada coproduto do biodiesel (0; 10 e 20%) e seis tempos de abertura dos silos (1; 5; 10; 20; 40 e 60 dias após a ensilagem). A torta de macaúba foi eficiente como aditivo absorvente de umidade nas silagens de capim-elefante, no qual proporcionou elevação dos teores de matéria seca, além da melhoria no processo fermentativo, que favoreceu o desenvolvimento de microrganismos desejáveis, e, reduziu a população de fungos provavelmente por meio da ação antifúngica propiciada pela adequada produção de ácido acético, o que favoreceu baixa produção de etanol. Houve redução dos teores de ácido butírico, aumento de ácido lático, e, conseqüente redução dos valores de pH, que foram satisfatórios para a conservação do material ensilado. Níveis crescentes da torta de macaúba reduziram a proteólise no material ensilado, o que resultou em menores concentrações de nitrogênio amoniacal. Os teores de fibras foram reduzidos com a adição da torta de macaúba, os teores de proteína elevaram-se, porém, não foram tão expressivos, não houve contribuição da torta de macaúba sobre os carboidratos solúveis. Os teores de extrato etéreo aumentaram com os níveis crescentes da torta de macaúba, o que deve-se atentar para que o uso na alimentação animal não limite o consumo de matéria seca e reduza a digestibilidade da fibra. Nas silagens de capim-elefante com 20% da torta de macaúba, devem ser misturados a outros alimentos com concentração de extrato etéreo menor, as perdas por gases e efluentes foram reduzidas e a recuperação de matéria seca nas silagens de capim-elefante foi aumentada com a inclusão da torta de macaúba, sendo que a adição de 20% proporcionou melhores resultados. O farelo de crambe adicionado na ensilagem de capim-elefante foi eficiente na melhoria do processo fermentativo através da elevação dos teores de matéria seca, da contribuição para o desenvolvimento de microrganismos benéficos em detrimento dos indesejáveis, da predominância da fermentação láctica com conseqüente redução do pH, além do incremento do valor nutricional, principalmente pela elevação do teor proteico e redução dos teores de fibras, contudo, o farelo

de crambe favoreceu a elevação dos teores de nitrogênio amoniacal. As perdas por gases e efluentes foram reduzidas e a recuperação de matéria seca nas silagens de capim-elefante foi aumentada com a inclusão do farelo de crambe. O maior nível de inclusão (20%) do farelo de crambe promoveu as melhores características nas silagens de capim-elefante.

**Palavras-chave:** Biocombustível. Farelo de crambe. Níveis de inclusão. Tempos de abertura.  
Torta de macaúba.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of macaúba cake and crambe bran from the biodiesel production chain on different levels of inclusion in elephant grass silage. The experimental design was completely randomized, with four replications. The material was ensiled in experimental silos made with PVC tubes with caps equipped with a Bunsen type valve, the material was compacted to obtain a specific mass of 600 kg/m<sup>3</sup>. The content of organic acids, microbial population, chemical-bromatological composition and the losses generated during the fermentation process were analyzed. The treatments were arranged in a 3 x 6 factorial scheme, with three inclusion levels of each biodiesel co-product (0, 10 and 20%) and six silos opening times (1, 5, 10, 20, 40 and 60 days after the silage). The macaúba cake was efficient as a moisture-absorbing additive in elephant grass silages, in which it increased the dry matter contents, as well as improving the fermentation process, which favored the development of desirable microorganisms, and reduced the fungus population probably through the antifungal action provided by the adequate production of acetic acid, which favored low ethanol production. There was a decrease in butyric acid, increase of lactic acid, and consequent reduction of pH values, which were satisfactory for the conservation of silage. Increasing levels of macaúba cake reduced the proteolysis in the ensiled material, which resulted in lower concentrations of ammonia nitrogen. The fiber contents were reduced with the addition of the macaúba cake, the protein levels were elevated, however, they were not as expressive, there was no contribution of the macaúba cake to the soluble carbohydrates. Ethereal extract contents increased with the increasing levels of macaúba cake, which should be taken care that the use in animal feed does not limit dry matter consumption and reduce fiber digestibility. In the elephant grass silages with 20% of the macaúba cake, they should be mixed with to other foods with a lower concentration of ethereal extract, gas and effluent losses were reduced and dry matter recovery in elephant grass silages was increased with the inclusion of macaúba cake, and the addition of 20% provided better results. The crambe bran added in elephant grass silage was efficient in improving the fermentation process by raising dry matter contents, contributing to the development of beneficial microorganisms to the detriment of undesirable ones, the predominance of lactic fermentation with consequent reduction of pH, in addition to the increase in nutritional value, mainly due to the elevation of protein content and reduction of fiber content, however, the crambe bran favored the elevation of ammoniacal nitrogen contents. Gaseous and effluent losses were reduced and recovery of dry matter in elephant grass silages was increased with the inclusion of crambe bran. The

highest level of inclusion (20%) of crambe bran promoted the best characteristics in elephant grass silages.

**Keywords:** Biofuels. Crambe bran. Levels of inclusion. Opening times. Macaúba cake.

## LISTA DE TABELAS CAPÍTULO I

- Tabela 1** – Composição químico-bromatológica do capim-elefante, da torta de macaúba e das respectivas misturas antes da ensilagem.....75
- Tabela 2** – População microbiana (log ufc/g de silagem) e valores de potencial hidrogeniônico (pH) do capim elefante, da torta de macaúba e das respectivas misturas antes da ensilagem .....75
- Tabela 3** – Análise de variância da composição químico-bromatológica das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....76
- Tabela 4** – Teores de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....77
- Tabela 5** – Teores de proteína bruta (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....78
- Tabela 6** – Teores de fibra em detergente neutro (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)...79
- Tabela 7** – Teores de fibra em detergente ácido (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....80
- Tabela 8** – Teores de carboidratos solúveis (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....81
- Tabela 9** – Teores de extrato etéreo (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....83

- Tabela 10** – Teores de nitrogênio amoniacal (% do NT) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....84
- Tabela 11** – Análise de variância da quantificação da população microbiana (log ufc/g) das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....86
- Tabela 12** – População de bactérias ácido lácticas (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)...86
- Tabela 13** – População de enterobactérias (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....87
- Tabela 14** – População de fungos leveduriformes (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)...89
- Tabela 15** – População de fungos filamentosos (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....90
- Tabela 16** – Análise de variância dos ácidos orgânicos das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....91
- Tabela 17** – Teores de ácido láctico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....92
- Tabela 18** – Teores de ácido acético (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....93

<b>Tabela 19</b> – Teores de ácido butírico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	95
<b>Tabela 20</b> – Análise de variância de pH das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....	96
<b>Tabela 21</b> – Valores de pH das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	96
<b>Tabela 22</b> – Análise de variância de etanol das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) de torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....	97
<b>Tabela 23</b> – Teores de etanol (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	98
<b>Tabela 24</b> – Análise de variância das perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....	99
<b>Tabela 25</b> – Perdas por efluentes (kg/ton de matéria verde) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	99
<b>Tabela 26</b> – Perdas por gases (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	101
<b>Tabela 27</b> – Índice de recuperação de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	102



## LISTA DE TABELAS CAPÍTULO II

- Tabela 1** – Composição químico-bromatológica do capim-elefante, do farelo de crambe e das respectivas misturas antes da ensilagem.....127
- Tabela 2** – População microbiana (log ufc/g de silagem) e valores de potencial hidrogeniônico (pH) do capim-elefante, do farelo de crambe e das respectivas misturas antes da ensilagem.....127
- Tabela 3** – Análise de variância da composição químico-bromatológica das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem .....128
- Tabela 4** – Teores de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....129
- Tabela 5** – Teores de proteína bruta (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....130
- Tabela 6** – Teores de fibra em detergente neutro (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).131
- Tabela 7** – Teores de fibra em detergente ácido (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....133
- Tabela 8** – Teores de carboidratos solúveis (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....134
- Tabela 9** – Teores de extrato etéreo (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....135

- Tabela 10** – Teores de nitrogênio amoniacal (% do NT) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....136
- Tabela 11** – Análise de variância da quantificação da população microbiana (log ufc/g) das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....138
- Tabela 12** – População de bactérias ácido lácticas (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).138
- Tabela 13** – População de enterobactérias (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....140
- Tabela 14** – População de fungos leveduriformes (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).141
- Tabela 15** – População de fungos filamentosos (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....142
- Tabela 16** – Análise de variância dos ácidos orgânicos das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....143
- Tabela 17** – Teores de ácido láctico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....144
- Tabela 18** – Teores de ácido acético (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....145

<b>Tabela 19</b> – Teores de ácido butírico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	147
<b>Tabela 20</b> – Análise de variância de pH das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....	148
<b>Tabela 21</b> – Valores de pH das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	148
<b>Tabela 22</b> – Análise de variância de etanol das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....	150
<b>Tabela 23</b> – Teores de etanol (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	150
<b>Tabela 24</b> – Análise de variância das perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem.....	152
<b>Tabela 25</b> – Perdas por efluentes (kg/ton de matéria verde) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	152
<b>Tabela 26</b> – Perdas por gases (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	154
<b>Tabela 27</b> – Índice de recuperação de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV).....	155



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>27</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>29</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>29</b>
<b>3 REVISÃO DE LTERATURA</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1 Biocombustíveis</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1.1 Biodiesel</b> .....	<b>32</b>
<b>3.1.1.1 Geração de coprodutos na cadeia produtiva do biodiesel</b> .....	<b>33</b>
<b>3.2 Macaúba</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2.1 Potencial da macaúba para produção de biodiesel</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2.1.1 Torta de Macaúba</b> .....	<b>35</b>
<b>3.3 Crambe</b> .....	<b>36</b>
<b>3.3.1 Potencial do crambe para produção de biodiesel</b> .....	<b>36</b>
<b>3.3.1.1 Farelo de Crambe</b> .....	<b>37</b>
<b>3.4 Estacionalidade</b> .....	<b>38</b>
<b>3.5 Ensilagem</b> .....	<b>38</b>
<b>3.6 Capim-elefante</b> .....	<b>39</b>
<b>3.6.1 Potencial do capim-elefante para ensilagem</b> .....	<b>40</b>
<b>3.6.2 Aditivos na ensilagem de capim-elefante</b> .....	<b>41</b>
<b>3.7 Perdas por gases e por efluentes associadas ao teor de matéria seca da forragem</b> ..	<b>42</b>
<b>3.8 População microbiana</b> .....	<b>43</b>
<b>3.8.1 Bactérias ácido lácticas</b> .....	<b>44</b>
<b>3.8.2 Enterobactérias</b> .....	<b>45</b>
<b>3.8.3 Fungos leveduriformes</b> .....	<b>45</b>
<b>3.8.4 Fungos filamentosos</b> .....	<b>46</b>
<b>3.8.5 Clostrídios</b> .....	<b>47</b>
<b>3.9 Ácidos orgânicos, pH e nitrogênio amoniacal</b> .....	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>51</b>
<b>CAPÍTULO I: SILAGENS DE CAPIM ELEFANTE ADITIVADAS COM TORTA DE MACAÚBA</b> .....	<b>59</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>59</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>61</b>

<b>4 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>65</b>
<b>5.1 Local do experimento.....</b>	<b>65</b>
<b>5.2 Forrageira e coproduto utilizado.....</b>	<b>65</b>
<b>5.3 Delineamento experimental e modelo estatístico.....</b>	<b>65</b>
<b>5.4 Silos experimentais.....</b>	<b>66</b>
<b>5.5 Ensilagem.....</b>	<b>66</b>
<b>5.6 Amostragens .....</b>	<b>67</b>
<b>5.6.1 Amostra de preparação úmida.....</b>	<b>67</b>
<b>5.6.2 Amostra destinada às análises da população microbiana e químico-bromatológica..</b>	<b>67</b>
<b>5.7 Análises laboratoriais .....</b>	<b>68</b>
<b>5.7.1 Composição químico-bromatológica.....</b>	<b>68</b>
5.7.1.1 Teor de matéria seca.....	68
5.7.1.2 Teores de proteína bruta .....	68
5.7.1.3 Teores de fibra em detergente neutro .....	69
5.7.1.4 Teores de fibra em detergente ácido.....	69
5.7.1.5 Teores de carboidratos solúveis .....	70
5.7.1.6 Teores de extrato etéreo.....	70
<b>5.7.2 População microbiana .....</b>	<b>70</b>
5.7.2.1 Bactéria ácido láctica.....	71
5.7.2.2 Enterobactéria .....	71
5.7.2.3 Fungo leveduriforme.....	72
5.7.2.4 Fungo filamentosos.....	72
<b>5.7.3 Ácidos orgânicos e etanol .....</b>	<b>72</b>
<b>5.7.4 Perdas por efluentes e por gases e Índice de recuperação de matéria seca.....</b>	<b>73</b>
5.7.4.1 Perdas por efluentes.....	73
5.7.4.2 Perdas por gases.....	73
5.7.4.3 Índice de recuperação de matéria seca .....	74
<b>5.8 Análise estatística .....</b>	<b>74</b>
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>75</b>
<b>6.1 Composição químico-bromatológica, população microbiana e pH do material antes da ensilagem.....</b>	<b>75</b>
<b>6.2 Composição químico-bromatológica das silagens.....</b>	<b>76</b>
6.2.1 Matéria seca .....	76

6.2.2	<i>Proteína bruta</i> .....	77
6.2.3	<i>Fibra em detergente neutro</i> .....	79
6.2.4	<i>Fibra em detergente ácido</i> .....	80
6.2.5	<i>Carboidratos solúveis</i> .....	81
6.2.6	<i>Extrato etéreo</i> .....	82
6.2.7	<i>Nitrogênio amoniacal</i> .....	83
6.3	<b>População microbiana das silagens</b> .....	85
6.3.1	<i>Bactérias ácido lácticas</i> .....	86
6.3.2	<i>Enterobactérias</i> .....	87
6.3.3	<i>Fungos leveduriformes</i> .....	88
6.3.4	<i>Fungos filamentosos</i> .....	90
6.4	<b>Ácidos orgânicos das silagens</b> .....	91
6.4.1	<i>Ácido láctico</i> .....	91
6.4.2	<i>Ácido acético</i> .....	93
6.4.3	<i>Ácido butírico</i> .....	94
6.5	<b>Potencial Hidrogeniônico – pH das silagens</b> .....	95
6.6	<b>Etanol das silagens</b> .....	97
6.7	<b>Perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens</b>	
	98	
6.7.1	<i>Perdas por produção de efluentes</i> .....	99
6.7.2	<i>Perdas por produção de gases</i> .....	100
6.7.3	<i>Índice de recuperação de matéria seca</i> .....	101
7	<b>CONCLUSÃO</b> .....	103
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	105
	<b>CAPÍTULO II: SILAGENS DE CAPIM-ELEFANTE ADITIVADAS COM FARELO DE CRAMBE</b> .....	111
	<b>RESUMO</b> .....	111
	<b>ABSTRACT</b> .....	113
8	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	115
9	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	117
9.1	<b>Local do experimento</b> .....	117
9.2	<b>FORAGEIRA e coproduto utilizado</b> .....	117
9.3	<b>Delineamento experimental e modelo estatístico</b> .....	117
9.4	<b>Silos experimentais</b> .....	118

<b>9.5 Ensilagem</b> .....	<b>118</b>
<b>9.6 Amostragens</b> .....	<b>119</b>
<i>9.6.1 Amostra de preparação úmida</i> .....	<i>119</i>
<i>9.6.2 Amostra destinada às análises da população microbiana e químico-bromatológica</i>	<i>119</i>
<b>9.7 Análises laboratoriais</b> .....	<b>120</b>
<b>9.7.1 Composição químico-bromatológica</b> .....	<b>120</b>
9.7.1.1 Teor de matéria seca.....	120
9.7.1.2 Teores de proteína bruta .....	120
9.7.1.3 Teores de fibra em detergente neutro .....	121
9.7.1.4 Teores de fibra em detergente ácido.....	121
9.7.1.5 Teores de carboidratos solúveis .....	122
9.7.1.6 Teores de extrato etéreo.....	122
<b>9.7.2 População microbiana</b> .....	<b>122</b>
9.7.2.1 Bactéria ácido láctica.....	123
9.7.2.2 Enterobactéria .....	123
9.7.2.3 Fungo leveduriforme.....	124
9.7.2.4 Fungo filamentosos.....	124
<b>9.7.3 Ácidos orgânicos e etanol</b> .....	<b>124</b>
<b>9.7.4 Perdas por efluentes e por gases e Índice de recuperação de matéria seca</b> .....	<b>125</b>
9.7.4.1 Perdas por efluentes.....	125
9.7.4.2 Perdas por gases.....	125
9.7.4.3 Índice de recuperação de matéria seca .....	126
<i>Msfe = Teor de MS da forragem no fechamento (%)</i> .....	<i>126</i>
<b>9.8 Análise estatística</b> .....	<b>126</b>
<b>10 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>127</b>
<b>10.1 Composição químico-bromatológica, população microbiana e pH do material antes da ensilagem</b> .....	<b>127</b>
<b>10.2 Composição químico-bromatológica das silagens</b> .....	<b>128</b>
<i>10.2.1 Matéria seca</i> .....	<i>128</i>
<i>10.2.2 Proteína bruta</i> .....	<i>129</i>
<i>10.2.3 Fibra em detergente neutro</i> .....	<i>131</i>
<i>10.2.4 Fibra em detergente ácido</i> .....	<i>132</i>
<i>10.2.5 Carboidratos solúveis</i> .....	<i>133</i>
<i>10.2.6 Extrato etéreo</i> .....	<i>134</i>

<i>10.2.7 Nitrogênio amoniacal</i> .....	136
<b>10.3 População microbiana das silagens</b> .....	<b>137</b>
<i>10.3.1 Bactérias ácido lácticas</i> .....	138
<i>10.3.2 Enterobactérias</i> .....	139
<i>10.3.3 Fungos leveduriformes</i> .....	141
<i>10.3.4 Fungos filamentosos</i> .....	142
<b>10.4 Ácidos orgânicos das silagens</b> .....	<b>143</b>
<i>10.4.1 Ácido lático</i> .....	143
<i>10.4.2 Ácido acético</i> .....	145
<i>10.4.3 Ácido butírico</i> .....	146
<b>10.5 Potencial hidrogeniônico das silagens</b> .....	<b>148</b>
<b>10.6 Etanol das silagens</b> .....	<b>150</b>
<b>10.7 Perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens</b>	
<b>151</b>	
<i>10.7.1 Perdas por produção de efluentes</i> .....	152
<i>10.7.2 Perdas por produção de gases</i> .....	153
<i>10.7.3 Índice de recuperação matéria seca</i> .....	154
<b>11 CONCLUSÕES</b> .....	<b>157</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>159</b>
<b>12 CONCLUSÃO GERAL</b> .....	<b>165</b>



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os biocombustíveis têm ganhado destaque, frente à preocupação mundial, sobre a dependência dos combustíveis fósseis, aumento da emissão dos gases poluentes e conseqüentemente o agravamento da poluição ambiental, além dos altos preços do diesel advindo de fontes fósseis, contudo, as fontes de energias renováveis são consideradas de baixo impacto ambiental.

O biodiesel é um dos principais biocombustíveis líquidos, apresenta a característica de ser biodegradável, atóxico e renovável, praticamente isento de enxofre e de compostos aromáticos. É classificado como combustível ecológico, por favorecer redução substancial da emissão de monóxido de carbono e de hidrocarbonetos (BIODIESELBR, 2017). Durante a cadeia de produção do biodiesel há a geração de coprodutos, que, conforme Teixeira *et al.* (2014), podem ser originados da extração do óleo a partir de culturas oleaginosas, como tortas ou farelos, reduzindo o custo de produção tanto do biodiesel como na alimentação animal. Estes coprodutos devem ser direcionados de forma consciente no meio ambiente, visto que a destinação imprópria pode causar sérios problemas ambientais, como exemplo a poluição ambiental.

O Brasil tem grande diversidade climática e edáfica, assim há várias culturas oleaginosas com potencial para produção de biodiesel, dentre elas pode-se destacar algumas das principais: soja, girassol, crambe, mamona, dendê, pinhão-mansão, nabo forrageiro, algodão, amendoim, canola, babaçu e macaúba.

A macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart.] é promissora para a produção de biodiesel, visto que sua produtividade é relevante e a obtenção do óleo é em torno de cinco vezes maior do que a soja, levando em consideração também o cultivo, que é mais simples (SALLES, 2017). Porém, ainda são escassos os estudos sobre a utilização da torta de macaúba na alimentação animal.

O farelo de crambe (*Crambe abyssinica* H.) possui teor proteico próximo de 40%, caracterizando-o como um ingrediente potencial para utilização na alimentação animal. Este coproduto é obtido após a extração do óleo do crambe, uma cultura promissora utilizada no país para a produção de biodiesel (PITOL *et al.*, 2010).

Para alimentação de ruminantes, as forrageiras tropicais têm sido muito utilizadas, contudo, estas apresentam sazonalidade marcante, em virtude da distribuição desuniforme da produção ao longo do ano, com sobra de forragem na estação chuvosa e falta na estação seca, gerando comprometimento de desempenho da produção animal. A adoção de técnicas de

conservação de forragem que lhe preserve as características nutricionais e permitem seu uso em períodos críticos de alimentação torna-se extremamente necessário, podendo-se salientar a ensilagem.

Desse modo, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é indicado para produção de silagem, por possuir alto potencial produtivo por área cultivada, boa aceitabilidade, além de apresentar tolerância a condições climáticas adversas (CARDOSO *et al.*, 2016). Entretanto, a forrageira apresenta alto teor de umidade, no momento do corte para obtenção da silagem, no qual pode acarretar fermentações indesejáveis, comprometendo a qualidade do material ensilado (ZANINE *et al.*, 2007).

A ensilagem de capins sem utilização de aditivos está propícia a significativas perdas por efluentes, no qual carregam grandes quantidades de compostos orgânicos, reduzindo assim o valor nutritivo das silagens (PINHO *et al.*, 2008; ANDRADE *et al.*, 2012). Assim, nota-se a necessidade da utilização de aditivos com a finalidade de melhoria do processo fermentativo, através da redução de umidade e/ou melhoria do valor nutricional das silagens.

Os objetivos dos trabalhos foram avaliar os efeitos da inclusão da torta de macaúba e do farelo de crambe na ensilagem de capim-elefante sobre a composição químico-bromatológica, população microbiana, produção de ácidos orgânicos, etanol e valores de pH e, as perdas fermentativas produzidas durante o processo de fermentação.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da torta de macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart.] e farelo de crambe (*Crambe abyssinica* H.) na ensilagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.).

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos solúveis (CHOS), extrato etéreo (EE) e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>);
- Determinar o pH, os teores de ácidos orgânicos (ácidos láctico, acético e butírico) e de etanol;
- Quantificar a população microbiana (bactérias ácido lácticas (BAL), enterobactérias (Enter), fungos leveduriformes (FL) e filamentosos (FF));
- Determinar as perdas por gases (PG), por efluentes (PE) e o índice de recuperação de matéria seca (RMS) das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão da torta de macaúba e farelo de crambe ao longo dos tempos de armazenamento nos silos.



### 3 REVISÃO DE LTERATURA

#### 3.1 Biocombustíveis

O Brasil tem a matriz energética mais renovável do mundo industrializado, com grande parte de sua produção proveniente de fontes como recursos hídricos, biomassa e etanol, além das energias eólica e solar. O desempenho reflete as transformações ocorridas no setor energético nacional, que tem incentivado tanto o crescimento dessas fontes quanto a diversificação da matriz nos últimos anos (MME, 2017).

A preocupação mundial com a questão ambiental, no tocante à dependência externa de combustíveis fósseis, concomitantemente à busca por fontes de energias renováveis, tem evidenciado a preferência por fontes energéticas de baixo impacto ambiental. O Brasil é declarado como o pioneiro no desenvolvimento de fontes líquidas de energias alternativas eficientes e ambientalmente sustentáveis, dentre os biocombustíveis, destaca-se sobretudo, o biodiesel e o bioetanol, com a possibilidade de promover fortes mudanças na economia e na política de inclusão social (ABDALLA *et al.*, 2008; TOLMASQUIM, 2012).

O potencial do biocombustível no Brasil fortifica a sua posição como potência regional com influência global. Os mais recentes desenvolvimentos no setor de biocombustíveis mostram que o Brasil passa por um processo abrangente de transformação, conduzindo não somente a enormes consequências econômicas, mas também na política interna ocasionando mudanças sociais, socioculturais e ecológicas (KOHLHEPP, 2010).

A produção de biocombustíveis, seja de biomassa sólida, como lenha ou carvão vegetal, ou de biomassa líquida, como o bioetanol ou o biodiesel, pode ter várias justificativas econômicas, sociais e ambientais. Estes últimos energéticos têm como principais vantagens ambientais, a possível mitigação das emissões de gases ou partículas pelos veículos que são diretamente prejudiciais a saúde humana ou ao meio ambiente, como monóxido de carbono, hidrocarbonetos e óxidos de enxofre e nitrogênio e a redução das emissões dos gases do chamado "efeito estufa", principalmente o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (URQUIAGA *et al.*, 2005), além do decréscimo na dependência dos combustíveis fósseis e aumentos progressivos do preço de petróleo e seus derivados.

Os primeiros estudos para a criação de uma política para o biodiesel no Brasil tiveram início em 2003, com a criação da Comissão Executiva Interministerial do Biodiesel (CEIB) e do Grupo Gestor (GG), pelo governo federal. Em dezembro de 2004, o governo federal lançou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), com o objetivo

inicial de introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira. Com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, o principal resultado dessa primeira fase foi a definição de um arcabouço legal e regulatório. O biodiesel é uma realidade no País e garante ao Brasil uma posição destacada, em relação ao resto do mundo. Juntos, bioetanol e biodiesel fortalecem a participação dos biocombustíveis na matriz energética nacional e a imagem do Brasil como país que valoriza a diversidade de fontes energéticas (ANP, 2017).

### **3.1.1 Biodiesel**

O biodiesel é um biocombustível com importantes objetivos sociais e ambientais, associado à fixação do homem nas áreas rurais, geração de emprego, renda e minimização da emissão de gases que contribuem para as mudanças climáticas globais. Estrategicamente, a produção de biodiesel visa também à diversificação da matriz energética, principalmente dos países importadores de diesel mineral (SANTACESARIA, *et al.*, 2012).

Considerado um biocombustível promissor substituto do diesel, por tratar-se de combustão mais limpa, obtido através de fontes naturais renováveis, tais como óleos vegetais e gorduras animais. Assim como o diesel mineral, o biodiesel opera em motores de combustão-ignição, podendo ser usado como um substituto, misturado ou como aditivo ao óleo diesel. Misturas de até 20% de biodiesel (a 80% de diesel convencional) podem ser utilizadas em praticamente qualquer equipamento diesel e são compatíveis com a maioria dos equipamentos de armazenamento e de distribuição (UDAETA *et al.*, 2017).

A produção do biodiesel é obtida através de transesterificação, com separação da glicerina e óleo vegetal, ocasionando a geração de dois produtos: ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e glicerina (ABDALLA *et al.*, 2008). Transesterificação é um método utilizado com o objetivo de reduzir a viscosidade do óleo, visto que os óleos vegetais apresentam alta viscosidade e volatilidade baixa, fazendo com que a combustão seja mais demorada. O processo propicia a remoção de glicerídeos e a produção de ésteres de triacilgliceróis, reduzindo, assim, a viscosidade para um valor comparável ao do diesel, com isso havendo a melhoria da combustão (BASHA *et al.*, 2009).

A comercialização do biodiesel só pode ser efetivada, após passar por processos de purificação, para adequação à especificação da qualidade, sendo destinado principalmente à aplicação em motores de ignição por compressão (ciclo diesel). De acordo com a Agência Nacional de Petróleo - ANP (2018), a mistura deste biocombustível ao diesel fóssil teve início no ano de 2004, em caráter experimental e, entre 2005 e 2007, no teor de 2%, a

comercialização passou a ser voluntária. Em 2008, entrou em vigor a mistura legalmente obrigatória de 2% (B2) em todo o território nacional, atualmente esta mistura encontra-se com o percentual de 10% ao diesel. Esse incentivo à produção e ao uso em grande expansão desse biocombustível propicia desenvolvimento de fonte energética sustentável sob os aspectos ambientais, econômicos e sociais, além de perspectiva de redução das importações de óleo diesel. A estimativa de consumo do biodiesel é de 5,3 bilhões de litros no ano de 2018 (ANP, 2018).

### *3.1.1.1 Geração de coprodutos na cadeia produtiva do biodiesel*

No beneficiamento de matérias-primas vegetais para a obtenção de um produto principal, são geralmente obtidos outros materiais secundários os quais, até há pouco tempo, eram denominados de subprodutos (produtos com menor importância em relação ao faturamento) e resíduos (produtos sem mercado definido). O conceito de coproduto tem ganhado força, uma vez que os materiais podem ser tão importantes industrial e comercialmente, como o produto principal objetivado no processamento (RETORE, 2009).

Na cadeia de produção do biodiesel, há a geração de coprodutos, as tortas e os farelos são os principais, que podem ser utilizados para diversas finalidades, constituindo assim outras fontes de renda importante para os produtores (ABDALLA *et al.*, 2008). As tortas são obtidas após a prensagem para extração mecânica do óleo das sementes e os farelos, após a extração por solventes. Os farelos constituem um resíduo bastante inferior em óleos, da ordem de 1,5%. A extração mecânica por prensa, apesar de ser menos eficiente na retirada da fração lipídica, constitui o sistema mais viável em pequena escala, por não depender das exigências de instalações e segurança inerentes ao processamento com uso de solvente (SOUZA *et al.*, 2009).

Os principais destinos das tortas têm sido a adubação orgânica, a geração de energia e a alimentação animal. Enfatizando esta última, o uso da torta visa aumentar a produtividade animal e mitigar a emissão de gases de efeito estufa gerado pelos animais, criando créditos de carbono e respondendo ao objetivo da iniciativa privada (ABDALLA *et al.*, 2008).

As tortas obtidas na indústria do biodiesel têm potencial na alimentação de ruminantes e, se adicionadas na ensilagem de gramíneas tropicais com alta umidade, podem elevar o teor de matéria seca, melhorando o padrão de fermentação do processo de ensilagem. Outro benefício das tortas é a adição de carboidratos solúveis, por proporcionar adequado

processo de fermentação, o qual pode impedir o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. Consequentemente, o material ensilado de gramíneas tropicais passa a apresentar característica de alimento com valor nutricional adequado e de baixo custo de produção (BALSALOBRE *et al.*, 2001; BONFÁ *et al.*, 2018).

O potencial de utilização de coprodutos agroindustriais na alimentação animal pode ser considerado uma característica ambiental e economicamente importante, na medida em que diminui o impacto ambiental, ocasionado pelo armazenamento dos coprodutos em locais inadequados, representando um sério problema de contaminação do meio ambiente, principalmente dos recursos hídricos e do solo (AZEVEDO *et al.*, 2017; BONFÁ *et al.*, 2017).

## **3.2 Macaúba**

A macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart.] pertence a família Arecaceae, anteriormente denominada Palmae. É uma palmeira arborescente perene, frutífera, nativa de florestas tropicais, tipicamente brasileira e com ampla distribuição geográfica. No Brasil ocorre nos estados do Ceará, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e por toda região Sul (CLEMENT *et al.* 2005).

A frutificação ocorre ao longo de todo o ano e os frutos amadurecem preferencialmente entre os meses de setembro e janeiro. São produzidos em média 60 frutos por inflorescência, possuem formato globoso, textura lisa, com 2,5 a 5,0 cm de diâmetro, apresentam coloração marron-amarelada (NUCCI, 2007). O fruto maduro é composto de um epicarpo (casca externa), um mesocarpo oleoso e fibroso (polpa), um endocarpo (castanha) e uma ou duas amêndoas oleosas na região mais interna (SILVA & ANDRADE, 2014).

### ***3.2.1 Potencial da macaúba para produção de biodiesel***

Segundo Nucci (2007), a característica mais promissora da macaúba é a capacidade de produção de óleo vegetal, com possibilidade para produzir quatro mil litros por hectare por ano, visto que por meio de plantios racionais e de programas de melhoramento, esse valor pode aumentar notavelmente, oferecendo potencial para produção de biodiesel, proporcionando vantagens ambientais, econômicas e sociais.

Durante a produção do biodiesel, há o processo de extração do óleo, que, são obtidos dois tipos na macaúba: o da polpa, que é de coloração vermelho-amarelado e rico em

ácido oleico e palmítico e aproveitado para a produção de biodiesel ou na indústria de cosméticos; e o óleo da amêndoa, mais fino e transparente, representa em torno de 15% do total de óleo da planta, rico em ácido láurico e oleico: é mais nobre, podendo ser utilizado na indústria alimentícia e também em produtos de cosméticos (CESAR *et al.*, 2015).

Apesar de possuir um potencial menor comparado ao da soja na produção de óleo em kg/L, a macaúba desponta pela produtividade de biomassa por hectare/ano, que pode ultrapassar 30 toneladas. Além disso, caracteriza-se como uma palmeira rústica, com alta tolerância ao estresse hídrico, tendo aptidão de concorrer também com outras oleaginosas, como exemplo, a palma ou dendê. Estudos indicam como matéria-prima alternativa, em ordem crescente de produção por hectare/ano, algodão (250 L), soja (400 L), girassol (800 L), mamona (1.200 L), babaçu (1.600 L), pequi (3.100 L), macaúba (4.000 L) e dendê (5.950 L). As culturas anuais permitem menor produção de biodiesel por unidade de área, ao se considerar apenas um ciclo, variando de 160 a 800 L/ha (UDAETA *et al.*, 2017).

### 3.2.1.1 Torta de Macaúba

No processo de obtenção do óleo vegetal através de prensagem hidráulica, são produzidas grandes quantidades de biomassa residual da macaúba, com capacidade de gerar mais de 500 g/kg do material processado (SANTOS *et al.*, 2015). Essa biomassa residual recebe a nomeação de torta de macaúba, caracterizada como coproduto do biodiesel muito energético, com razoável teor proteico. Análises químicas preliminares foram realizadas por Barreto (2008), onde encontrou-se teores de matéria seca de 87,8%, cinzas com 5,3%, proteína bruta de 7,5%, extrato etéreo de 12,8% e fibra em detergente neutro e detergente ácido de 62,7 e 46,9%, respectivamente.

Entretanto, o alto nível de extrato etéreo presente nessas tortas demanda a realização de estudos, para que se possa utilizar esse resíduo na alimentação animal. Oleaginosas geralmente são ricas em proteínas, contudo, este fato isolado não categoriza que o alimento seja uma boa fonte proteica. Em ruminantes, deve-se ainda determinar níveis máximos de óleo suplementar na dieta, os quais devem ser respeitados para se evitar a influência negativa da sua ingestão em excesso no metabolismo animal (BOMFIM *et al.*, 2009).

Entre outras vantagens, a torta de macaúba apresenta vantagem competitiva, comparada entre às tortas de outras culturas oleaginosas produtoras de biodiesel, por não

sofrer influência direta dos preços, da mesma forma que ocorre oscilação nos valores de tortas oriundas de outras culturas, como exemplo, soja, algodão e amendoim (COCAL, 2007).

### 3.3 Crambe

O crambe (*Crambe abyssinica* H.) é uma oleaginosa pertencente à família Brassicaceae, originária da Etiópia, país africano de clima quente e seco, e domesticado na Europa, na região do Mediterrâneo. A cultura é herbácea com altura entre 70 e 90 cm, possui ciclo anual curto em torno de 90 dias, suas flores são brancas, numerosas e pequenas, o grão é pequeno, redondo, revestido com uma casca cinza (SOUZA *et al.*, 2009; RUAS *et al.*, 2010). O crambe é cultivado na África, Ásia, Europa, Estados Unidos, México e América do Sul, como cultura para cobertura do solo. Nas regiões centro-oeste e sudeste o crambe pode ser cultivado como cultura de “safrinha”, no período de fevereiro a abril, após as culturas de verão, em especial para produtores de soja e de milho, no sistema de rotação de culturas (FUNDAÇÃO MS, 2009).

É uma cultura tolerante à baixa disponibilidade de água, ao frio, exceto após a germinação e no florescimento, que a ocorrência de geadas causa abortamento das flores. Apresenta baixo custo de produção, pouca incidência de pragas, boa produção de grãos, além de não exigir novas máquinas ou equipamentos para seu cultivo, em virtude de sua rápida adaptação do plantio (PITOL *et al.*, 2008). Apresenta produtividade que pode variar de 1.000 a 1.500 kg/ha, o teor de extração de óleo é em média de 36% a 38%, (MENDONÇA *et al.*, 2014).

#### 3.3.1 Potencial do crambe para produção de biodiesel

A cultura do crambe é muito promissora para produção de biocombustíveis, mais especificamente o biodiesel, a produtividade dos seus grãos é em torno de 1.000 a 1.500 kg/ha, apresentando potencial de aproximadamente 450 kg de óleo/ha (PITOL *et al.*, 2010), apresenta como vantagem a precocidade e rusticidade de produção.

Segundo Colodetti *et al.* (2012) o óleo extraído pelos grãos da cultura de crambe não é comestível, porém possui grande utilidade para matéria-prima industrial (lubrificante, inibidor da corrosão, para a produção de borracha sintética, plástico e biodiesel). Possui em sua constituição em torno de 60% de ácido erúico, que pode provocar lesões cardíacas

quando ingeridos. Dessa forma, esse óleo não concorre com óleos destinados ao setor alimentício.

### 3.3.1.1 Farelo de Crambe

O farelo de crambe é um coproduto da cadeia produtiva do biodiesel, obtido através da extração com solvente, o que é mais eficiente na remoção do óleo. Ele possui teor proteico elevado, próximo de 40%, caracterizando-o como grande potencial na utilização na alimentação de ruminantes em substituição às fontes tradicionais, como farelo de soja e algodão, dentre outros (TRIPATHI & MISHRA, 2007; PITOL *et al.*, 2010). Evidências comprovadas por Souza *et al.* (2010), em que a concentração do teor proteico no farelo de crambe seja em torno de 33% e redução do extrato etéreo para 1,99%, indica que esse coproduto do biodiesel seja de maior interesse na alimentação de ruminantes.

Contudo, o farelo de crambe deve ser estudado mais detalhadamente, a fim de averiguar a presença de fatores antinutricionais, principalmente os glicosinolatos, que pode representar limitação para seu uso na alimentação animal se usado por muito tempo e em grandes quantidades (FUNDAÇÃO MS, 2008).

Os glicosinolatos são produtos secundários do metabolismo de plantas pertencentes ao gênero *Brassica* família *Brassicaceae* (brassicáceas), exercem diversas funções na planta, como defesa contra patógenos, metabolismo do enxofre e nitrogênio e regulação do crescimento. Além de assumir papel importante na defesa da planta contra os efeitos do estresse gerado por condições climáticas extremas de temperatura e pressão (BLAZEVIC & MASTELIC, 2008). Em dietas para ruminantes, os glicosinolatos podem ser degradados pelos microrganismos ruminais, tendo, portanto, menor efeito nos ruminantes em relação aos animais não ruminantes. Porém, a ingestão de glicosinolatos por muito tempo pode elevar os níveis plasmáticos de tiocianatos e a redução da tirosina plasmática, ocasionando redução no consumo e comprometendo o desempenho dos animais (TRIPATHI *et al.*, 2001).

Entretanto, pesquisadores norte americanos observaram que a substituição integral do farelo de soja pelo farelo de crambe *in natura* (10% de inclusão na dieta), com teor de glicosinolatos de 56 mmol/kg de MS ou 22 g de equivalente sirigin/kg de MS – peso molecular do sirigin de 397 não afetaram o crescimento e características de carcaça de bovinos, bem como o desempenho reprodutivo e função da tireoide em vacas de corte gestantes e não lactantes (ANDERSON *et al.*, 1993; ANDERSON *et al.*, 2000).

### 3.4 Estacionalidade

A produção de ruminantes no Brasil destaca-se principalmente pela utilização de pastagens, como base da alimentação do rebanho, sobretudo por representar menor custo. Com isso, demanda-se rendimento forrageiro de qualidade durante todo o ano, para obter produção satisfatória. Entretanto, no sistema de criação de animais em pastejo, essa produção forrageira é desuniforme, visto que no período seco do ano ocorre baixo potencial de ganho de peso, devido à escassez de chuvas que conseqüentemente afetam a qualidade e quantidade de forragem limitando a produção animal (REIS *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2014).

A estacionalidade da produção forrageira ocorre com a maior parte das espécies tropicais, principalmente em decorrência de fatores climáticos, como a predominância de longos períodos com baixa intensidade de chuvas combinada ao fotoperíodo mais curto e às baixas temperaturas durante os meses de maio a setembro (VITOR *et al.*, 2009).

A pequena disponibilidade e o baixo valor nutritivo das forragens durante o período seco no Brasil proporcionam uma baixa produtividade das pecuárias de leite e corte, sendo a conservação do excesso de forragem produzida durante o período chuvoso uma prática extremamente necessária. Dessa forma, a ensilagem constitui um dos métodos mais importante de conservação de forragens com o objetivo de suplementar a dieta de animais durante períodos de escassez (EVANGELISTA *et al.*, 2005).

### 3.5 Ensilagem

A ensilagem é uma prática que se baseia em conservar forragens através de fermentação anaeróbica, após seu corte, trituração, compactação e vedação dos silos. O produto obtido após essa fermentação é denominado silagem. É conseguido pela ação de microrganismos sobre os carboidratos solúveis contido nas plantas com a produção de ácidos, ocasionando queda de pH até valores próximos de quatro (NEUMANN *et al.*, 2010).

A conservação das forragens, através da ensilagem é decorrente da produção de ácidos orgânicos, com maior importância o ácido láctico, a partir de carboidratos solúveis, promovendo redução do pH, conseqüentemente inibindo o desenvolvimento de microrganismos deletérios indesejáveis. Dessa forma, demandam boa compactação e vedação dos silos, para promoção da anaerobiose (MCDONALD, 1981; FERREIRA *et al.*, 2014).

Contudo, o processo de ensilagem não consiste em melhoria da composição química das forragens, mas objetiva mantê-la estável por um longo período de tempo. Dessa

forma nota-se a importância de que o material ensilado seja de boa qualidade (MCDONALD & HENDERSON, 1981).

A ensilagem consiste na fermentação do material ensilado, no qual é visualizado as seguintes fases: fase I (aeróbica), caracterizada pela presença de oxigênio decorrente do enchimento dos silos até poucas horas após o fechamento dos mesmos. Há atividade de microrganismos aeróbicos (fungos e bactérias). A ação microbiana, concomitantemente ao processo respiratório da planta, ocasiona a redução do oxigênio. Fase II (anaeróbica), identificada pelo esgotamento do oxigênio, na qual há a redução do pH da silagem com a formação de ácidos orgânicos, a partir de carboidratos solúveis. Fase III (estabilidade), reconhecida pela estabilização do material ensilado, por último a fase IV (descarga), ocorre por ocasião da abertura do silo, e a exposição de elevadas concentrações de O<sub>2</sub>, normalmente favorece o crescimento de fungos filamentosos e leveduriformes. É chamada de estabilidade aeróbia, a propriedade de inibição da proliferação desses microrganismos, após o contato com o O<sub>2</sub>. (SANTOS & ZANINE, 2006).

Além disso, a qualidade da silagem está associada à eficiência do processo fermentativo com a finalidade de preservação do valor nutritivo do material ensilado. Dentre os mais relevantes indicadores para avaliar o processo fermentativo, encontra-se as características químicas, como teor de MS, valor de pH e conteúdo de nitrogênio amoniacal e os conteúdos de ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação (TOMICH *et al.*, 2003).

### 3.6 Capim-elefante

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma gramínea forrageira originária do continente Africano, se difundiu por diversos países, sendo encontrado em regiões tropicais e subtropicais (BOGDAN, 1977). Destaca-se na alimentação de ruminantes, dentre as demais gramíneas, o que pode ser justificada esta aplicabilidade por ter alto potencial produtivo de matéria seca, alto valor nutritivo e boa aceitabilidade pelos animais (LIMA *et al.*, 2010).

Considerada uma espécie perene, cespitosa, formando densas touceiras, podendo-se atingir mais de cinco metros, devido à sua rusticidade adapta-se a diversas condições de solo e clima (RODRIGUES *et al.*, 1975). Apontada como espécie de alta eficiência fotossintética, ou seja, entre aquelas que apresentam melhor aproveitamento da energia radiante, na fixação de CO<sub>2</sub> atmosférico e sua conversão em biomassa (CARVALHO *et al.*, 1997), típico de gramíneas tropicais que crescem rapidamente e otimizam o uso da água, do

solo e da energia solar (LEMUS *et al.*, 2002), potencializando a capacidade de acumulação de matéria seca.

A forrageira tem uma grande versatilidade de aplicação, possui boa aceitação pelos animais, sendo amplamente utilizado na alimentação de rebanhos (FERREIRA *et al.*, 2011). A principal utilização se dá por meio de capineiras e, mais recentemente, pastejo. Como capineira, devido à sua alta produtividade, geralmente, não necessita de grandes áreas. Seu excedente pode ser, porém, conservado através do processo de ensilagem (LIMA *et al.*, 2010).

O capim-elefante é um dos capins mais utilizados como silagem, caracterizado principalmente por alta capacidade de produção de biomassa e bom valor nutritivo (CARDOSO *et al.*, 2016). Por outro lado, esta vem ganhando espaço na produção de biocombustíveis, sob a forma de carvão vegetal, álcool, metano ou mesmo para queima direta, devido ao alto nível de energia positiva (LIMA *et al.*, 2011; MORAIS *et al.*, 2012).

### ***3.6.1 Potencial do capim-elefante para ensilagem***

O capim-elefante tem sido muito utilizado nos processos de ensilagem, por ter alto potencial produtivo por área cultivada e quantidades razoáveis de carboidratos solúveis (RÊGO *et al.*, 2010). Além disso, é uma espécie perene, abstendo-se de custos anuais com implantação desta cultura e pela facilidade de adaptação às diversas condições edafoclimáticas.

Contudo, a composição química e a digestibilidade desta forrageira é influenciada pelo estágio de crescimento, o que evidencia a importância da colheita ser realizada em estágio imaturo da cultura, com a finalidade de maximizar a porção solúvel da célula e a digestibilidade da fibra (HARRISON *et al.*, 1994). Dessa forma, deve-se considerar o alto teor de umidade desta gramínea, que se dá no momento ideal para o corte, que é recomendado quando jovem, representando um obstáculo para a conservação desta forrageira na forma de silagem, o que pode acarretar fermentações indesejáveis, com consideráveis perdas de nutrientes (ZANINE *et al.*, 2007).

Assim, torna-se necessário a adoção de estratégias que possam elevar o teor de matéria seca da forragem para níveis satisfatórios, do ponto de vista da fermentação, no interior do silo. Podendo-se citar algumas possíveis técnicas, como o emurchecimento e inclusão de aditivos nutritivos e absorventes de umidade (OLIVEIRA, *et al.*, 2012).

Cardoso *et al.* (2016) avaliaram silagens de capim-elefante adicionadas com diferentes níveis de inclusão de farelo de crambe e variadas massas específicas, verificaram que este aditivo contribuiu de forma positiva para incrementar o perfil fermentativo e a composição bromatológica. Outro trabalho realizado com silagem de capim-elefante com adição de raspa de mandioca com diferentes níveis de inclusão também resultou em melhoria do perfil fermentativo das silagens e reduziu as perdas por gases e por efluentes (ZANINE *et al.*, 2010).

A técnica de emurchecimento foi proposta por Carvalho *et al.* (2008), no qual averiguaram o potencial do capim-elefante para ensilagem. Todavia, este apresentou elevada umidade, o que justificou sua exposição ao sol por 8 horas, proporcionando acréscimo no teor de matéria seca, favorecendo a produção de silagem com boas características fermentativas, contudo, a execução dessa técnica é difícil, pois é dependente de diversos fatores, como exemplo, os climáticos.

### **3.6.2 Aditivos na ensilagem de capim-elefante**

Definição de aditivo, é reportado por McDonald *et al.* (1991), como qualquer material adicionado à forragem no momento do processo da ensilagem, apresentando as seguintes funções: a) estimular ou inibir a fermentação; b) inibir a deterioração aeróbica; c) nutrientes – para melhorar o valor nutritivo da silagem e d) absorventes – para reduzir perdas de nutrientes por efluentes.

Os baixos teores de nutrientes, apresentados pelas forrageiras tropicais (gramíneas perenes e anuais) ou demais espécies utilizadas para obtenção da silagem, e os problemas ocasionados durante os processos de fermentação apresentados pelas mesmas, tem levado a vários estudos direcionados ao desenvolvimento e uso de aditivos nos processos de ensilagem dessas forrageiras, com intuito de melhorar seus atributos fermentativos e garantir a produção de silagem de qualidade. Porto *et al.* (2006) relatam que o uso de aditivos tem a finalidade de melhorar a qualidade e a conservação das silagens, modulando sua fermentação ou agregando maior valor nutritivo.

Aditivos podem ser empregados com a finalidade de solucionar a adversidade do excesso de umidade presente nas forrageiras e adicionalmente melhorar a qualidade nutritiva da silagem. E devem conter alto teor de matéria seca, boa capacidade de retenção de água, ser fonte de carboidratos para fermentação, apresentar boa aceitabilidade pelos animais (ZANINE

*et al.*, 2010). Além disso, deve-se avaliar a facilidade de manipulação, disponibilidade e o custo de aquisição, na escolha destes aditivos (ANDRADE *et al.*, 2012).

Desta forma, o excesso de umidade nas espécies forrageiras destinadas à produção de silagem, tem despertado grande interesse por parte dos pesquisadores. Diversos trabalhos vêm sendo conduzidos com o propósito de averiguar respostas de silagens de capim-elefante com adição de material que possua elevados teores de matéria seca, como exemplo, a utilização de farelo de cacau (CARVALHO *et al.*, 2008), subproduto do urucum (RÊGO *et al.*, 2010), raspa de mandioca (ZANINE *et al.*, 2010), casca de café, farelo de cacau e farelo de mandioca (PIRES *et al.*, 2009), cana-de-açúcar, casca de soja, farelo de arroz e fubá de milho (MONTEIRO *et al.*, 2011) e farelo de crambe (CARDOSO *et al.*, 2016).

### **3.7 Perdas por gases e por efluentes associadas ao teor de matéria seca da forragem**

No interior dos silos, ambientes úmidos, com elevado pH e alta temperatura, favorecem o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, o que acarreta as perdas por gases, pois produzem CO<sub>2</sub> e ácido butírico, em vez de ácido láctico. Além disso, o poder tampão das silagens de capim proporciona o desenvolvimento de enterobactérias, que são produtoras de gases, tais como CO<sub>2</sub>, além de etanol, ácido acético e amônia (ZANINE *et al.*, 2010). As perdas por gases podem ocorrer também quando ocorre produção de etanol nas silagens, sendo esse tipo de fermentação promovido por bactérias heterofermentativas, enterobactérias e por leveduras (BALSALOBRE *et al.*, 2001).

As perdas que ocorrem durante o processo fermentativo e o crescimento de bactérias indesejáveis são inibidas pela maior taxa de produção de ácido láctico (MCDONALD; HENDERSON, 1981). As perdas por gases estão associadas ao tipo de fermentação que ocorre no interior do silo. Quando a fermentação ocorre pelas bactérias homofermentativas, utilizando glicose como substrato, as perdas são mínimas (BALSALOBRE *et al.*, 2001).

Baixo teor de matéria seca das forrageiras a serem ensiladas pode resultar também em perdas por efluentes e desencadear o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, devido ao excesso de umidade do material, o que proporciona fermentações secundárias indesejáveis, promovendo a formação de ácido butírico, o qual caracteriza silagem de baixa qualidade, com perda de nutrientes através da lixiviação destes pela elevada quantidade de efluente produzido, além das perdas por gases (NEGRÃO *et al.*, 2016). E, quando há a

formação do ácido butírico, ocorre concomitantemente degradação da proteína e de ácido láctico (MCDONALD & HENDERSON, 1981).

De acordo com Andrade *et al.* (2010) a redução das perdas por efluentes diminui as perdas de nutrientes (carboidratos, proteína bruta e minerais) por percolação junto ao efluente produzido durante o processo de ensilagem. As perdas por efluentes podem ser amenizadas utilizando forragens com maior teor de matéria seca ou misturando materiais mais secos às mais úmidas no momento da ensilagem, com o uso de aditivos absorventes de umidade (NUSSIO *et al.*, 2002).

O índice de recuperação de matéria seca é altamente afetado pelas perdas por gases e por efluentes no material ensilado, determinado em função dessas duas variáveis, sendo inversamente proporcional, ou seja, nos tratamentos com maiores perdas por produção de gases e por efluentes, o índice de recuperação de matéria seca é menor (PACHECO *et al.*, 2014).

### **3.8 População microbiana**

A ocorrência natural de microrganismos durante o processo de ensilagem é chamada de microflora epífita, que é imprescindível para que haja a fermentação e, conseqüentemente, a conservação do material ensilado. A população de microrganismos presentes é variável conforme diversos fatores, como estágio de maturidade da planta, tamanho da partícula da forragem, compactação, vedação dos silos, acondicionamento do material, teor de carboidratos solúveis e de matéria seca, entre outros (LIN *et al.*, 1992; FERREIRA *et al.*, 2013).

Todavia, a microflora epífita pode ser dividida em dois grupos mais relevantes: os desejáveis e os indesejáveis, os primeiros são representados pelas bactérias ácido lácticas e os últimos, principalmente pelas bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Listeria* e *Bacillus*, as enterobactérias e os fungos filamentosos e leveduriformes, causadores da deterioração aeróbica e anaeróbica do material ensilado.

Após a obtenção da condição de anaerobiose dentro do silo, a inibição do crescimento da população microbiana indesejável é extremamente importante, principalmente para evitar que prevaleçam competição por substrato com as bactérias ácido lácticas (MCDONALD *et al.*, 1991). A predominância dessas bactérias deve sobressair nas condições anaeróbicas, para que as plantas forrageiras possam ser conservadas como silagem,

permitindo adequada fermentação, com queda do pH no material ensilado (FERREIRA *et al.*, 2013).

### 3.8.1 Bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido lácticas fermentam açúcares em ácido lático. Por essa razão, são os microrganismos mais importantes para a conservação da forragem. Esses açúcares são os principais substratos utilizados pela população microbiana para a conversão em ácidos orgânicos. Como resultado, há queda do pH e, conseqüentemente, a preservação do material ensilado (BOLSEN, 1995). Estas são gram-positivas, não possuem mobilidade nem há produção de esporos, são catalase negativas.

Há obtenção do ácido lático através da fermentação. Porém, alguns grupos geram quantidade considerável de CO<sub>2</sub>, etanol e outros metabólitos, sendo estas denominadas de heterofermentativas (SANTOS & ZANINE, 2006).

Dessa forma, os gêneros dos microrganismos mais relevantes de bactérias ácido lácticas são: *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Leuconostoc* sp., e *Streptococcus* sp. Estes são classificados em duas categorias em homo e heterofermentativas, as principais espécies homofermentativas são *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus* sp. e *L. acidophilus*, as heterofermentativas as *Leuconostoc* sp, *L. brevis*, *L. buchneri* (MCDONALD *et al.*, 1991).

Vale ressaltar que, há a necessidade da presença de bactérias ácido lácticas homofermentativas no interior dos silos, por proporcionarem maior eficiência na produção de ácido lático, maior rapidez na acidificação, obtendo como resultado menor pH final, além de redução da taxa de degradação proteica nas silagens (WEINBERG & MUCK, 1996).

Todavia, bactérias heterofermentativas utilizam ácido lático e glicose como substrato para produção de ácido acético e propiônico, os quais são efetivos no controle de fungos, sob baixo pH (ZOPOLLATTO *et al.*, 2009). Essas bactérias apresentam, além da produção do ácido lático, etanol, ácidos acéticos e propiônicos adicionados ao CO<sub>2</sub>, como produtos finais da fermentação (MCDONALD *et al.*, 1991).

Conforme Ferreira *et al.* (2013), a fermentação láctica deve predominar nas condições anaeróbicas, para que as forragens possam ser conservadas como silagem. Por sua vez, vários fatores podem interferir na qualidade da fermentação, incluindo microrganismos que levam à fermentação secundária, teor de carboidratos solúveis e matéria seca, compactação e fechamento do silo.

### 3.8.2 *Enterobactérias*

As enterobactérias são microrganismos gram-negativos não formadores de esporos e anaeróbios facultativos, fermentadores de carboidrato, competem com as bactérias ácido lácticas pelos açúcares no início do processo fermentativo, no qual produzem ácido acético como produto final (MCDONALD *et al.*, 1991). Por sua vez, as espécies encontradas em gramíneas frescas, destacam-se a *Erwinia herbícola* e *Rahnella aquitilis*. Contudo, a ensilagem, é sucedida por *Hafnia alvei* e, posteriormente, por *Escherichia coli* e *Serratia fonticola* (OSTLING & LINDGREN, 1995).

O crescimento dessa população microbiana está diretamente relacionado com a presença de oxigênio: seu desenvolvimento ocorre nos primeiros dias de ensilagem, no qual consomem o oxigênio presente, mas decresce rapidamente com a acidificação do meio, sendo inibidas pelas bactérias ácido lácticas, com rápida queda do pH (MCDONALD *et al.*, 1991). Porém, sua presença pode ser retornada após a abertura dos silos, através do consumo dos ácidos láctico e acético, se as condições de anaerobiose não tiverem sido alcançadas adequadamente. OSTLING & LINDGREN (1995) relataram que a existência de enterobactérias, por sua vez, pode tornar a silagem mais estável, na fase aeróbia, através da produção de alguns compostos durante a fermentação, levando à inibição de leveduras durante a exposição aeróbica. As enterobactérias podem produzir nitrito e óxido nítrico, que são compostos inibidores de *Clostridium* (ARCURI *et al.*, 2003).

As enterobactérias são capazes de degradar proteínas, que ocasionam queda no valor nutricional da silagem, proporcionam a produção de aminas e ácidos graxos ramificados, representando efeito negativo na aceitabilidade da forragem pelo animal. Em decorrência da proteólise, há formação de amônia, que propicia o aumento na capacidade tampão do material ensilado, atrasando a redução rápida do pH da silagem (MCDONALD *et al.*, 1991).

### 3.8.3 *Fungos leveduriformes*

Os fungos leveduriformes são microrganismos eucariotos, anaeróbios facultativos e heterótrofos. Fermentam açúcar em etanol e CO<sub>2</sub>; o etanol residual na silagem proporciona recusa de consumo pelo animal (RANDBY *et al.*, 1998). Entretanto, a maioria dos fungos necessitam de oxigênio para seu crescimento. Existem alguns grupos que se desenvolvem em condições de anaerobiose, como os fungos leveduriformes, podendo existir elevadas

populações nessas condições através da fermentação alcoólica dos açúcares ( $1 \text{ glicose} > 2 \text{ etanol} + 2 \text{ CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ), que acarreta perdas de matéria seca e energia (JOBIM & GONÇALVES, 2003). Além de estarem relacionadas à deterioração aeróbica da silagem, são indesejáveis por competirem com as bactérias ácido lácticas pelas hexoses (ARCURI *et al.*, 2003).

Contudo, as espécies encontradas em forragem fresca não são fermentativas, incluindo as dos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Candida* e *Hansenula*. As espécies aeróbicas são substituídas pelas leveduras fermentativas, após prevalecer o ambiente anaeróbico dentro dos silos, cujos principais gêneros são: *Torulopsis* e *Saccharomyces*. Todavia, caso ocorra presença de ar dentro do silo durante o processo de fermentação, as leveduras fermentadoras de lactato dominam (*Candida* e *Hansenula*), mas se às condições anaeróbicas sobressaírem, estas espécies serão reduzidas a 15% do total e permanecerão as *Saccharomyces*, que embora fermentativas não usam o lactato (WOOLFORD, 1990).

Posteriormente à abertura dos silos, há o desenvolvimento dos principais microrganismos deterioradores da silagem, quando esta é exposta ao ar, especialmente os fungos leveduriformes. É o estágio em que os carboidratos solúveis residuais e os ácidos orgânicos da silagem são metabolizados a  $\text{CO}_2$  e água, com conseqüente produção de calor. Dessa forma, Borreani *et al.* (2008), correlacionaram a degradação aeróbia de silagens à elevação de sua temperatura, decorrente da liberação de calor pela atividade respiratória microbiana como também pela fermentação (metabolismo) da massa microbiana.

Por outro lado, essa degradação de ácido láctico a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , pode promover um aumento de pH da silagem, possibilitando o retorno da atividade de outros microrganismos deteriorantes. Dessa forma, os mais relevantes produtos formados da fermentação destes microrganismos são o etanol, o  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , mas menores quantidades de outros álcoois e ácidos orgânicos (acetato, propionato e butirato) e lactato podem ser produzidos anaerobicamente. Contudo, os fungos leveduriformes não são inibidos pelo pH das silagens, podendo ser encontradas com valores variando de 3,0 a 8,0 (MCDONALD *et al.*, 1991).

#### **3.8.4 Fungos filamentosos**

Os fungos são microrganismos eucariotos, os esporos dos fungos filamentosos estão associados com lesões pulmonares e reações alérgicas, além de outros problemas de saúde associados com as micotoxinas, que podem ser produzidas por estes fungos.

Os fungos filamentosos que se desenvolvem na silagem onde há fluxo de ar, são principalmente as espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Podem causar danos aos animais, que se alimentam da silagem, em razão da micotoxina que os fungos produzem, especialmente relacionados com os *Aspergillus glaucus* e *Aspergillus fumigatus*. Além disso, são prejudiciais para as pessoas que manuseiam o material contendo fungos filamentosos (MAHANNA, 1994 *apud* LOPES, 2006).

Em condições aeróbicas, os fungos filamentosos metabolizam os açúcares residuais ou os ácidos orgânicos formados, ocasionando a elevação do pH do material ensilado. Ademais, a população microbiana pode degradar proteína com a formação de amônia, que tem ação tamponante, conseqüentemente, dificultando a redução do pH do meio (JOBIM & GONÇALVES, 2003).

Por sua vez, em silagens com compactação e vedação adequadas, os fungos filamentosos podem ser encontrados em pequenas quantidades, relacionados apenas nas regiões que estejam propícias à exposição ao ar, como por exemplo, no descarregamento e por furo da lona, como nas laterais e superfície superior (ARCURI *et al.*, 2003). Todavia, esses fungos não são significativos em relação à fermentação da silagem, mas contribuem para as perdas de matéria seca na superfície do silo durante o descarregamento e em casos de compactação e vedação inadequados (JOBIM & GONÇALVES, 2003).

### 3.8.5 *Clostrídios*

As bactérias do gênero *Clostridium* são gram-positivas, anaeróbias estritas e formadoras de endósporos, exercem efeito negativo na qualidade da silagem, principalmente se o pH não for suficientemente baixo para inibir o seu crescimento. Essa população microbiana fermenta açúcares, ácido lático e aminoácidos com a produção de ácido butírico e aminas, o que resulta em perdas de matéria seca, odor desagradável reduzindo assim a aceitabilidade pelo animal e diminuição da estabilidade aeróbia da silagem (MAHANNA, 1994 *apud* LOPES, 2006).

Além disso, *Clostridium botulinum* pode multiplicar em vegetais que se encontram em decomposição, nos quais sintetizam uma neurotoxina que leva à doença quando ingerida. O botulismo é definido como uma intoxicação causada pela ingestão ou absorção, por parte da mucosa intestinal, de toxina botulínica, o que resulta em quadro de paralisia motora progressiva, levando o animal à morte (DUTRA, 2011).

Durante a colheita das plantas, a cultura é impregnada com partículas de solo e, a contaminação com esporos de clostrídios na forragem torna-se inevitável, sendo transportados para o silo. O desenvolvimento desses microrganismos na silagem durante a fermentação está relacionado à lenta e insuficiente acidificação do meio, que é atribuída ao excesso de água da forragem, à insuficiência em açúcares fermentescíveis e à considerável concentração de nitrogênio na planta (PAHLOW *et al.*, 2003).

### **3.9 Ácidos orgânicos, pH e nitrogênio amoniacal**

Os ácidos orgânicos são produtos obtidos durante o processo fermentativo do material ensilado. Podendo citar os seguintes ácidos: láctico, acético, butírico, isobutírico, propiônico, valérico, isovalérico, succínico, fórmico. Contudo, os mais importantes na avaliação da qualidade das silagens, encontram-se o láctico, o acético e o butírico (MCDONALD *et al.*, 1991). Por sua vez, o ácido láctico é o principal responsável pelo abaixamento do pH mais rapidamente, por se tratar de um ácido mais forte que o acético, além de proteger o nitrato e outros aminoácidos citados anteriormente do ataque dos clostrídios. Dessa forma, McDonald (1981), relata que um teor mínimo de 3% de ácido láctico é indicativo de silagem de boa qualidade.

De acordo com Woolford (1984) e McDonald *et al.* (1991), o pH, juntamente com a concentração de ácidos orgânicos e de nitrogênio amoniacal, são parâmetros comumente empregados na qualificação da ensilagem. Valores de pH entre 3,8 a 4,2 são esperados para uma silagem bem conservada.

O ácido acético, tal como o ácido butírico, estão associados a menores taxas de decréscimo de pH, ou seja, são obtidos no meio em que possuem maiores valores finais de pH. A obtenção do ácido acético corresponde principalmente à ação de enterobactérias e bactérias ácido lácticas heterofermentativas, mas em menor proporção. Estes afetam negativamente a redução do pH, além de acarretarem maiores perdas de matéria seca e energia do material ensilado, através das fermentações promovidas por esses microrganismos mencionados anteriormente (MUCK & BOLSEN, 1991).

Por sua vez, o ácido butírico refere-se à atividade clostridiana sobre o material ensilado, o conteúdo desse ácido também está associado a indicadores negativos da qualidade da silagem, representando perdas de matéria seca e energia da forragem original durante a fermentação e está relacionado à redução da aceitabilidade e do consumo do alimento pelos animais (FISHER & BURNS, 1987).

Ferreira (2001), mencionou que alimentos conservados na forma de silagens devem ter valores de pH inferiores a 4,2 e teores de ácidos lático, acético e propiônico entre 6 a 8%, menor que 3% e de 0 a 1% da MS, respectivamente, para garantir um processo de fermentação adequado e teor de ácido butírico menor que 0,1% de acordo com compilação de dados realizada por Vieira *et al.* (2004).

A amônia ( $\text{NH}_3$ ) é considerada também indicadora de qualidade das silagens. Ela pode ser produzida pela hidrólise de proteínas pelas proteases vegetais e também pelos clostrídios, que podem causar fermentação secundária, degradando aminoácidos a aminas e amônia (Bolsen, 1995). A quantidade desta durante a ensilagem de muitas gramíneas é razoavelmente explicada pelo nitrogênio total e pelo teor de MS da cultura, aumentando com a elevação do teor de nitrogênio total e diminuindo com o aumento do teor de MS (Muck, 1996).

O conteúdo de amônia das silagens, expresso como porcentagem do nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total ( $\text{N-NH}_3/\text{NT}$ ), é amplamente utilizado na avaliação de silagens. Juntamente com o valor de pH, fornece indicação da forma que se processou a fermentação. Um baixo teor de  $\text{N-NH}_3$  na silagem, inferior a 10% do nitrogênio total, indica que o processo de fermentação não resultou em quebra excessiva da proteína em amônia, e os aminoácidos constituem a maior parte do nitrogênio não proteico. Ao contrário, um teor de  $\text{N-NH}_3$  superior a 15% do nitrogênio total significa que a quebra de proteínas foi considerável, e tais silagens podem ser menos aceitas pelos animais, resultando em baixo consumo (Van Soest, 1994).



## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, A. de A.; EDUARDO, J. L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p.260-258, 2008.
- ANDERSON, V. L.; SLANGER, W. D. B.; BERG, P. T. Crambe meal is equivalent to soybean meal for backgrounding and finishing beef steers. **Journal Animal Science**, v. 71, p.2608-2613, 1993.
- ANDERSON, V. L.; CATON, J. S. KIRSCH, J. D.; REDMER, D. A. Effect of crambe meal on performance, reproduction, and thyroid hormone levels in gestating and lactating beef cows. **Journal Animal Science**, v. 78, p.2269-2274, 2000.
- ANDRADE, I. V. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P. de; VELOSO, C. M.; BONOMO, P. Perdas, características fermentativas e valor nutritivo da silagem de capim-elefante contendo subprodutos agrícolas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p.2578-2588, 2010.
- ANDRADE, P. A.; QUADROS, D. G. de; BEZERRA, A. R. G.; ALMEIDA, J. A. R.; SILVA, P. H. S.; ARAÚJO, J. A. M. Aspectos qualitativos da silagem de capim-elefante com fubá de milho e casca de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, p.1209-1218, 2012.
- ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis/biodiesel>. Acesso em: 26 de junho de 2017.
- ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/noticias/4333-percentual-obrigatorio-de-biodiesel-passa-para10>. Acesso em 04 de julho de 2018.
- ARCURI, P. B.; CARNEIRO, J. C.; LOPES, F. C. F. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al.. (Org.). *Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens*. 1ª ed. Jaboticabal: 2003, p.51-69.
- AZEVEDO, J. C. de; ARAUJO, S. A. do C.; ROCHA, N. S.; CARDOSO, A. M.; PANTOJA, L. de A.; FATURI, C.; DOMINGUES, F. N. Fruit agribusiness waste as an additive in elephant grass silage. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p.1987-2000, 2017.
- BALSALOBRE, M. A. A.; NUSSIO, L. G.; MARTHA JÚNIOR., G. B. Controle de perdas na produção de silagens de gramíneas tropicais. In: MATTOS, W.R.S. (Ed.). *A produção animal na visão dos brasileiros*. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2001. p.890-911.
- BARRETO, S. M. P. **Avaliação dos níveis de inclusão da torta de macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart.] na alimentação de caprinos**. 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2008. Pós-Graduação em Agroecologia. Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros, 2008.

BASHA, S. A.; GOPAL, K. R.; JEBARAJ, S. A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p.1628-1634, 2009.

BIODIESELBR. 2017. Vantagens do Biodiesel. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/vantagens/vantagens-biodiesel.htm>. Acesso em 20/07/2017.

BLAZEVIC, I.; MASTELIC, J. Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, p.96-102, 2008.

BOGDAN, A.V. 1977. Tropical pastures and fodder plants. London: Logman. 475p.

BOLSEN, K. K. Silage: basic principles. In: BARNES, R. F.; MILLER, D. A.; NELSON, C. J. **Forages**. 5. ed. Ames: Iowa State University, 1995. p.163-176.

BOMFIM, M. A. D.; SILVA, M. M. C.; SANTOS, S. F. dos. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de Biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 4, p.15-26, 2009.

BONFÁ, C. S.; VILLELA, S. D. J.; CASTRO, G. H. de F.; SANTOS, R. A. do; EVANGELISTA, A. R.; PIRES NETO, O. de S. Silagem de capim-elefante adicionada de casca de abacaxi. **Revista Ceres**, v. 64, n. 2, p.176-182, 2017.

BONFÁ, C. S.; GUIMARÃES, C. G.; EVANGELISTA, A. R.; SANTOS, A. S.; PANTOJA, L. A.; CASTRO, G. H. F. Evaluation of sugarcane silages added with macaúba cake, v, 40, p.1-6, 2018.

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**, v. 37, p.68-77, 2008.

CARDOSO, A. M.; ARAUJO, S. A. D. C.; ROCHA, N. S.; DOMINGUES, F. N.; AZEVEDO, J. C. D.; PANTOJA, L. D. A. Elephant grass silage with the addition of crambe bran conjugated to different specific mass. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 4, p.375-382, 2016.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; PEREIRA, O. G.; FERNANDES, F. E. P.; CARVALHO, B. M. A. Características fermentativas de silagens de capim-elefante emurchedo ou com adição de farelo de cacau. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p.234-242, 2008.

CARVALHO, M. M.; ALVIN, M. J.; XAVIER, D. F.; CARVALHO, L. M. Capim-elefante: produção e utilização. 2.ed. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite, 1997. 219p.

CÉSAR, A. S.; ALMEIDA, F. A.; SOUZA, R. P.; SILVA, G. C.; ATBANI, A. E. The prospects of using *Acrocomia aculeate* (macaúba) a non-edible biodiesel feedstock in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p.1213-1220, 2015.

CLEMENT, C. R.; LERAS PEREZ, E.; VAN LEEUWEN, J. O potencial das palmeiras tropicais do Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. **Agro Ciências**, Montevideo, p.67-71, 2005.

COCAL-ENERGIA RESPONSÁVEL. **Cotações de farelo de macaúba**. 2007. Disponível em: <http://cocal.com.br/produtos/cotações-de-farelo-de-macauba/> Acesso em: 10 de julho de 2017.

COLODETTI, T. V.; MARTINS, L. D.; RODRIGUES, W. N.; BRINATE, V. B.; TOMAZ, M. A. Crambe: aspectos gerais da produção agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 258-269, 2012.

DUTRA, I. S. **Epidemiologia, quadro clínico e diagnóstico, pela soroneutralização em camundongos, do botulismo em bovinos no Brasil, 1989-2002**. 2011. 133 f. Tese de Livre Docência, Curso de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba. 2011.

EVANGELISTA, A. R.; ABREU, J. G. de; AMARAL, P. N. C. do. Composição bromatológica de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) aditivadas com forragem de leucena (*Leucaena leucocephala* (LAM.) DEWIT). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 2, p.429-435, 2005.

FERREIRA, D.; ZANINE, A.; SANTOS, E. M.; LANA, R.; SILVA, W. L.; SOUZA, A. L.; PEREIRA, O. G. Perfil fermentativo e valor nutritivo de silagem de capim-elefante inoculada com *Streptococcus bovis*. **Archivos de zootecnia**, v. 60, n. 232, p.1223-1228, 2011.

FERREIRA, D. de J.; LANA, R. de P.; ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; VELOSO, C. M.; RIBEIRO, G. A. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 18, n. 1, p.22-28, 2013.

FERREIRA, D. J.; ZANINE, A. M.; LANA, R. P.; RIBEIRO, M. D.; Alves, G. R.; Mantovani, H. C. Chemical composition and nutrient degradability in elephant grass silage inoculated with *Streptococcus bovis* isolated from the rumen. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p.465-474, 2014.

FERREIRA, J. J. Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e do sorgo. In: CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S. et al. (Eds.) **PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE SILAGEM DE MILHO E SORGO**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001, p.405-428.

FISHER, D. S., BURNS, J. C. Quality analysis of summer-annual forages. II. Effects of carbohydrate constituents on silage fermentation. **Agronomy Journal**, v. 79, n. 2, p.242-248, 1987.

FUNDAÇÃO MS. **Crambe (*Crambe abyssinica*) – cultivar FMS Brillhante: uma boa alternativa para produção de biodiesel**. Boletim Informativo. 2008.

FUNDAÇÃO MS. **Crambe FMS Brillhante**. Maracajú, 2009. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br/page.php?34>>. Acesso em: 05/05/2018.

HARRISON, J. H.; BLAUWIEKEL, R.; STOKES, M. R. Fermentation and utilization of grass silage. **Journal of dairy science**, v. 77, n. 10, p.3209-3235, 1994.

JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES: valor alimentício de forragens**, 2003, Joticabal. **Anais...** Joticabal: Funep, 2003, p.1-26.

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, v. 24, n. 68, p.223-253, 2010.

LIMA, E. da S.; SILVA, J. F. C. da; VÁSQUEZ, H. M.; ANDRADE, E. N. de; DEMINICIS, B. B.; MORAIS, J. P. G. de, COSTA, D. P. B. da; ARAÚJO, S. A. do C. Características agrônomicas e nutritivas das principais cultivares de capim-elefante do Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 3, p.324-334, 2010.

LIMA, R. S. N.; DAHER, R. F.; GONÇALVES, L. S. A.; ROSSI, D. A.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, M. G.; LÉDO, F. J. S. RAPD and ISSR markers in the evaluation of genetic divergence among accessions of elephant grass. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 3, p.1304-1313, 2011.

LIN, C.; BOLSEN, K. K.; BRENT, B. E.; HART, R. A.; DICKERSON, J. T.; FEYERHERM, A. M.; AIMUTIS, W. R. Epiphytic Microflora on Alfalfa and Whole-Plant Corn1. **Journal of Dairy Science**, v. 7, n. 9, p.2484-2493, 1992.

LEMUS, R.; BRUMMER, E. C.; MOORE, K. J.; MOLSTAD, N. E.; BURRAS, C. L.; BARKER, M. F. Biomass yield and quality of 20 switchgrass populations in southern Iowa, USA: **Biomass & Bioenergy**, v. 23, p.433-442, 2002.

LOPES, J. **Qualidade da silagem de cana-de-açúcar elaborada com diferentes aditivos**. 85 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, MG. 2006.

MAHANNA, B. Proper management assures high-quality feeds. **Feedstuffs**, v. 10, p.12-56, 1994.

MCDONALD, P. **The biochemistry of silage**. John Wiley & Sons. Chichester. 1981, 218 p.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R. **The biochemistry of silage**. New York: John Wiley, 1981, 226 p.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. **Biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340 p.

MENDONÇA, B. P.C.; LANA, R. de P.; DETMANN, E.; GOES, R. H. de T. B. de; CASTRO, T. R. de. Uso do farelo e da torta de crumbe na alimentação de bezerros em crescimento. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 4, n. 2, p.84-92, 2014.

MME – Ministério de Minas e Energia. Boletim mensal de energia, 2017. Disponível em [http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial/outras-noticias/-/asset\\_publisher/32hLrOzMKwWb/content/renovaveis-devemmanter-participacao-de-43-na-matriz-energetica-em-2017](http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial/outras-noticias/-/asset_publisher/32hLrOzMKwWb/content/renovaveis-devemmanter-participacao-de-43-na-matriz-energetica-em-2017). Acesso em: 08 de julho de 2017.

MONTEIRO, I. J. G.; ABREU, J. G. de; CABRAL, L. da S.; RIBEIRO, M. D.; REIS, R. H. P. dos. Silagem de capim-elefante aditivada com produtos alternativos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 33, n. 4, p.347-352, 2011.

MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant Soil**, v. 356, p.23-34, 2012.

MUCK, R. Silage inoculation. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Dairy Forage Research Center, p.43-51, 1996.

MUCK, R. E.; BOLSEN, K. K. Silage preservation and silage additive products. In: BOLSEN, K. K. et al. (Ed.) **Hay and silage management in north america**. Nfia, 1991, p.105-126.

NEGRÃO, F. de M.; ZANINE, A. de M.; SOUZA, A. L. de, CABRAL, L. da S.; FERREIRA, D. de J.; DANTOS, C. C. O. Perdas, perfil fermentativo e composição química das silagens de capim *Brachiaria decumbens* com inclusão de farelo de arroz. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 1, p.13-25 2016.

NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA, M. R.; FARIA, M. V.; UENO, R. K.; REINERHI, L. L.; DURMAN, T. Aditivos químicos utilizados em silagens. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3 n. 2, p.187-195, 2010.

NUCCI, S. M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba**. 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical. Instituto Agrônomo. Campinas, 2007. Disponível em: <[http://www.iac.sp.gov.br/PosIAC/Stella\\_Nucci2007.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/PosIAC/Stella_Nucci2007.pdf)>. Acesso em: 08 de julho de 2017.

NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; NUSSIO, C. M. B. Ensilagem de capins tropicais. In: BATISTA, A.M.V.; BARBOSA, S.B.P.; SANTOS, M.V.F. et. al. (Ed.). **A produção animal e a sociedade**. Recife: SBZ, 2002. p.60-99.

OLIVEIRA, A. C.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; OLIVEIRA, H. C.; ALMEIDA, V. V. S. D.; VELOSO, C. M.; OLIVEIRA, U. L. C. Farelo de mandioca na ensilagem de capim-elefante: fracionamento de carboidratos e proteínas e características fermentativas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, p.1020-1031, 2012.

OSTLING, C., LINDGREN, S. Influences of enterobacteria on the fermentation and aerobic stability of grass silages. **Grass and Forage Science**, v. 50, p.41-47, 1995.

PACHECO, W. F.; CARNEIRO, M. S. de S.; PINTO, A. P.; EDVAN, R. L.; ARRUDA, P. C. L. de; CARMO, A. B. R. do. Perdas fermentativas de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum.) com níveis crescentes de feno de gliricídia (*Gliricidia sepium*). **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 3, p.155-162, 2014.

PAHLOW, G; MUCK, R. E.; DRIEHUIS, F.; ELFERINK, S. J. W. H. O.; SPOELSTRA, S. F. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R. et al. (Ed.). **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.31-94.

PINHO, B. D.; PIRES, A. J. V.; RIBEIRO, L. S. O.; CARVALHO, G. G. P. de. Ensilagem de capim-elefante com farelo de mandioca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p.641-651, 2008.

PITOL, C. **Tecnologia e produção: milho safrinha e culturas de inverno – Cultura do Crambe**. Eldorado: Fundação MS, 2008. 88p.

PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; CARVALHO JUNIOR, J. N. RIBEIRO, L. S. O.; CHAGAS, D. M. T. Capim-elefante ensilado com casca de café, farelo de cacau ou farelo de mandioca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p.34-39, 2009.

PITOL, C.; BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe 2010**. Maracaju: Fundação MS para Pesquisa e Difusão de Tecnologias Agropecuária, 2010. 60p.

PORTO, P. P.; SALIBA, E. O. S.; GONÇALES, L. C.; RODRIGUEZ, N. M.; BORGES, I.; BORGES, A. L. C. C.; RODRIGUES, J. A. S.; IBRAHIM, G. H. F. Frações da parede celular e digestibilidade in vitro da matéria seca de três genótipos de girassol ensilados com aditivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 1, p.99-107, 2006.

RANDBY, A. T., SELMER-OLSEN, I. and BAEVRE, L. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.420–428, 1998.

RÊGO, A. C. do; CÂNDIDO, M. J. D.; PEREIRA, E. S.; FEITOSA, J. V.; RÊGO, M. M. T. Degradação de silagens de capim-elefante contendo subproduto do urucum. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p.482-489, 2010.

REIS, R. A; RUGGIERI, A. C.; CASAGRANDE, D. R.; PÁSCOA, A. G. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.147-159, 2009.

RETORE, M. **Caracterização da fibra de coprodutos agroindustriais e sua avaliação nutricional para coelhos em crescimento**. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

RODRIGUES, L. D. A.; PEDREIRA, J. V. S.; MATTOS, H. D. Adaptação ecológica de algumas plantas forrageiras. **Boletim da Indústria Animal**, v. 13, p.201-218, 1975.

RUAS, R. A. A.; NASCIMENTO, G. B.; BERGAMO, E. P.; DAUR JUNIOR, R. H.; ARRUDA, R. G. Embebição e germinação de sementes de crambe (*Crambe abyssinica*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 1, p.61-65, 2010.

SALLES, G. Macaúba pode ser matéria-prima alternativa para biodiesel. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/biodiesel/macauaba-materia-prima-alternativa-biodiesel-25-09-06.htm> . Acesso em: 20 de julho 2017.

SANTACESARIA, E.; VICENTE, G. M.; SERIO, M. Di.; TESSER R. Main Technologies in biodiesel production: state of the art and future challenges. **Catalysis Today**, v. 195, p.2-13, 2012.

SANTOS, A. C. R. dos; MAGALHÃES, D. Q.; AZEVEDO, R. A.; VIEIRA, I. L. N.; FRANÇA, D. E.; GERASEEV, L. C.; DUARTE, E. R. Efeito da inclusão da torta de macaúba na população de protozoários do rúmen de vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 6, p.1653-1659, 2015.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. de M. Silagem de gramíneas tropicais. **Colloquium Agrariae**, v. 2, n. 1, p.32-45, 2006.

SILVA, G. C. R.; de ANDRADE, M. H. C. EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS DO FRUTO DA MACAÚBA NO NORTE DE MINAS GERAIS: rota de processamento e viabilidade econômica. **Revista de Economia Agrícola**, v. 61, n. 1, p.23-34, 2014.

SOUZA, A. D. V. de. FÁVARO, S. P.; ÍTAVO, L. C. V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p.1328-1335, 2009.

SOUZA, V. S; OLIVEIRA, P. B; LOUVANDINI, H; Potencial nutricional do *Crambe abyssinica* para ruminantes e seus co-produtos oriundos da obtenção do biodiesel. 47º **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Salvador, Bahia. 2010.

TEIXEIRA, U. B. G.; SIMIONI, T. A.; PINA, D. dos S.; GOMES, F. J.; PAULA, D. C. de; B9, L. A. Potencial de utilização de coprodutos agroindustriais para suplementos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 02, p.3363-3386, 2014.

TOLMASQUIM, M. T. Perspectivas e planejamento do setor energético no Brasil. **Estudos avançados**, v. 26, n. 74, p.247-260, 2012.

TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; BORGES, I. **Características para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação**. Corumbá: EMBRAPA Pantanal, 2003, 20p. (documento 57).

TRIPATHI, M. K.; AGRAWAL, I. S.; SHARMA, S. D.; MISHRA, D. P. Effect of substitution of soybean meal with treated or untreated high glucosinolate mustard (*Brassica juncea*) meal on intake, digestibility, growth performance and boby composition of calves. **Animal Feed Science and Technology**, v. 94 p.137–146, 2001.

TRIPATHI, M. K.; MISHRA, A. S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, p.1–27, 2007.

UDAETA, M. E. M; BAITELO, R. L. BURANI, G. F. GRIMONI, J. A. B. **Comparação da produção de energia com diesel e biodiesel analisando todos os custos envolvidos**. Disponível em: <[http://seeds.usp.br/pir/arquivos/AGRENER2004\\_RicardoBaitelo.pdf](http://seeds.usp.br/pir/arquivos/AGRENER2004_RicardoBaitelo.pdf)>. Acesso em: 20 de maio de 2017.

URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BOODEY, R. M. Produção de biocombustíveis. A questão do balanço energético. **Revista de Política Agrícola**, n. 1, p.42-46, 2005.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIEIRA, F. A. P.; BORGES, I.; STEHLING, C. A. V.; GONÇALVES, L. C.; COELHO, S. G.; FERREIRA, M. I. C.; RODRIGUES, J. A. S. Qualidade de silagens de sorgo com aditivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 6, p.764-772, 2004.

VITOR, C. M. T.; FONSECA, D. D.; CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I. Produção de matéria seca e valor nutritivo de pastagem de capim-elefante sob irrigação e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p.435-442, 2009.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, p.53-68, 1996.

WOOLFORD, M. K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 68, n. 2, p.101-116, 1990.

WOOLFORD, M. K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; DÓREA, J. R. R.; DANTAS, P. A. D. S.; SILVA, T. C. D.; PEREIRA, O. G. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p.2611-2616, 2010.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; FERREIRA, D. de J.; PINTO, 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**, v. 8, n. 4, p.621-628, 2007.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.170-189, 2009.

## **CAPÍTULO I: SILAGENS DE CAPIM ELEFANTE ADITIVADAS COM TORTA DE MACAÚBA**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar os efeitos da torta de macaúba, oriunda da cadeia produtiva do biodiesel, em diferentes níveis de inclusão e tempos de abertura dos silos, na ensilagem de capim-elefante. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. O material foi ensilado em silos experimentais elaborados com tubos de PVC com tampas providas de válvula tipo Bunsen, compactou-se o material obtendo-se massa específica de 600 kg/m<sup>3</sup>. Foi analisado os teores de ácidos orgânicos, a população microbiana, a composição químico-bromatológica e as perdas geradas durante o processo fermentativo. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 3 x 6, sendo três níveis de inclusão da torta de macaúba (0; 10 e 20%) e seis tempos de abertura dos silos (1; 5; 10; 20; 40 e 60 dias após a ensilagem). Os dados foram submetidos à análise de variância, e, se detectados efeitos significativos em relação aos níveis de inclusão, tempos de abertura, e interação entre eles, aplicou-se a análise de regressão. A torta de macaúba foi eficiente como aditivo absorvente de umidade nas silagens de capim-elefante, com elevação dos teores de matéria seca, além da melhoria no processo fermentativo, que favoreceu o desenvolvimento de microrganismos desejáveis, como as bactérias ácido láticas em detrimento de enterobactérias e fungos filamentosos e leveduriformes. Houve redução dos teores de ácido butírico, maiores conteúdos de ácido láctico, e, conseqüente redução dos valores de pH. Níveis crescentes da torta de macaúba reduziram a proteólise, o que resultou em menores concentrações de nitrogênio amoniacal. Os teores de fibras em detergente neutro e em detergente ácido foram reduzidos com a adição da torta de macaúba, os teores de proteína elevaram-se, porém, não foram tão expressivos, não houve contribuição do coproduto do biodiesel sobre os carboidratos solúveis, os teores de extrato etéreo aumentaram com os níveis crescentes da torta de macaúba, e, nas silagens de capim-elefante com 20% da torta de macaúba, devem ser misturados a outros volumosos com menor teor de extrato etéreo. As perdas por gases e efluentes foram reduzidas e a recuperação de matéria seca foi elevada com a inclusão da torta de macaúba. Quanto ao tempo de armazenamento das silagens de capim-elefante adicionadas da torta de macaúba, recomenda-se que fiquem armazenadas por no mínimo 60 dias, para que ocorram os processos fermentativos, principalmente relacionados aos microrganismos, a produção de ácidos orgânicos e aos valores de pH, para caracterizá-lo como um alimento de qualidade para oferta

aos animais. O nível de inclusão de 20% da torta de macaúba promoveu as melhores características nas silagens de capim-elefante, contudo, deve-se atentar para os teores de extrato etéreo.

**Palavras-chave:** Ácidos orgânicos. Composição químico-bromatológica. Coproduto de biodiesel. Microbiologia da silagem. Níveis de inclusão. Tempos de abertura.

## ELEPHANT GRASS SILAGE ADDITIVATED WITH MACAÚBA CAKE

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of macaúba cake, from the biodiesel production chain, on different levels of inclusion and opening times of the silos in elephant grass silage. The experimental design was completely randomized, with four replications. The material was ensiled in experimental silos made with PVC tubes with caps equipped with a Bunsen type valve, the material was compacted to obtain a specific mass of 600 kg/m<sup>3</sup>. The content of organic acids, the microbial population, the chemical-bromatological composition and the losses generated during the fermentation process were analyzed. The treatments were arranged in a 3 x 6 factorial scheme, with three levels of inclusion of the macaúba cake (0, 10 and 20%) and six opening times of the silos (1, 5, 10, 20, 40 and 60 days after silage). Data were submitted to analysis of variance, and if significant effects were detected in relation to inclusion levels, opening times, and interaction between them, the regression analysis was applied. Macaúba cake was efficient as a moisture absorbing additive in elephant grass silages, with increased dry matter content, as well as improved fermentation, which favored the development of desirable microorganisms, such as lactic acid bacteria, to the detriment of enterobacteria and, filamentous and yeast fungi. There was reduction of butyric acid contents, higher contents of lactic acid, and consequent reduction of pH values. Increasing levels of macaúba cake reduced proteolysis, which resulted in lower concentrations of ammoniacal nitrogen. The neutral detergent fiber and acid detergent fiber contents were reduced with the addition of macaúba cake, the protein levels were higher, however, they were not as expressive, there was no contribution of the biodiesel co-product to the soluble carbohydrates, the contents of ethereal extract increased with increasing levels of macaúba cake, and in elephant grass silages with 20% of macaúba cake they should be mixed with other voluminous ones with lower content of ethereal extract. The losses by gases and effluents were reduced and the dry matter recovery was increased with the inclusion of the macaúba cake. As for the storage time of the elephant grass silages added to the macaúba cake, it is recommended that they be stored for at least 60 days, so that fermentation processes, mainly related to microorganisms, the production of organic acids and the values of pH, to characterize it as a quality food for the animals. The inclusion level of 20% of the macaúba cake promoted the best characteristics in elephant grass silages, however, it is necessary to pay attention to the contents of ethereal extract.

**Keywords:** Organic acids. Chemical-bromatological composition. Co-production of biodiesel. Microbiology of silage. Levels of inclusion. Opening times.

## 4 INTRODUÇÃO

As forrageiras tropicais apresentam estacionalidade marcante, o que determina distribuição desuniforme da produção ao longo do ano, com sobra de forragem na estação chuvosa e falta na estação seca, gerando um comprometimento de desempenho da produção animal (FERREIRA *et al.*, 2014). A adoção de técnicas de conservação de forragens que preservem as características nutricionais destas e permitem seu uso em períodos críticos de alimentação se torna necessário, podendo-se salientar o processo de ensilagem.

No entanto, a composição química e a digestibilidade do capim-elefante quando ensilado são afetadas pelo estágio de crescimento da cultura, dessa forma, o alto teor de umidade desta gramínea, que se dá no momento ideal para o corte, representa um obstáculo para a conservação desta na forma de silagem, o que pode acarretar fermentações indesejáveis, com consideráveis perdas de nutrientes (ZANINE *et al.*, 2007). Com isso, reforça a necessidade de adição de produtos que possam elevar o teor de matéria seca do material ensilado para níveis satisfatórios do ponto de vista da fermentação, estes podem ser aditivos nutritivos e/ou absorventes de umidade (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

As tortas, que são coprodutos do biodiesel, são geradas a partir da extração do óleo de culturas oleaginosas através da prensagem, que se destinadas em locais inadequados no meio ambiente pode trazer sérios problemas, como por exemplo, contaminação de recursos hídricos e do solo. Nesse contexto, uma alternativa seria a utilização desses coprodutos na alimentação animal, o que pode agregar valor no produto final reduzindo os custos da produção tanto do biodiesel como na nutrição animal (ABDALLA *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2014), já que esses coprodutos podem elevar o teor de matéria seca, melhorando o valor nutritivo, além de proporcionar um adequado processo fermentativo, impedindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (BONFÁ *et al.*, 2017).

A torta de macaúba possui alto teor de matéria seca, o que possibilita utilizá-la como aditivo na ensilagem, com a finalidade de melhoria das características fermentativas, através da absorção da umidade. Contudo, de acordo com Bomfim *et al.* (2009) o alto nível de extrato etéreo presente nessas tortas demanda realização de mais estudos, para que se possa utilizar esse coproduto na alimentação animal, visto que ainda são escassos os trabalhos com utilização da torta macaúba adicionadas nas ensilagens de capim-elefante.

Considerando a importância de conhecer os potenciais da torta de macaúba adicionada no processo de ensilagem do capim-elefante, e a escassez de trabalhos com esse coproduto do biodiesel na alimentação animal, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos

de diferentes níveis de inclusão da torta de macaúba na ensilagem de capim-elefante, sobre a composição químico-bromatológica, a população microbiana, os teores de ácidos orgânicos e as perdas geradas durante o processo fermentativo.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Campus JK, situada no município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil. As análises laboratoriais da população microbiana, teores de ácidos orgânicos e etanol foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFVJM, e, as análises da composição químico-bromatológica foram realizadas nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, da UFVJM e da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e, Laboratório Integrado de Pesquisa Multiusuário dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – LIPEMVALE, da UFVJM.

### 5.2 Forrageira e coproduto utilizado

Utilizou-se o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), a cultivar estudada foi a Cameroon, ensilada exclusiva ou misturada com a torta de macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart.] em diferentes níveis de inclusão.

O capim-elefante foi obtido em uma propriedade rural localizada no município de Lavras, Minas Gerais. Realizou-se o corte de uniformização e a adubação de manutenção foi a base de adubo formulado NPK 8-28-16, na quantidade de 400 kg/ha. No momento do corte, o capim estava com aproximadamente 1,60 m de altura e 70 dias de crescimento, com rendimento médio de 70 t/ha de matéria verde. O corte manual foi realizado a 10 cm do nível do solo. A torta de macaúba (polpa e casca), coproduto do biodiesel, foi oriunda da Indústria DBIO, situada no município de Dores do Indaiá, Minas Gerais. Ambos foram transportados ao Campus JK, em Diamantina – MG.

### 5.3 Delineamento experimental e modelo estatístico

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 3 x 6, sendo três níveis de inclusão da torta de macaúba (0; 10 e 20%, baseados no peso verde da forragem) e seis tempos de abertura dos silos (1; 5; 10; 20; 40 e 60 dias após a ensilagem). Totalizando 18 tratamentos e 72 unidades experimentais. O modelo estatístico foi:

$$Y_{ijK} = \mu + N_i + T_j + NT_{ij} + e_{ijk}, \text{ em que:}$$

$Y_{ijK}$  = observação referente ao nível  $i$  de torta de macaúba, no tempo  $j$  de abertura, na repetição  $k$ ;

$\mu$  = média geral;

$N_i$  = efeito do nível  $i$  de torta de macaúba ( $i = 1, 2$  e  $3$ );

$T_j$  = efeito do tempo  $j$  de abertura ( $j = 1, 2, 3, 4, 5$  e  $6$ );

$NT_{ij}$  = efeito da interação entre o nível  $i$  de torta de macaúba com o tempo  $j$  de abertura;

$e_{ijk}$  = efeito do erro experimental associado a cada observação que recebeu o nível  $i$  de torta de macaúba, o tempo  $j$  de abertura na repetição  $k$ .

#### 5.4 Silos experimentais

O material foi ensilado em silos experimentais elaborados com tubos de policloreto de vinilo (PVC) de 100 mm de diâmetro e 400 mm de comprimento, com tampas de PVC providas de válvula tipo Bunsen, para permitir o escape dos gases gerados durante o processo fermentativo dentro dos silos.

No fundo dos silos experimentais, foram depositados sacos de pano contendo 0,8 kg de areia seca, para captação do efluente, caso este fosse produzido, e posterior realização da estimativa das perdas geradas durante o processo fermentativo.

#### 5.5 Ensilagem

Previamente ao processo de ensilagem, picou-se o capim-elefante em ensiladora estacionária regulada para obtenção de partículas de aproximadamente 2 cm. Posteriormente, realizou-se a adição da torta de macaúba ao capim-elefante, com os respectivos níveis de inclusão mencionados anteriormente. Utilizou-se 1,6 kg de material total em cada silo.

O material foi homogeneizado e depositado nos silos experimentais logo após a acomodação do saco de pano contendo areia seca, compactou-se o material com o uso de soquetes de madeira, obtendo-se massa específica média de  $600 \text{ kg/m}^3$  de peso do material ensilado. Vedou-se os silos utilizando a tampa confeccionada de PVC, conforme relato anterior, pesou-se todo o conjunto no momento da ensilagem e lacrou-se a tampa com fita adesiva. Estes foram acondicionados em local com área coberta e temperatura ambiente.

## 5.6 Amostragens

Antes da ensilagem, foram retiradas amostras do material: capim-elefante e torta de macaúba, bem como das misturas homogeneizadas do capim-elefante com os respectivos níveis de inclusão da torta de macaúba (0; 10 e 20%), ambas para análise da população microbiana, composição químico-bromatológica e pH.

A abertura dos silos foi realizada nos respectivos tempos, em dias, conforme tratamentos definidos anteriormente. Pesou-se todo o conjunto, silos e forragem, no momento da abertura para estimativa das perdas. A silagem foi homogeneizada e separada em duas partes, sendo uma amostra (peso conhecido) destinada à prensagem para extração do líquido da silagem para determinação do pH, ácidos orgânicos, nitrogênio amoniacal e etanol, a outra foi reservada às análises da população microbiana (25 g) e químico-bromatológicas (aproximadamente 800 g).

### 5.6.1 Amostra de preparação úmida

Tanto o material antes de ensilar, bem como da silagem, retirou-se uma amostra de peso conhecido, foi separada para prensagem em uma prensa hidráulica, para obter-se o líquido extraído da silagem e seu volume aferido. Determinou-se os valores de pH, através de um potenciômetro com escala expandida, marca Tecnopon mPA 210. Posteriormente, armazenou-se 4 mL do líquido extraído da silagem (em dois eppendorf com capacidade de 2 mL cada um) para análises de ácidos orgânicos e teor de etanol e 40 mL deste material foi armazenado (em tubo falcon) conservados em 10 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N, para determinação do teor de nitrogênio amoniacal, por destilação com óxido de magnésio (AOAC, 1995). Ambos foram armazenados no congelador à -15° C.

### 5.6.2 Amostra destinada às análises da população microbiana e químico-bromatológica

Coletou-se uma alíquota de 25 g, para as análises da população microbiana (KUNG JR., 1996); o restante do material, procedeu-se a pesagem e pré-secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 55° C por 72 horas (DETMANN *et al.*, 2012). Em seguida, as amostras foram processadas em moinho estacionário tipo Willey com peneira de 1 mm (AOAC, 2000) e acondicionadas em sacos plásticos para avaliações posteriores dos teores de

matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente em ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e carboidratos solúveis (CHOS).

## 5.7 Análises laboratoriais

### 5.7.1 Composição químico-bromatológica

Do procedimento analítico, avaliou-se a composição químico-bromatológica do material e das misturas homogeneizadas antes da ensilagem (capim-elefante e torta de macaúba nos respectivos níveis de inclusão) e do material ensilado. Foram analisados os teores de MS (INCT-CA G-003/1), FDN (INCT-CA F-002/1), FDA (INCT-CA F-004/1) e EE (INCT-CA G-004/1) de acordo com a metodologia proposta por Detmann *et al.*, (2012). Os CHOS em álcool, pelo método proposto por Bailey (1967). A PB foi determinada através de analisador elementar dos teores de nitrogênio. Os teores de nitrogênio amoniacal, em porcentagem do nitrogênio total (N-NH<sub>3</sub>/NT) por destilação com óxido de magnésio (AOAC, 1995).

#### 5.7.1.1 Teor de matéria seca

Para essa análise, pesou-se de dois a três gramas (g) de amostra seca ao ar e moída, em cápsula de porcelana previamente secas e pesada na “tara”. Logo, se procedeu à secagem em estufa a 105° C, durante 16 horas. A seguir, retirou-se os cadinhos da estufa e os colocou em um dessecador, por uma hora, até que a temperatura se equivalesse com a temperatura ambiente e pesou-os novamente. A perda de peso representa a umidade bruta, ou seja, todos componentes voláteis à temperatura de 105° C. Os resultados foram apresentados em porcentagem (DETMANN *et al.*, 2012).

#### 5.7.1.2 Teores de proteína bruta

A determinação do nitrogênio foi realizada através do analisador elementar LECO® CHNS/O, modelo Truspec Micro, localizado no Laboratório de Análise Elementar, pertencente ao Laboratório Integrado de Pesquisa Multiusuário dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – LIPEMVALE, Campus JK, na UFVJM.

Utilizou-se padrões de referência para curvas de calibração. As amostras (em torno de 1 a 10 mg) foram incineradas a 1075° C em tubo de quartzo, onde os gases gerados foram quantificados em detector de infravermelho. Os resultados são expressos em porcentagem (%) de nitrogênio da amostra, a conversão do nitrogênio em proteína foi obtido através da multiplicação do mesmo, expresso em porcentagem na matéria seca por 6,25 (DETMANN *et al.*, 2012).

#### 5.7.1.3 Teores de fibra em detergente neutro

Pesou-se 0,4 g de amostras moídas, dentro de sacos Filter Bag F57 (Ankon®). Estes foram colocados em um béquer de 600 mL, no qual se adicionou 50 mL de solução de detergente neutro para cada saco Filter Bag F57 (Ankon®). Em seguida, as amostras foram digeridas por refluxo por 60 minutos a partir do início da ebulição.

Procederam-se as lavagens sucessivas com água destilada quente e acetona. Logo após, os sacos contendo amostras secaram em temperatura ambiente por aproximadamente 2 horas. Posteriormente, colocou-se os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) com a amostra em estufa a 105° C por aproximadamente quatro horas. Ao retirá-los, foram acondicionados em dessecador até a temperatura ambiente, e, posteriormente, foram pesados. Os resultados foram apresentados em porcentagem (%) (DETMANN *et al.*, 2012).

#### 5.7.1.4 Teores de fibra em detergente ácido

A análise de FDA foi executada com o resíduo da análise de FDN (análise sequencial). Colocaram-se os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) em um béquer de 600 mL, adicionou-se 50 mL de solução detergente ácido para cada saco Filter Bag F57 (Ankon®) no béquer e dez gotas de álcool amílico (antiespumante). Em seguida digeriu-os por refluxo por 60 minutos a partir do início da ebulição. Retirou-se os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) com as amostras e procedeu-se lavagens sucessivas com água destilada quente e acetona. Posteriormente deixou-se em temperatura ambiente por aproximadamente duas horas.

Os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) com a amostra foram levados para estufa a 105 °C aproximadamente quatro horas. Retirou-se, esfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente, e, posteriormente, foram pesados. Os resultados foram apresentados em porcentagem (%) (DETMANN *et al.*, 2012).

#### 5.7.1.5 Teores de carboidratos solúveis

As análises referentes à quantificação de carboidratos solúveis foram realizadas de acordo com o método descrito por Bailey (1967). O princípio desse método consiste na extração dos carboidratos solúveis com solução alcoólica a 80%, na reação com solução ácida preparada com antrona e na posterior leitura em espectrofotômetro, utilizando-se solução de glicose para o preparo da curva padrão.

#### 5.7.1.6 Teores de extrato etéreo

Os teores de extrato etéreo foram analisados inicialmente com a pesagem, em papel filtro, de 1 g da amostra moída, confeccionados os cartuchos e colocados no aparelho Soxhlet. Os balões com fundo achatado, utilizados na extração, foram pesados previamente, após permanecerem em estufa a 105° C durante 12 horas. O aparelho foi montado com os cartuchos e foram acrescentados aproximadamente 200 mL de éter em cada sistema de extração (sifão). As amostras foram submetidas à extração por no mínimo 4 horas, com uma velocidade de condensação de 4 a 6 gotas por segundo. No final do período de extração, o éter foi recuperado e os balões levados à estufa a 105° C até que o éter secasse por completo. Após essa etapa, estes foram levados ao dessecador, para que resfriassem. Então, foram pesados e os pesos anotados, para posterior pesagem, conforme Detmann *et al.* (2012).

#### 5.7.2 População microbiana

A quantificação da população microbiana foi realizada nos materiais antes de ensilar e nas misturas homogeneizadas com os respectivos níveis de inclusão da torta de macaúba ao capim-elefante e nas silagens. Os microrganismos avaliados foram: bactérias ácido lácticas (BAL), enterobactérias (Entero), fungos leveduriformes (FL) e filamentosos (FF).

Retirou-se uma alíquota de 25 g, pesada sequencialmente na abertura dos silos, que foi adicionada em Erlenmeyer contendo 225 mL de solução tampão fosfato, e encaminhada ao agitador de amostras por 20 minutos a 28° C, representando a diluição de 10<sup>-1</sup> (KUNG JR., 1996). Posteriormente, realizou-se as diluições, utilizando tubos de tampa rosqueada com capacidade de 15 mL, contendo 9 mL de água estéril, em que foi adicionado 1

mL da solução preparada de diluição  $10^{-1}$ , obtendo-se a diluição  $10^{-2}$  e, assim, sucessivamente, com a finalidade de se obter as diluições até  $10^{-6}$ .

Preparou-se os meios de cultura específicos para o crescimento de cada população microbiana, em que foram dissolvidos e levados à autoclave para esterilização por 15 minutos a uma temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$  e, posteriormente, vertidos em placas de Petri e, após a solidificação, armazenou-se sob refrigeração. Os respectivos meios de cultura foram preparados na véspera de cada inoculação visando o mínimo de contaminação possível. Todas as vidrarias utilizadas para fins de quantificação da população microbiana foram autoclavadas (esterilizadas) por 30 minutos a uma temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$ .

As inoculações foram através das diluições (soluções) obtidas, no qual foram inoculadas 100 microlitros de solução em duplicatas, para cada diluição. As placas de Petri contendo o respectivo meio de cultura e o inóculo foram vedadas e armazenadas cada uma conforme especificação de cada população microbiana citada adiante. A população microbiana é passível de contagem, nas placas contendo valores de 30 a 300 unidades formadoras de colônias (UFC) e transformadas em logaritmo na base 10 ( $\log \text{UFC/g}$ ) (LANARA, 1981).

#### 5.7.2.1 *Bactéria ácido láctica*

O meio de cultura utilizado foi o MRS Agar Lactobacilos (MRS) marca Himedia. Em sua constituição (g/L) encontra-se: digestão enzimática de tecido animal 10 g; extrato de carne bovina 10 g; extrato de levedura 5 g; dextrose 20 g; acetato de sódio 5 g; polisorbato 80 g; fosfato de potássio 2 g; citrato de amônio 2 g; sulfato de magnésio 0,1 g; sulfato de manganês 0,05 g; ágar 15 g. Dissolveu-se 68,2 g deste produto em 1000 mL de água desmineralizada e adicionou-se um fungistático (nistatina 0,4%) marca Neo Química.

Posteriormente à inoculação, vedou-se as placas de Petri com papel filme e armazenou-se em posição invertida, em incubadora à  $35^{\circ}\text{C}$  por 96 horas, para proceder a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (ÁVILA *et al.*, 2008).

#### 5.7.2.2 *Enterobactéria*

Utilizou-se o meio de cultura específico para o crescimento de enterobactéria, o Violet Red Bile Agar (VRBA) marca Kasvi, consistindo em g/L de extrato de levedura 3 g; peptona 7 g; sais biliares nº 3 1,5 g; lactose 10 g; cloreto de sódio 5 g; vermelho neutro 0,030

g; cristal violeta 0,002 g; ágar 13 g. Dissolveu-se 38,5 g deste meio em 1000 mL de água destilada com adição de um fungistático (nistatina 0,4%) marca Neo Química.

Após a inoculação, vedou-se as placas de Petri com papel alumínio e incubou-se em posição inversa, em incubadora com temperatura 37° C por 48 horas, para proceder a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (JONSSON, 1991).

#### 5.7.2.3 *Fungo leveduriforme*

O meio de cultura Yeast Extract Peptone Glucose (YEPG) foi empregado para quantificação da população de fungo leveduriforme, contendo as seguintes especificações (extrato de levedura 10 g; peptona 20 g; glicose 20 g; ágar-ágar 17 g; ambos em 1000 mL de água destilada), o pH foi ajustado para 3,5, adicionou-se antibiótico (cloranfenicol 0,263 g) marca Inlab.

Após a inoculação, vedou-se as placas de Petri com papel filme e armazenou-se em posição invertida, em incubadora com temperatura controlada a 28° C por 48 horas, para posterior quantificação das unidades formadoras de colônia (UFC) (ÁVILA *et al.*, 2008).

#### 5.7.2.4 *Fungo filamentosos*

Para o crescimento e a quantificação da população de fungo filamentosos, utilizou-se o Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base (DRBC) marca Kasvi, no qual as especificações técnicas do produto em g/L são: digestão enzimática dos tecidos vegetais finais 5 g; glicose 10 g; fosfato de monopotássio 1 g; sulfato de magnésio 0,5 g; dicloran 2 mg; rosa bengal 25 mg; agar 15 g. O preparo consistiu de 31,5 g em 1000 mL de água destilada com o uso de um antibiótico (cloranfenicol 0,263 g) marca Inlab.

As placas de Petri foram inoculadas e envolvidas com papel alumínio, e incubadas na posição inversa, a temperatura de 28° C por 120 horas, onde ocorreu a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (CHAVES *et al.*, 2011).

#### 5.7.3 *Ácidos orgânicos e etanol*

Os ácidos orgânicos analisados foram: ácido láctico, acético e butírico. Além desses ácidos orgânicos, avaliou-se também a produção de etanol no material ensilado. Utilizou-se o extrato líquido obtido da silagem que inicialmente havia sido congelado para

estas análises, após a abertura dos silos em seus respectivos tempos. O líquido foi centrifugado a frio a 10000 rpm por 10 minutos. Utilizou-se *vials* contendo 400 µL do líquido centrifugado e 800 µl da solução de ácido sulfúrico, previamente preparada (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0025 mol/L). Em seguida, as soluções foram submetidas às análises de ácidos orgânicos realizados por meio de um cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC) (KUNG JR, 1996) e teores de etanol com o uso da coluna C18 (Fase reversa) da marca Biorad.

#### ***5.7.4 Perdas por efluentes e por gases e Índice de recuperação de matéria seca***

As perdas de matéria seca sob as formas de gases e de efluentes foram quantificadas por diferença entre pesagens efetuadas na ensilagem e na abertura dos silos. O índice de recuperação de matéria seca é uma forma utilizada para estimar as perdas no processo de ensilagem na forma de perdas totais de MS (JOBIM *et al.*, 2007).

##### ***5.7.4.1 Perdas por efluentes***

As perdas por efluentes (PE) foram calculadas baseando-se na diferença de peso da areia e saco de pano depositado no fundo do silo por ocasião do carregamento dos silos, conforme descrito por Jobim *et al.* (2007), representada pela equação a seguir:

$$PE = (Pab - Pen) / (MVfe) \times 1000$$

em que:

PE = Perdas por efluentes (kg/ton de massa verde);

Pab = Peso do conjunto (silo, areia e saco de pano) na abertura (kg);

Pen = Peso do conjunto (silo, areia e saco de pano) na ensilagem (kg);

MVfe = Massa verde de forragem ensilada (kg).

##### ***5.7.4.2 Perdas por gases***

As perdas por gases (PG) no processo de ensilagem foram obtidas com base na pesagem dos silos no fechamento e na abertura, diferença entre a matéria seca inicial e final do material, em relação à quantidade de matéria seca ensilada, descontando-se a tara do silo experimental, conforme descrito por Jobim *et al.* (2007), representada pela seguinte equação:

$$PG = [(PCen - Pen) * MSen] - [(PCab - Pen) * MSab] \times 100 / [(PCen - Pen) * MSen]$$

em que:

PG = Perdas por Gases (% da MS);

PCen = Peso do silo cheio na ensilagem (kg);

Pen = Peso do conjunto (silo, tampa, areia e saco de pano) na ensilagem (kg);

MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

PCab = Peso do silo cheio na abertura (kg);

MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

#### 5.7.4.3 Índice de recuperação de matéria seca

O índice de recuperação de matéria seca foi obtido por meio da diferença de peso obtida pela pesagem da massa de forragem nos momentos da ensilagem e da abertura e seus respectivos teores de matéria seca. A seguinte equação foi utilizada para estimar o índice de Recuperação de MS (RMS), conforme Jobim *et al.* (2007).

$$RMS = (MFab \times MSab) / (MFfe \times MSfe) * 100$$

em que:

RMS = Índice de recuperação de matéria seca (%);

MFab= Massa de forragem na abertura (kg);

MSab= Teor de MS na abertura (%);

MFfe = Massa de forragem no fechamento (kg);

Msfe = Teor de MS da forragem no fechamento (%).

## 5.8 Análise estatística

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico Genes (CRUZ, 2013), e, quando detectados efeitos significativos em relação aos níveis de inclusão, tempos de abertura, e interação entre eles, aplicou-se a análise de regressão, através do programa Sigmaplot, v.10.0. Foram utilizados modelos de regressão polinomiais de primeiro e segundo grau, onde a escolha dos mesmos foi baseada no maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para cada equação.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Composição químico-bromatológica, população microbiana e pH do material antes da ensilagem

Na Tabela 1, são apresentados os dados referentes à composição químico-bromatológica do capim-elefante e torta de macaúba, bem como suas respectivas misturas antes da ensilagem.

**Tabela 1** - Composição químico-bromatológica do capim-elefante, da torta de macaúba e das respectivas misturas antes da ensilagem

Material antes da ensilagem	Variáveis (%)					
	MS	PB	FDN	FDA	CHOS	EE
Capim-elefante (C)	22,0	2,9	64,2	33,6	0,42	2,3
Torta de Macaúba (TM)	88,2	5,4	41,8	25,0	0,13	22,3
10% TM + 90% C	27,7	3,5	59,7	30,6	0,36	5,7
20% TM + 80% C	31,6	4,1	52,1	27,0	0,25	9,3

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido, CHOS: carboidratos solúveis e EE: extrato etéreo.  
C: capim-elefante; TM: torta de macaúba.

Na Tabela 2, encontram-se os dados de quantificação da população microbiana e valores de pH do capim-elefante e torta de macaúba, bem como das respectivas misturas no momento anterior à ensilagem.

**Tabela 2** - População microbiana (log ufc/g de silagem) e valores de potencial hidrogeniônico (pH) do capim elefante, da torta de macaúba e das respectivas misturas antes da ensilagem

Material antes da ensilagem	População microbiana				pH
	BAL	Entero	FL	FF	
Capim-elefante (C)	5,30	8,16	3,20	NA	5,34
Torta de Macaúba (TM)	NA	NA	NA	NA	NA
10% TM + 90% C	6,68	7,99	3,47	4,67	5,06
20% TM + 80% C	6,71	7,63	2,93	4,65	4,90

BAL: bactérias ácido lácticas; Entero: enterobactérias; FL: fungos leveduriformes; FF: fungos filamentosos e, NA: dados não analisados.  
C: capim-elefante; TM: torta de macaúba.

## 6.2 Composição químico-bromatológica das silagens

Observou-se efeito significativo para os teores de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão da torta de macaúba (TM) e da interação níveis x tempos. Os tempos de abertura não foram significativos para os teores de MS e PB. Para os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos solúveis (CHOS), extrato etéreo (EE) e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), verificou-se efeito significativo dos níveis de inclusão da TM, tempos de abertura dos silos e da interação níveis x tempos (Tabela 3).

**Tabela 3** - Análise de variância da composição químico-bromatológica das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P						
		MS	PB	FDN	FDA	CHOS	EE	N-NH <sub>3</sub>
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Tempos de abertura	5	1,0	1,0	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,02	<0,001
Média		24,7	3,5	59,9	31,7	0,13	7,9	2,3

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: p-valor.

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido, CHOS: carboidratos solúveis; EE: extrato etéreo e N-NH<sub>3</sub>: nitrogênio amoniacal.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

### 6.2.1 Matéria seca

Observou-se comportamento quadrático para os teores de MS em função da interação níveis x tempos das silagens de capim-elefante (Tabela 4).

Os teores mínimos estimados de MS das silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM) foram obtidos aos 20 dias após a ensilagem com 18,2% de MS, com a adição de 10 e 20% da TM os teores mínimos estimados de MS ocorreram aos 43 e 30 dias após a ensilagem com 25,0 e 29,6%, respectivamente (Tabela 4).

Em todos os tempos de abertura observou-se que os menores teores de MS foram encontrados nas silagens exclusivas de capim-elefante, seguidas das silagens com adição de 10% da TM. As silagens com o nível de inclusão de 20% da TM foram as que obtiveram maiores teores de MS em todos os tempos de abertura dos silos, o que possibilitou inferir que a TM promoveu incrementos nos teores de MS nas silagens de capim-elefante, porque é um aditivo absorvente de umidade (Tabela 4).

**Tabela 4** - Teores de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	19,3	18,4	18,5	18,9	19,0	19,7	19,0	$Y_0=18,9 - 2,4 \times 10^{-2}X + 6,0 \times 10^{-4}X^2$	0,79
10	25,1	26,0	25,7	24,9	24,8	25,0	25,3	$Y_{10}=25,7 - 3,4 \times 10^{-2}X + 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,63
20	29,9	30,1	29,8	29,2	30,1	30,0	29,9	$Y_{20}=30,0 - 2,4 \times 10^{-2}X + 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,50
Média	24,8	24,8	24,7	24,3	24,6	24,9		CV = 1,7%	

Os teores médios de MS obtidos para os níveis de inclusão de 0; 10 e 20% da TM, foram de 19,0; 25,3 e 29,9%, respectivamente, nas silagens de capim-elefante. Esse aumento está relacionado ao alto teor de MS presente na TM antes da ensilagem (Tabela 1). Os níveis de inclusão de 10 e 20% da TM alcançaram teores médios de MS consideráveis, em conformidade com Zopollatto *et al.* (2009), no qual relatam que esses teores permitem a obtenção de silagens de boa qualidade.

A adição da TM resultou em incrementos de 33,2 e 57,0% nos teores de MS das silagens de capim-elefante, considerando os níveis de inclusão de 10 e 20% da TM, respectivamente, em relação à silagem exclusiva de capim-elefante. Outros autores também encontraram incrementos dos teores de MS das silagens de capim-elefante com o uso de aditivos de coprodutos da agroindústria (ZANINE *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2011; ANDRADE *et al.*, 2012).

O baixo teor de MS tem sido considerado um dos principais problemas da ensilagem de forrageiras tropicais e está diretamente relacionado a grandes perdas por efluentes, reduzindo o valor nutritivo das silagens, além de tornar o ambiente mais propício para o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, favorecendo fermentações secundárias (ZANINE *et al.*, 2007). No tratamento sem a adição do coproduto, o material ensilado apresentou teor médio de MS de 19,0%, o que pode comprometer a qualidade da silagem.

### 6.2.2 Proteína bruta

Na interação níveis x tempos observou-se comportamento quadrático para os teores de PB das silagens de capim-elefante (Tabela 5).

**Tabela 5** - Teores de proteína bruta (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	3,2	3,4	2,6	2,8	1,6	1,6	2,5	$Y_0=3,4 - 5,4 \times 10^{-2}X + 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,95
10	3,9	3,4	3,1	2,9	2,8	3,0	3,2	$Y_{10}=3,8 - 5,8 \times 10^{-2}X + 8,0 \times 10^{-4}X^2$	0,96
20	4,0	3,5	4,1	5,3	6,1	5,8	4,8	$Y_{20}=3,4 + 0,1X - 1,2 \times 10^{-3}X^2$	0,96
Média	3,7	3,4	3,3	3,7	3,5	3,5		CV = 18,2%	

No início do processo fermentativo (1 dia após a ensilagem) verificou-se teores de PB de 3,2; 3,9 e 4,0% para os níveis de inclusão de 0; 10 e 20% da TM, respectivamente. Entretanto, ao final da ensilagem (aos 60 dias), os teores de PB foram de 1,6; 3,0 e 5,8%, quando 0; 10 e 20% da TM foram adicionados à ensilagem, respectivamente. Observou-se que durante o processo fermentativo, as silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM) ocorreram maiores perdas de PB, esse decréscimo nos teores de PB ao longo dos tempos pode ser relacionado às reações que ocorreram no material ensilado durante o processo fermentativo, como exemplo a proteólise, que implica em perdas de compostos nitrogenados (LOURES *et al.*, 2003), e com a adição de 10% da TM verificou-se que estas perdas foram reduzidas, ao comparar o primeiro e último dia após a ensilagem. Baixos teores de PB reduzem o valor nutritivo dos alimentos, o que limita o seu uso na forma de silagem. Por sua vez, com o nível de inclusão de 20% da TM não foi observado perdas de PB (Tabela 5).

Ao considerar os níveis de inclusão da TM, observou-se que esse coproduto do biodiesel possibilitou incremento dos teores de PB, e o nível de inclusão de 20% proporcionou o maior teor de PB, alcançando ponto de máximo de 6,0% aos 47 dias de armazenamento das silagens.

Van Soest (1994) recomenda que os teores de PB nas silagens estejam acima de 7%, limite considerado crítico para o apropriado funcionamento do ambiente ruminal. A deficiência em nitrogênio reduz a atividade microbiana, o que pode afetar o consumo voluntário da forragem pelos animais e o coeficiente de digestibilidade da forrageira. Apesar da TM ter contribuído para a elevação dos teores de PB das silagens de capim-elefante, os níveis de inclusão utilizados foram insuficientes para alcançar o teor mínimo recomendado de PB. Esse fato foi decorrente dos baixos teores de PB presentes no material antes da ensilagem (Tabela 1).

### 6.2.3 Fibra em detergente neutro

Observou-se comportamento quadrático para os teores de FDN das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 6).

Os teores máximos estimados de FDN (67,4%) na silagem exclusiva de capim-elefante (0% da TM) foram encontrados aos 15 dias após a ensilagem, nas silagens com a adição de 10 e 20% da TM os teores máximos estimados de FDN foram de 60,4 e 54,2% aos 43 e 33 dias de fermentação, respectivamente.

**Tabela 6** - Teores de fibra em detergente neutro (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	67,2	66,8	67,3	68,4	65,7	64,9	66,7	$Y_0=67,1 + 4,1 \times 10^{-2}X - 1,4 \times 10^{-3}X^2$	0,86
10	57,3	59,7	58,5	60,8	60,1	59,5	59,3	$Y_{10}=57,8 + 0,2X - 2,3 \times 10^{-3}X^2$	0,78
20	53,3	53,1	53,0	55,3	53,3	53,7	53,6	$Y_{20}=53,1 + 6,7 \times 10^{-2}X - 1,0 \times 10^{-3}X^2$	0,45
Média	59,3	59,9	59,6	61,5	59,7	59,4		CV = 1,1%	

Verificou-se nos primeiros dias do processo fermentativo aumento dos teores de FDN e, posteriormente observou-se queda nesses teores com o avanço dos dias após a ensilagem em todos os níveis de inclusão da TM. Esse comportamento pode ser justificado pela utilização de parte da fibra, provavelmente a hemicelulose através dos microrganismos hemicelulolíticos, uma vez, que de acordo com Van Soest, (1994) a celulose, lignina juntamente com a hemicelulose são constituintes da FDN (insolúveis ou remanescentes em detergente neutro), esses determinam a concentração da parede celular da planta. Dessa forma, os microrganismos utilizaram a hemicelulose como substrato para a fermentação, principalmente quando ocorre baixa disponibilidade de carboidratos solúveis no material ensilado (EVANGELISTA *et al.*, 2009). Tal fato foi observado no presente trabalho, ou seja, na fase final de fermentação verificou-se baixa quantidade de carboidratos solúveis nas silagens de capim-elefante (Tabela 8), o que provavelmente desencadeou o consumo de hemicelulose como substrato pelos microrganismos durante o processo fermentativo, nos últimos tempos de abertura dos silos.

Ao considerar os níveis de inclusão da TM na ensilagem de capim-elefante, pode-se dizer que os teores médios de FDN foram maiores na silagem sem adição da TM, e que, à

medida que se elevou os níveis de inclusão da TM houve redução nos constituintes dessa fração, o que permite inferir que a TM contribuiu para o decréscimo dos teores de FDN, caracterizando-as de melhor qualidade, o que pode ser justificado pelo menor teor de FDN presente na TM em relação ao capim-elefante antes da ensilagem (Tabela 1). Sendo que o nível de inclusão de 20% da TM apresentou melhor resultado.

O teor de FDN é considerado importante parâmetro que pode indicar qualidade da forragem, pois altos teores prejudicam a ingestão de alimentos, em função do enchimento ruminal, correlacionando negativamente com o consumo voluntário pelos animais, ao passo que, menores teores dessa fração indicam fator positivo na nutrição de ruminantes, uma vez que ela é apontada como um dos principais reguladores do consumo por sua lenta degradação e reduzida taxa de passagem (BONFÁ *et al.*, 2017). Ademais, segundo Van Soest (1994), os teores de FDN acima de 60%, constituem um dos fatores limitantes do consumo de matéria seca, nesse trabalho as silagens adicionadas da TM (níveis de inclusão de 10 e 20%) apresentaram teores médios de FDN inferiores ao mencionado como limitante.

#### 6.2.4 Fibra em detergente ácido

A interação níveis x tempos apresentou comportamento quadrático para os teores de FDA das silagens de capim-elefante (Tabela 7).

**Tabela 7** - Teores de fibra em detergente ácido (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	34,8	34,9	35,2	36,0	34,5	34,1	34,9	$Y_0=34,8 + 4,8 \times 10^{-2}X - 1,0 \times 10^{-3}X^2$	0,79
10	29,7	31,0	30,2	32,2	31,7	31,2	31,0	$Y_{10}=29,8 + 0,1X - 1,7 \times 10^{-3}X^2$	0,83
20	28,8	29,1	28,4	30,6	28,5	29,0	29,1	$Y_{20}=28,8 + 4,1 \times 10^{-2}X - 7,0 \times 10^{-4}X^2$	0,40
Média	31,1	31,7	31,3	32,9	31,6	31,4		CV = 1,6%	

Os teores de FDA obtiveram comportamento semelhante ao dos teores de FDN, inicialmente aumentaram e ao final do processo fermentativo verificou-se queda nos constituintes dessas frações. Os maiores teores de FDA estimados nas silagens exclusivas de capim-elefante foram aos 24 dias após a ensilagem com teores de 35,4%. Nas silagens com

níveis de inclusão de 10 e 20% da TM os teores máximos estimados de FDA foram de 31,3 e 29,4%, respectivamente, ambos observados aos 29 dias (Tabela 7).

Em relação à adição da TM na ensilagem de capim-elefante, verificou-se que as silagens com níveis de inclusão de 10 e 20% da TM obtiveram menores teores de FDA em relação às silagens sem adição da TM (Tabela 7), esse fato é decorrente dos teores observados nos materiais antes de serem ensilados, uma vez que a TM apresentou menores teores de FDA do que o capim-elefante (Tabela 1). Com isso, confirmou-se a importância da utilização desse coproduto do biodiesel na ensilagem de capim-elefante, o que favoreceu o decréscimo dos constituintes da parede celular, uma vez que o teor de FDA determina a qualidade da parede celular e expressa a fração insolúvel e menos digestível desta (celulose e lignina – insolúveis ou remanescentes em detergente ácido) (VAN SOEST, 1994), ou seja, quanto maior o teor de FDA de um determinado alimento, menor a digestibilidade.

### 6.2.5 Carboidratos solúveis

Observou-se comportamento quadrático para os teores de CHOS das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 8).

**Tabela 8** - Teores de carboidratos solúveis (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,38	0,19	0,12	0,08	0,05	0,05	0,15	$Y_0=0,3 - 1,5 \times 10^{-2}X + 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,90
10	0,32	0,18	0,11	0,07	0,03	0,03	0,12	$Y_{10}=0,3 - 1,3 \times 10^{-2}X + 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,93
20	0,29	0,18	0,09	0,06	0,03	0,02	0,11	$Y_{20}=0,3 - 1,2 \times 10^{-2}X + 1,0 \times 10^{-4}X^2$	0,93
Média	0,33	0,18	0,11	0,07	0,04	0,03		CV = 11,8%	

Os teores de CHOS das silagens de capim-elefante reduziram com o avanço dos dias após a ensilagem em todos os níveis de inclusão da TM, alcançando teores muito baixos nos últimos tempos de abertura dos silos, o que evidenciou que houve consumo de CHOS para o metabolismo dos microrganismos durante o processo fermentativo do material ensilado (Tabela 8), principalmente pelas BAL para produção do ácido lático, no qual houve predominância da fermentação láctica (Tabela 17) e, conseqüentemente redução do pH, conforme será discutido adiante.

O capim-elefante e a TM antes da ensilagem apresentaram teores de CHOS de 0,42 e 0,13%, respectivamente (Tabela 1), o que permitiu apontar que a contribuição da TM para os teores de CHOS não foi expressiva. Ao considerar apenas os níveis de inclusão da TM nas silagens de capim-elefante, verificou-se redução dos teores de CHOS em função da adição da TM nas silagens (Tabela 8), o que pode ser justificado pela quantidade inicial de CHOS nas misturas do capim-elefante e TM antes da ensilagem (Tabela 1).

As silagens de capim-elefante adicionadas ou não da TM apresentaram teores muito baixos de CHOS, e, com o avançar dos tempos de armazenamento esses teores foram ainda menores, praticamente nulos, com isso os microrganismos provavelmente passaram a utilizar a hemicelulose como substrato, para ocorrência do processo fermentativo, tal fato foi comprovado pela redução dos teores de FDN nos últimos dias avaliados após a ensilagem, sendo que a hemicelulose é um dos seus constituintes (Tabela 6).

Menores teores de CHOS foram encontrados por Bonfá *et al.* (2017), em capim-elefante antes da ensilagem (0,27%) e na silagem exclusiva de capim-elefante (0,03%), porém o capim-elefante foi colhido aos 150 dias de crescimento, no presente trabalho os respectivos teores encontrados foram de 0,42 e 0,15%. Contudo, os teores de CHOS verificados na torta de macaúba (0,37%) antes da ensilagem utilizado por Morais (2012) foram maiores que o encontrado no presente trabalho (0,13%).

### **6.2.6 Extrato etéreo**

Na interação níveis x tempos verificou-se comportamento quadrático para os teores de EE das silagens de capim-elefante (Tabela 9).

O teor máximo estimado de EE encontrado nas silagens exclusivas de capim-elefante foi de 6,9% aos 38 dias, com a adição de 10 e 20% da TM os teores máximos estimados foram de 8,2 e 11,8% aos 40 e 39 dias, respectivamente (Tabela 9).

Ao considerar os níveis de inclusão da TM, observou-se que à medida que adicionou a TM houve aumento dos teores médios de EE das silagens de capim-elefante (Tabela 9), o que é evidenciado pelos teores de EE presentes no material antes da ensilagem, em que a TM possui maior teor de EE em relação ao capim-elefante (Tabela 1). O teor de EE das tortas oriundas da produção de biodiesel é dependente da forma de extração, além do tipo de prensa utilizada, ou seja, é em função da eficiência da prensagem, da extração mecânica para obtenção do óleo bruto para produção do biodiesel (ABDALA *et al.*, 2008; BOMFIM *et al.*, 2009).

**Tabela 9** - Teores de extrato etéreo (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	3,8	5,2	5,5	6,6	6,9	6,4	5,7	$Y_0=4,1 + 0,2X - 2,1 \times 10^{-3}X^2$	0,97
10	5,3	6,7	6,1	8,0	8,5	7,2	7,0	$Y_{10}=5,3 + 0,2X - 2,4 \times 10^{-3}X^2$	0,93
20	9,6	10,9	9,9	11,3	12,4	11,6	11,0	$Y_{20}=9,6 + 0,2X - 1,40 \times 10^{-3}X^2$	0,88
Média	6,2	7,6	7,2	8,6	9,3	8,4		CV = 5,3%	

As silagens de capim-elefante aditivadas de 20% da TM devem ser utilizadas com cautela, não sendo recomendada para uso como volumoso único, pois os teores médios de EE encontrados foram superiores a 7% na MS (Tabela 9), limite este considerado crítico para ruminantes, o que pode comprometer o consumo de MS e reduzir a digestibilidade da fibra (NRC, 2001), altas proporções de extrato etéreo na dieta afetam negativamente o processo fermentativo do rúmen, pois a gordura recobre as partículas dos alimentos, especialmente a fração fibrosa dos volumosos, limitando sua digestão pela toxidez ocasionada aos microrganismos, reduzindo ainda a atividade enzimática destes microrganismos (FÉRNANDEZ *et al.*, 2000).

Dessa forma, as silagens com adição de 20% da TM, podem ser utilizadas na alimentação animal, porém, devem ser fornecidas junto a outros alimentos com concentração de EE menor. Nas silagens com a adição de 10% da TM, se fornecida aos animais de forma exclusiva, recomenda-se utilizar esse volumoso a partir dos 60 dias do processo fermentativo, pois apesar dos teores de EE estarem abaixo do limite crítico nos primeiros dias após a ensilagem, o processo fermentativo ainda não havia se estabilizado, conforme parâmetros avaliados.

### 6.2.7 Nitrogênio amoniacal

Observou-se comportamento linear crescente para os teores de  $N-NH_3$  (% do NT) das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 10).

Os teores de  $N-NH_3$  das silagens de capim-elefante elevaram-se com o avanço dos processos fermentativos em todos os níveis de inclusão da TM (Tabela 10). Nas silagens exclusivas de capim-elefante os teores estimados variaram de 2,0 a 3,9%, e, nas silagens com níveis de inclusão de 10 e 20% da TM os teores estimados de  $N-NH_3$  variaram de 1,6 a 3,5% e

de 1,1 a 2,8%, respectivamente. O que permite salientar que, possivelmente esse aumento dos teores de nitrogênio amoniacal com o avanço dos tempos de armazenamento, pode ter sido consequência da baixa disponibilidade de CHOS ao longo dos tempos, ou seja, estes substratos foram consumidos pelos microrganismos para seu metabolismo e com isso nos últimos dias de fermentação apresentavam teores baixíssimos a praticamente nulos de CHOS (Tabela 8), no entanto, as BAL podem ter utilizado aminoácidos como fonte primária para crescimento e metabolismo. De acordo com Pahlow *et al.* (2003) as BAL não são proteolíticas, mas podem utilizar os aminoácidos quando o aporte de nutrientes é baixo, sendo imprescindível nessa situação o suprimento extra de nutrientes.

**Tabela 10** - Teores de nitrogênio amoniacal (% do NT) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	1,4	2,5	2,7	2,4	3,7	3,7	2,7	$Y_0=2,0 + 3,3 \times 10^{-2} X$	0,87
10	1,1	1,8	2,3	2,2	3,6	3,0	2,3	$Y_{10}=1,6 + 3,2 \times 10^{-2} X$	0,83
20	0,7	1,4	1,5	1,9	1,8	2,9	1,7	$Y_{20}=1,1 + 2,9 \times 10^{-2} X$	0,91
Média	1,1	1,9	2,2	2,2	3,0	3,2		CV = 9,7%	

Ao analisar os níveis de inclusão da TM, verificou-se que as silagens exclusivas de capim-elefante apresentaram maior teor de N-NH<sub>3</sub>, com isso constatou-se a importância desse coproduto do biodiesel na ensilagem de capim-elefante, uma vez que houve redução dos teores de N-NH<sub>3</sub> em função da adição da TM, o que representa um fator positivo na qualidade das silagens, tal fato pode ser evidenciado pela redução da umidade do material ensilado (Tabela 4) proporcionada pelo alto teor de MS da TM, com consequente redução da população microbiana indesejável, responsáveis pela proteólise.

Durante o processo fermentativo dentro dos silos ocorre a degradação de compostos proteicos (proteína verdadeira, peptídeos, aminoácidos, amins e amidas) a amônia pelas bactérias do gênero *Clostridium* (CÂNDIDO *et al.*, 2007). Esta amônia formada, além de inibir o consumo da silagem pelos animais, apresenta baixa eficiência na utilização do nitrogênio para a síntese proteica pelos microrganismos do rúmen, altera o curso da fermentação, impedindo ou dificultando a rápida queda nos valores de pH do material ensilado (MCKERSIE, 1985 *apud* TOMICH, 2003). Em silagens bem conservadas os aminoácidos constituem a maior parte da fração do nitrogênio não proteico e a amônia está

presente em baixas concentrações (VAN SOEST, 1994). Portanto, quanto maior o teor de N-NH<sub>3</sub> nas silagens, menor a qualidade da silagem produzida. No presente trabalho, os teores de ácido butírico foram muito baixos a nulos (Tabela 19), uma vez que, o ácido butírico é um dos principais produtos finais do metabolismo das bactérias do gênero *Clostridium*, que são as principais responsáveis pela ocorrência da proteólise.

Quando não ocorrem condições ácidas suficientes no material ensilado para que promovam inibição do desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, pode ocorrer a proteólise durante o processo fermentativo. Contudo, nesse trabalho observou-se redução do pH em níveis desejáveis, com predominância de BAL que são responsáveis pela produção de ácido láctico com consequente queda do pH, principalmente nas silagens com adição da TM.

Segundo Evangelista *et al.* (2004), os teores de N-NH<sub>3</sub> juntamente aos valores de pH, promovem indicativo da forma como se processou a fermentação no material ensilado, conforme Muck (1988) silagens com teor de N-NH<sub>3</sub> abaixo de 10% do NT são consideradas de boa qualidade, ou seja, o processo fermentativo resultou em baixa degradação de proteína em amônia com preservação das proteínas e compostos nitrogenados. Na Tabela 10, observou-se baixos teores de N-NH<sub>3</sub>, principalmente nas silagens com adição da TM, o que sinalizou redução de fermentações indesejáveis frente a esses teores obtidos, o que também pode ser atribuída pela elevação do teor de MS, o que deixou o ambiente menos propício a atividade de bactérias do gênero *Clostridium*, com melhoria das características fermentativas das silagens de capim-elefante.

### **6.3 População microbiana das silagens**

Observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão da TM e da interação níveis x tempos sobre a população de bactérias ácido lácticas (BAL) das silagens de capim-elefante. As populações de enterobactérias (Entero) e de fungos filamentosos (FF) foram afetadas significativamente pelos tempos de abertura dos silos e pela interação níveis x tempos. Quanto aos fungos leveduriformes (FL), observou-se efeitos significativos em função dos níveis de inclusão da TM, tempos de abertura dos silos e da interação níveis x tempos (Tabela 11).

**Tabela 11** - Análise de variância da quantificação da população microbiana (log ufc/g) das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P			
		BAL	Entero	FL	FF
Níveis de inclusão	2	<0,001	0,113	<0,001	1,0
Tempos de abertura	5	0,09	<0,001	<0,001	0,003
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001	0,040
Média		6,9	1,9	2,9	5,2

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade, P: nível de significância.

BAL: bactérias ácido lácticas; Entero: enterobactérias; FL: fungos leveduriformes; FF: fungos filamentosos.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

### 6.3.1 Bactérias ácido lácticas

Para a população das BAL das silagens de capim-elefante, observou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos (Tabela 12).

A população das BAL das silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM) foi menor em todos os tempos de abertura ao comparar com a adição de 10 e 20% da TM. Somente aos 60 dias verificou-se população de BAL de 6,7 log ufc/g na silagem exclusiva de capim-elefante, nos demais níveis de inclusão, desde o primeiro dia de ensilagem esta contagem das BAL já estava superior (Tabela 12).

**Tabela 12** - População de bactérias ácido lácticas (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	6,4	5,6	5,4	5,9	5,8	6,7	6,0	$Y_0 = 6,1 - 4,1 \times 10^{-2}X + 9,0 \times 10^{-4}X^2$	0,80
10	7,2	7,0	6,8	7,1	6,8	7,2	7,0	$Y_{10} = 7,1 - 2,0 \times 10^{-2}X + 3,0 \times 10^{-4}X^2$	0,65
20	8,1	7,9	7,5	7,8	7,6	8,0	7,8	$Y_{20} = 8,0 - 3,0 \times 10^{-2}X - 5,0 \times 10^{-4}X^2$	0,75
Média	7,2	6,8	6,6	6,9	6,7	7,3		CV = 4,5%	

O comportamento dessa população microbiana em função dos níveis de inclusão da TM acompanhou a elevação do teor de MS das silagens de capim-elefante, o que contribuiu para o processo fermentativo e favoreceu o desenvolvimento das BAL. A quantificação dessa população microbiana é importante, pois a produção de ácido láctico por

esses microrganismos promove a redução do pH com acidificação do meio, proporcionando a preservação do material ensilado.

A população média de BAL variou de 6,0 a 7,8 log ufc/g de silagem, com a adição da TM (Tabela 12). Essa elevação pode ser justificada pelo favorecimento do crescimento desses microrganismos com a adição da TM (Tabela 2). Os incrementos foram de 16,7 e 30,0% nos níveis de 10 e 20% da TM, respectivamente, comparada à silagem exclusiva de capim-elefante.

### 6.3.2 Enterobactérias

Comportamento quadrático foi observado para a população de enterobactérias das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 13).

Verificou-se que, na fase inicial do processo fermentativo do material ensilado, foi encontrado enterobactérias, e, posteriormente estas não foram mais encontradas dentro dos silos, nos três níveis de inclusão da TM e ao longo dos tempos de abertura (Tabela 13).

**Tabela 13** - População de enterobactérias (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	6,1	5,8	ND	ND	ND	ND	2,4	$Y_0=5,9 - 0,4X + 4,7 \times 10^{-3}X^2$	0,86
10	4,2	5,7	ND	ND	ND	ND	1,6	$Y_{10}=4,8 - 0,3X + 3,6 \times 10^{-3}X^2$	0,81
20	4,7	3,0	4,8	ND	ND	ND	2,1	$Y_{20}=5,0 - 0,2X + 2,6 \times 10^{-3}X^2$	0,88
Média	5,0	4,8	1,6	ND	ND	ND		CV = 39,8%	

ND: não detectado.

A ocorrência dessa população microbiana nos primeiros dias de ensilagem era esperada, uma vez que os valores de pH ainda estavam altos na fase inicial; com o decréscimo do pH, notou-se que as enterobactérias também decresceram até não serem mais encontradas no meio, visto que o desenvolvimento desse grupo de bactérias é inibido em baixo pH.

Conforme relato de Muck (1996), as enterobactérias desenvolvem intensivamente durante os primeiros dias de ensilagem, decrescendo de forma rápida, à medida que o meio é acidificado, ou seja, quando as silagens atingem baixos valores de pH. Neste trabalho, os métodos de ensilagem adotados promoveram rápida e satisfatória queda dos valores de pH das

silagens de capim-elefante, contribuindo para a redução do desenvolvimento de enterobactérias.

Verificou-se que, nas silagens exclusivas de capim (0% da TM), nos tempos 1 e 5 (dias após a ensilagem), a população de Entero foi maior, quando comparada com as silagens adicionadas de 10 e 20% da TM (Tabela 8), o que pode ser justificado pela maior presença de enterobactérias no capim-elefante antes da ensilagem (Tabela 2). Contudo, a contagem prolongou-se somente até o décimo dia na silagem que foi acrescida 20% da TM. Estes resultados permitem inferir que a competição das enterobactérias com as BAL pelo substrato, pode ter ocorrido somente na fase inicial do processo fermentativo.

O desenvolvimento das Entero é indesejável, pois possuem potencial de fermentar carboidratos a ácido acético, podendo competir com as BAL pelo substrato e apresentam capacidade de degradar aminoácidos, reduzindo o valor nutritivo da silagem, além de produzirem aminas e ácidos graxos ramificados com conseqüente redução de aceitabilidade desse alimento pelos animais. A amônia formada por proteólise aumenta a capacidade tampão do material ensilado, diminuindo a velocidade de redução do pH da silagem (MCDONALD *et al.*, 1991).

### **6.3.3 Fungos leveduriformes**

Na interação níveis x tempos foi observado comportamento quadrático para os FL (Tabela 14).

A maior população de FL das silagens de capim-elefante (ponto de máximo estimado) foi de 3,91; 4,10 e 3,68 log ufc/g de silagem obtida aos 18; 1 e 20 dias após a ensilagem com adição de 0; 10 e 20% da TM, respectivamente. Posteriormente a esses períodos, verificou-se que ocorreram decréscimos na população de FL em todos os níveis de inclusão e ao longo dos tempos de abertura dos silos, e que por sua vez, não foi detectado presença desses microrganismos no último tempo de abertura, aos 60 dias, após a ensilagem (Tabela 14).

O maior n° de log ufc/g de silagem de FL com adição de 10% da TM no primeiro dia de abertura dos silos pode ser associada à população epífita de FL presente no material antes da ensilagem (Tabela 2). Observou-se que, a partir de 15 dias de armazenamento, a população de FL foi maior na silagem sem adição de TM, comparada aos demais tratamentos, o que evidencia que esse coproduto do biodiesel foi eficiente em reduzir o desenvolvimento

de FL das silagens de capim-elefante ao longo dos tempos de abertura dos silos, favorecendo o processo fermentativo.

**Tabela 14** - População de fungos leveduriformes (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	4,0	3,1	3,1	3,7	3,5	ND	2,9	$Y_0=3,2 + 7,7 \times 10^{-2}X - 2,1 \times 10^{-3}X^2$	0,93
10	5,4	3,1	3,2	3,5	3,2	ND	3,1	$Y_{10}=4,1 - 9,0 \times 10^{-4}X - 1,0 \times 10^{-3}X^2$	0,85
20	2,8	3,6	3,7	2,8	3,5	ND	2,7	$Y_{20}=2,8 + 8,9 \times 10^{-2}X - 2,2 \times 10^{-3}X^2$	0,92
Média	4,1	3,3	3,3	3,4	3,4	ND		CV = 12,3%	

ND: não detectado.

O postulado de Chamberlain (1987) *apud* Rodrigues *et al.* (2005) menciona que a rápida acidificação da silagem pode favorecer o desenvolvimento de fungos leveduriformes não sensíveis ao baixo pH e promover, portanto, a fermentação de açúcares a etanol, e, segundo McDonald *et al.* (1991), alguns tipos destes fungos podem se desenvolver em baixas concentrações de oxigênio. No presente trabalho, observou-se a rápida queda nos valores de pH, o que pode ter acarretado a existência de fungos leveduriformes no meio. Contudo, a contagem de FL das silagens foi considerada baixa, sendo menores que as encontradas por Gonçalves *et al.* (2014) e Cardoso *et al.* (2016) em silagens exclusivas de capim-elefante. Outro fator que serve de embasamento para considerar que a população de fungos leveduriformes foi baixa, foi a pequena produção de etanol encontrada nas silagens avaliadas no presente trabalho (Tabela 23).

A presença de fungos leveduriformes no meio é indesejável, pois consomem os carboidratos solúveis, reduzindo a quantidade desses compostos no material ensilado, conseqüentemente afetando o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas, promovendo elevação de outras frações do volumoso, principalmente as fibrosas (EVANGELISTA *et al.*, 2009). Em condições de aerobiose, os microrganismos podem degradar o ácido láctico a  $CO_2$  e  $H_2O$ , permitindo que ocorra o aumento do pH da silagem, favorecendo o desenvolvimento de outros microrganismos (MCDONALD *et al.*, 1991).

### 6.3.4 Fungos filamentosos

Verificou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos para a população de FF das silagens de capim-elefante (Tabela 15).

Considerando a silagem exclusiva de capim-elefante (0% da TM), a maior contagem (ponto de máximo) estimada de FF (5,3 log ufc/g de silagem) foi encontrada aproximadamente aos 27 dias. Nos níveis de inclusão de 10 e 20% da TM as maiores populações estimadas (pontos de máximo) foram de 5,3 e 5,2 log ufc/g de silagem, aos 23 e 22 dias, respectivamente (Tabela 15). Após esse período, a população de FF reduziu nos níveis de inclusão ao longo dos tempos de abertura. Na fase inicial do processo fermentativo, ou seja, nos primeiros tempos de abertura, verificou-se que a população de FF não variou muito em função dos diferentes níveis de inclusão, o que pode ser fundamentado na quantidade inicial de FF do material antes da ensilagem (Tabela 2).

**Tabela 15** - População de fungos filamentosos (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	5,1	5,3	5,3	5,2	5,2	4,9	5,2	$Y_0=5,1 + 1,0 \times 10^{-2}X - 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,81
10	5,1	5,2	5,3	5,1	5,3	4,7	5,1	$Y_{10}=5,1 + 1,8 \times 10^{-2}X - 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,90
20	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,0	5,2	$Y_{20}=5,2 + 8,7 \times 10^{-3}X - 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,96
Média	5,1	5,2	5,3	5,2	5,2	4,9		CV = 4,0%	

No último tempo de abertura dos silos, aos 60 dias, a menor quantificação foi obtida com a inclusão de 10% da TM na ensilagem. Apontando que esse percentual de adição da TM seja mais efetivo para reduzir o número de FF das silagens de capim-elefante. Contudo, os valores observados foram baixos em todos os níveis de inclusão, principalmente na fase final do processo fermentativo, não comprometendo a qualidade das silagens.

A deterioração da silagem está relacionada especialmente pela população dos fungos, por degradarem uma ampla variedade de substratos, inclusive os carboidratos estruturais. Os fungos podem degradar açúcares e o ácido lático pela via da respiração, algumas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, crescem em silagens onde há penetração de ar, no qual contribuem para as perdas de forragem na superfície do silo durante o descarregamento e em casos de compactação e vedação inadequados, estes

produzem toxinas muito prejudiciais aos animais e ao homem. Assim como nos fungos leveduriformes, algumas espécies de fungos filamentosos podem crescer a baixos níveis de oxigênio (MCDONALD *et al.*, 1991). Mas no presente trabalho, as quantidades encontradas foram consideradas baixas.

Dessa forma, as baixas quantidades de fungos leveduriformes e filamentosos nas silagens de capim-elefante, provavelmente devem-se ao efeito inibitório causado pelo ácido acético (Tabela 18), que apresentaram comportamentos contrários, ou seja, à medida que aumentou a produção de ácido acético, houve redução da população dos fungos leveduriformes e filamentosos.

#### 6.4 Ácidos orgânicos das silagens

Para os teores de ácido lático e acético das silagens de capim-elefante observou-se efeito significativo dos tratamentos bem como da interação níveis x tempos, para os teores de ácido butírico observou-se efeito dos tempos de abertura dos silos e interação níveis x tempos (Tabela 16).

**Tabela 16** - Análise de variância dos ácidos orgânicos das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P		
		AL	AA	AB
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	0,08
Tempos de abertura	5	<0,001	<0,001	<0,001
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001
Média		4,0	0,1	0,01

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: nível de significância.

AL: ácido lático; AA: ácido acético; AB: ácido butírico.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

##### 6.4.1 Ácido lático

Em relação à interação níveis x tempos dos teores de ácido lático das silagens de capim-elefante, verificou-se comportamento quadrático (Tabela 17).

Observou-se que, a partir dos 40 dias de ensilagem, os teores de ácido lático foram maiores no material ensilado com 20% da TM (Tabela 17), o que provavelmente está relacionado à maior atividade das BAL, responsáveis pela produção destes ácidos. Verificou-

se que a fermentação láctica foi realizada preferencialmente por bactérias ácido lácticas homofermentativas, em função da produção de ácido láctico, que são as principais responsáveis pela produção desses ácidos, contudo, não foi feita a caracterização desse grupo microbiano.

**Tabela 17** – Teores de ácido láctico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	2,2	3,6	4,0	4,9	3,3	4,2	3,7	$Y_0=2,9 + 8,5 \times 10^{-2}X - 1,1 \times 10^{-3}X^2$	0,59
10	1,8	4,1	4,3	4,4	3,9	5,6	4,0	$Y_{10}=3,0 + 5,9 \times 10^{-2}X - 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,70
20	1,0	3,7	4,5	4,5	4,5	7,3	4,2	$Y_{20}=2,4 + 0,1X - 5,0 \times 10^{-4}X^2$	0,84
Média	1,7	3,8	4,3	4,6	3,9	5,7		CV = 12,1%	

As maiores produções de ácido láctico das silagens de capim-elefante ocorreram aos 60 dias nos níveis de inclusão da TM de 10 e 20%. Ao considerar os tempos de abertura dos silos, a produção média de ácido láctico elevou-se ao comparar o primeiro dia e 60 dias após a ensilagem (Tabela 17).

A taxa de produção de ácido láctico é um fator imprescindível na inibição do crescimento de bactérias indesejáveis e na redução das perdas durante o processo fermentativo, uma vez que a produção desse ácido é dependente da população inicial de bactérias ácido lácticas no momento do processo de ensilagem e da quantidade presente de substrato (MCDONALD & HENDERSON, 1981), além de ser o principal responsável pela redução do pH mais rapidamente, por se tratar de um ácido mais forte do que os demais.

A silagem exclusiva de capim-elefante (0% da TM) apresentaram teor médio de ácido láctico (3,7%) (Tabela 17), semelhante ao reportado em diversos trabalhos (SANTOS *et al.*, 2008; ZANINE *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2011), que também necessitaram utilizar aditivos na ensilagem para fins de melhoria do processo fermentativo.

A adição da TM na ensilagem de capim-elefante, promoveu elevação dos teores de ácido láctico, o que justifica a importância da adição do coproduto do biodiesel na ensilagem. Os teores obtidos nas silagens adicionadas com TM estão dentro do intervalo considerado adequado, acima de 4%, para obtenção de silagem de boa qualidade, conforme Vieira *et al.* (2004), em compilação de dados para avaliação de silagens.

### 6.4.2 Ácido acético

Os teores de ácido acético encontrados nas silagens de capim-elefante tiveram comportamento linear crescente em função da interação níveis x tempos, em que os teores de ácido acético aumentaram com os níveis de inclusão da TM ao longo dos tempos de abertura dos silos (Tabela 18).

Os teores observados de ácido acético das silagens de capim-elefante variaram de 0,03 a 0,17% na silagem exclusiva de capim-elefante (0% da TM), de 0,04 a 0,19% com adição de 10% da TM, e de 0,02 a 0,25% com a inclusão de 20% da TM, ao longo dos tempos de abertura dos silos (Tabela 18).

**Tabela 18** - Teores de ácido acético (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,03	0,06	0,07	0,10	0,07	0,17	0,08	$Y_0=4,3 \times 10^{-2} + 1,8 \times 10^{-3} X$	0,85
10	0,04	0,09	0,12	0,13	0,13	0,19	0,12	$Y_{10}=7,4 \times 10^{-2} + 1,9 \times 10^{-3} X$	0,88
20	0,02	0,10	0,12	0,14	0,14	0,25	0,13	$Y_{20}=6,2 \times 10^{-2} + 2,8 \times 10^{-3} X$	0,88
Média	0,03	0,08	0,10	0,12	0,11	0,20		CV = 13,3%	

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, verificou-se maior produção de ácido acético à medida que avançaram o processo fermentativo. Constatou-se que, a inclusão da TM afetou os processos que ocorreram nos silos ao longo dos tempos de abertura, sendo verificados maiores teores desse ácido aos 60 dias (Tabela 18).

Ao considerar os níveis de inclusão da TM, observou-se que os menores teores foram observados quando a silagem foi exclusiva de capim-elefante (0% da TM), seguido de 10% da TM, e que, os níveis de inclusão de 20% da TM proporcionaram maiores produções médias de ácido acético (Tabela 18).

Os teores encontrados em todos os níveis de inclusão da TM e tempos de abertura dos silos foram inferiores a 0,8%, considerado um fator positivo, pois de acordo com Rodrigues *et al.* (2005), teores acima deste limite crítico relaciona-se às alterações indesejáveis durante o processo de ensilagem.

A produção de ácido acético encontrada nas silagens provavelmente não foi totalmente originada das enterobactérias, uma vez que esses microrganismos reduziram até

não serem detectados no material ensilado, sendo produzida apenas na fase inicial da fermentação (Tabela 13). Porém, a produção do ácido acético elevou-se à medida que houve o avanço dos tempos de abertura dos silos, contudo, os comportamentos foram inversos, o que pode inferir que as enterobactérias contribuíram apenas na fase inicial para a produção do ácido acético.

As BAL heterofermentativas, provavelmente foram as responsáveis pela maior produção do ácido acético das silagens de capim-elefante. Tal fato pode ser alicerçado pelo comportamento semelhante que obtiveram em função dos níveis de inclusão da TM (Tabela 12). Contudo, há necessidade de identificação das BAL em homo e heterofermentativas para comprovar que a maioria da produção de ácido acético foi de fato advinda das BAL heterofermentativas, servindo apenas de subsídios para o resultado encontrado.

O ácido acético apresenta o potencial de ser inibidor de fungos filamentosos e leveduriformes, microrganismos estes precursores da degradação aeróbia das silagens e responsáveis pelo consumo de carboidratos no processo com a liberação de CO<sub>2</sub> resultante de seu metabolismo (MCDONALD *et al.*, 1991; DANNER *et al.* 2003). A capacidade inibidora do ácido acético nos fungos leveduriformes e filamentosos foram observadas uma vez que apresentaram comportamento inverso (Tabelas 14 e 15), à medida que aumentou o ácido acético ocorreu redução de fungos leveduriformes e filamentosos, que são prejudiciais ao processo fermentativo. É possível, assim, apontar que o ácido acético contribuiu para a melhoria da conservação do material ensilado através do impedimento do maior desenvolvimento desses microrganismos indesejáveis, pelo seu efeito inibitório.

#### **6.4.3 Ácido butírico**

Observou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos para os teores de ácido butírico das silagens de capim-elefante (Tabela 19).

A partir de 10 dias de armazenamento, na silagem exclusiva de capim-elefante (0% deaTM) não observou-se teores de ácido butírico, e a partir do quinto dia da ensilagem não foi encontrado produção de ácido butírico nas silagens de capim-elefante com adição de 10 e 20% da TM (Tabela 19).

De forma geral, verificou-se que os teores de ácido butírico encontrados são baixos, pois segundo Ferreira (2001), teores de até 0,1% de ácido butírico são considerados adequados. Os baixos conteúdos desse ácido orgânico permitem confirmar que houve controle mais efetivo da fermentação clostrídica, indicando boa qualidade das silagens de capim-

elefante. Tal fato pode ser comprovado pela predominância do ácido láctico durante o processo fermentativo, conseqüentemente rápida queda do pH, razoáveis teores de ácido acético e baixos teores de ácido butírico no meio.

**Tabela 19** – Teores de ácido butírico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,01	0,05	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01	$Y_0=2,6 \times 10^{-2} - 1,4 \times 10^{-3}X + 1,7 \times 10^{-5}X^2$	0,61
10	0,06	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01	$Y_{10}=3,2 \times 10^{-2} - 2,3 \times 10^{-3}X + 3,1 \times 10^{-5}X^2$	0,67
20	0,08	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01	$Y_{20}=4,4 \times 10^{-2} - 3,2 \times 10^{-3}X + 4,3 \times 10^{-5}X^2$	0,67
Média	0,05	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0		CV = 36,9%	

As bactérias do gênero *Clostridium* são as responsáveis pela produção de ácido butírico, que promovem fermentações secundárias indesejáveis, degradação de proteína e de ácido láctico, caracterizando silagens de baixa qualidade (MCDONALD *et al.*, 1991). Além disso, reduz o valor nutritivo das silagens e elevam os valores de pH com a redução dos teores de ácido láctico do meio, contudo, provavelmente houve maior controle do desenvolvimento desses microrganismos principalmente na fase final do processo fermentativo, inferência feita baseada na produção do ácido butírico, porém, não foi realizado a quantificação das bactérias do gênero *Clostridium*.

### 6.5 Potencial Hidrogeniônico – pH das silagens

Verificou-se efeito dos níveis de inclusão da TM, dos tempos de abertura dos silos e da interação níveis x tempos sobre o valor de pH das silagens de capim-elefante (Tabela 20).

**Tabela 20** - Análise de variância de pH das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P
		pH
Níveis de inclusão	2	<0,001
Tempos de abertura	5	<0,001
NI x TA	10	<0,001
Média		4,1

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: nível de significância.

pH: potencial hidrogeniônico. Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

Os valores de pH das silagens de capim-elefante apresentaram comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos (Tabela 21).

O menor valor estimado de pH encontrado nas silagens de capim-elefante para o nível de inclusão de 0% da TM foi de 3,6 aos 43 dias, contudo, com adição de 10% da TM o menor valor estimado de pH foi de 3,7 aos 49 dias e com incremento de 20% da TM o pH apresentou ponto de mínimo estimado de 3,5 aos 41 dias (Tabela 21).

**Tabela 21** – Valores de pH das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	5,2	4,3	4,1	3,9	3,9	3,8	4,2	$Y_0=4,9 - 6,0 \times 10^{-2}X + 7,0 \times 10^{-4}X^2$	0,85
10	4,9	4,2	4,1	4,1	4,0	3,8	4,2	$Y_{10}=4,7 - 3,9 \times 10^{-2}X + 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,84
20	4,6	4,1	3,8	3,7	3,8	3,8	4,0	$Y_{20}=4,4 - 4,1 \times 10^{-2}X + 5,0 \times 10^{-4}X^2$	0,86
Média	4,9	4,2	4,0	3,9	3,9	3,8		CV = 1,3%	

No primeiro dia do processo fermentativo, os valores de pH foram maiores na silagem exclusiva (0% da TM), seguida dos níveis de inclusão de 10% e 20% da TM, em conformidade com os valores iniciais de pH do material antes da ensilagem (Tabela 2). Posteriormente, observou-se rápido declínio dos valores de pH das silagens de capim-elefante em função dos tempos de abertura dos silos, em dias após a ensilagem, principalmente com adição de 20% da TM e, na fase final da fermentação ocorreu estabilização (Tabela 21).

Em relação aos níveis de inclusão da TM, pode-se visualizar que o menor valor de pH foi verificado com o maior nível de inclusão da TM (20%), enfatizando que a TM foi

efetiva na promoção da redução de pH, que por sua vez, está diretamente relacionado com a conservação do material ensilado (Tabela 21).

Os valores médios de pH obtidos nos níveis de inclusão da TM, estão de acordo com McDonald *et al.* (1991). Os mesmos autores propuseram intervalo dos valores de pH de 3,8 a 4,2 para que ocorra uma boa fermentação do material ensilado, promovendo uma silagem bem conservada. Entretanto, o pH não deve ser estudado de forma isolada como parâmetro de uma fermentação desejável, pois seu efeito inibidor de microrganismos indesejáveis depende de outros fatores, como exemplo, a velocidade de redução do pH e do conteúdo de umidade do material ensilado (COAN *et al.*, 2007).

Os resultados implicam que a TM, além de promover aumento do teor de matéria seca (Tabela 4), favoreceu o desenvolvimento de BAL (Tabela 12) e elevação da produção de ácido lático (Tabela 17), com conseqüente queda nos valores de pH (Tabela 21). De modo geral, o incremento da TM na ensilagem de capim-elefante melhorou o perfil fermentativo e a preservação do material ensilado.

## 6.6 Etanol das silagens

Observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão da TM e tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, assim como da interação níveis x tempos para os teores de etanol das silagens de capim-elefante (Tabela 22).

**Tabela 22** - Análise de variância de etanol das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) de torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P
		Etanol
Níveis de inclusão	2	<0,001
Tempos de abertura	5	<0,001
NI x TA	10	<0,001
Média		0,09

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: p-valor.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

Verificou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos para os teores de etanol das silagens de capim-elefante (Tabela 23).

Os teores de etanol aumentaram ao se comparar no primeiro dia e aos 60 dias após o processo fermentativo em todos os níveis de inclusão da TM. Contudo, os teores de etanol

encontrados permitem apontar que as produções foram baixas, conforme compilação de dados realizada por Vieira *et al.* (2004), em que é considerado silagem de boa qualidade quando o teor de etanol é menor que 0,1% na MS para silagem de milho e sorgo. Os dados verificados na literatura de etanol nas silagens exclusivas de capim-elefante são mais elevados do que os encontrados nas silagens do presente trabalho (RODRIGUES *et al.*, 2003; 2005; 2007), sendo que baixos teores é fator positivo, pois a produção de etanol indica perdas de MS no material ensilado.

**Tabela 23** - Teores de etanol (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,05	0,11	0,11	0,15	0,08	0,14	0,11	$Y_0=8,3 \times 10^{-2} + 1,9 \times 10^{-3}X - 2,1 \times 10^{-5}X^2$	0,46
10	0,06	0,08	0,09	0,08	0,07	0,11	0,08	$Y_{10}=7,6 \times 10^{-2} - 3,0 \times 10^{-4}X + 1,3 \times 10^{-5}X^2$	0,68
20	0,04	0,10	0,10	0,11	0,07	0,13	0,09	$Y_{20}=7,5 \times 10^{-2} + 8,0 \times 10^{-4}X - 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,51
Média	0,05	0,10	0,10	0,11	0,07	0,13		CV = 14,7%	

O baixo teor de etanol encontrado nas silagens desse trabalho, pode ser evidenciada pela participação das BAL heterofermentativas, que de acordo com McDonald *et al.* (1991), além do ácido láctico produzem também  $CO_2$ , etanol e ácido acético. Uma vez que, provavelmente as BAL homofermentativas estiveram presentes em maior quantidade em função da alta produção do ácido láctico.

Os fungos leveduriformes também podem ter sido responsáveis pela produção de etanol, uma vez que este é o principal produto da fermentação dos açúcares por essa população microbiana (ARCURI *et al.*, 2003). Contudo, no presente estudo, a presença dos fungos leveduriformes foi considerada baixa, não sendo detectada no último tempo de abertura dos silos, demonstrando que possivelmente as BAL heterofermentativas foram responsáveis pela produção de etanol.

### 6.7 Perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens

Para as perdas por efluentes (PE), por gases (PG) e índice de recuperação de matéria seca (RMS) das silagens de capim-elefante, observou-se efeito significativo dos

níveis de inclusão, tempos de abertura dos silos, assim como da interação níveis x tempos (Tabela 24).

**Tabela 24** - Análise de variância das perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P		
		PE	PG	RMS
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	<0,001
Tempos de abertura	5	<0,001	0,02	<0,001
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001
Média		28,0	10,5	87,7

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: nível de significância.

PE: perdas por efluentes; PG: perdas por gases; RMS: índice de recuperação de matéria seca.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

### 6.7.1 Perdas por produção de efluentes

Comportamento linear crescente foi observado em função da interação níveis x tempos para as perdas por efluentes das silagens de capim-elefante (Tabela 25).

As perdas por efluentes das silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM) observadas variaram de 25,8 a 89,3 kg/ton de matéria verde ao longo dos tempos de abertura dos silos e, nas silagens com níveis de inclusão de 10 e 20% da TM, as perdas por efluentes observadas variaram de 6,4 a 31,0 kg/ton de matéria verde e 3,0 a 28,3 kg/ton de matéria verde, respectivamente ao longo dos tempos estudados (Tabela 25).

**Tabela 25** - Perdas por efluentes (kg/ton de matéria verde) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	25,8	49,8	57,6	66,1	66,7	89,3	59,2	$Y_0 = 40,8 + 0,8X$	0,89
10	6,4	6,4	5,9	17,7	18,1	31,0	14,2	$Y_{10} = 4,8 + 0,4X$	0,95
20	3,0	3,8	6,2	5,1	16,4	28,3	10,5	$Y_{20} = 0,9 + 0,4X$	0,97
Média	11,7	20,0	23,2	29,6	33,7	49,5		CV = 10,9%	

Quanto aos tempos de abertura dos silos, observou-se que à medida que ocorreram os processos fermentativos, houve aumento das perdas médias por efluentes das silagens de capim-elefante em todos os níveis de inclusão da TM. Andrade *et al.* (2012),

também observaram maior perda por efluentes no último tempo de abertura estudado, em silagens de capim-elefante.

Ao considerar os níveis de inclusão da TM, verificou-se redução das perdas por efluentes com a adição de 10 e 20% da TM, em relação às silagens exclusivas de capim-elefante. Os dados confirmam que a TM possui elevado potencial como aditivo absorvente de umidade, que esteve diretamente relacionado com a menor produção de efluentes à medida que adicionou-se a TM. Esses resultados corroboram com os encontrados por Santos *et al.* (2008), em que os autores verificaram redução das perdas por efluentes das silagens de capim-elefante ao utilizarem aditivos absorventes de umidade. De acordo com Oliveira *et al.* (2012) o volume de efluente produzido em um silo é afetado principalmente pelo conteúdo de MS da espécie forrageira que foi ensilada.

O efluente das silagens carrega nutrientes em água, compostos nitrogenados, açúcares, ácidos orgânicos e sais minerais, o que representa redução no valor nutritivo das silagens (TEIXEIRA *et al.*, 2008; ANDRADE *et al.*, 2012; PACHECO *et al.*, 2014). Nesse trabalho, a inclusão da TM possibilitou redução do escape de nutrientes altamente digestíveis via efluente.

### **6.7.2 Perdas por produção de gases**

Observou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos para as perdas por gases das silagens de capim-elefante (Tabela 26).

As silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM), e com nível de inclusão de 10% da TM apresentaram perdas máximas estimadas de 15,0 e 13,0% aos 17 e 40 dias, respectivamente, posteriormente esses períodos houve queda nas perdas. No entanto, nas silagens adicionadas de 20% da TM, as mínimas perdas por gases estimadas foram de 6,6%, no qual ocorreram ao sexto dia após a ensilagem (Tabela 26).

Em relação aos níveis de inclusão da TM, as silagens exclusivas de capim-elefante apresentaram maiores perdas por gases e, quando adicionou-se a TM, as perdas médias reduziram, passando para 10,6% e 7,1% com adição de 10 e 20% da TM, respectivamente (Tabela 26), o que pode ser justificado pelo aumento dos teores de MS com a adição da TM, que pode ter favorecido a menor incidência de fermentações indesejáveis, através da redução de microrganismos produtores de gases, como as bactérias do gênero *Clostridium*, as enterobactérias e as bactérias hetrofermentativas. Como consequência houve predominância da fermentação láctica, o que resultou em mínimas perdas nas silagens

aditivadas com TM, uma vez que as perdas por gases estão associadas ao tipo de fermentação ocorrido no material ensilado.

**Tabela 26** - Perdas por gases (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	12,0	16,8	15,3	14,3	14,3	11,3	14,0	$Y_0=13,8 + 0,1X - 2,9 \times 10^{-3}X^2$	0,70
10	10,2	7,8	9,6	11,9	12,7	11,1	10,6	$Y_{10}=8,5 + 0,2X - 2,5 \times 10^{-3}X^2$	0,79
20	6,9	5,8	6,4	7,8	6,6	9,1	7,1	$Y_{20}=6,6 - 1,0 \times 10^{-2}X + 8,0 \times 10^{-4}X^2$	0,79
Média	9,7	10,1	10,4	11,3	11,2	10,5		CV = 11,6%	

De acordo com Zanine *et al.* (2010), altos teores de umidade no material ensilado estão associados às perdas por gases e efluentes, em que bactérias do gênero *Clostridium* são beneficiadas em ambientes muito úmidos e com alto pH, elevando as perdas por gases, pois produzem  $CO_2$  e ácido butírico, em vez de ácido lático. Além disso, o poder tampão das silagens de capim favorece o crescimento de enterobactérias, que são produtoras de gases, tais como  $CO_2$ , além de etanol, ácido acético e amônia.

Em síntese, os teores de MS das silagens de capim-elefante aditivadas com TM estavam altos (Tabela 4), não caracterizando material úmido, os valores de pH foram considerados satisfatórios para a conservação do material ensilado (Tabela 21), o que não favoreceu o desenvolvimento desses microrganismos indesejáveis. A produção de ácido butírico (Tabela 19) e etanol (Tabela 23), portanto, foi considerada baixa. Houve também predominância de fermentação láctica (Tabelas 12 e 17), o que permite enfatizar que as perdas nas silagens aditivadas com TM foram mínimas.

### 6.7.3 Índice de recuperação de matéria seca

Verificou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos das silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM), e comportamento linear decrescente em função da interação níveis x tempos das silagens com níveis de inclusão de 10 e 20% da TM para o índice de recuperação de matéria seca (Tabela 27).

Nas silagens exclusivas de capim-elefante (0% da TM), o índice de recuperação de matéria seca (RMS) mínimo estimado foi de 78,2% aos 33 dias, após esse período houve aumento dos índices de RMS. Nas silagens de capim-elefante com os níveis de inclusão de 10 e 20% da TM, o RMS decresceu ao longo dos tempos de abertura dos silos, variando de 90,5 a 83,9% e de 94,6 a 90,3%, respectivamente, o que está condizente com as perdas por efluentes. De acordo com Teixeira *et al.* (2008) o índice de RMS é inversamente proporcional às perdas.

**Tabela 27** – Índice de recuperação de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) da torta de macaúba e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	85,5	79,6	79,0	80,1	79,3	81,5	80,8	$Y_0=83,2 - 0,3X + 4,5 \times 10^{-3}X^2$	0,68
10	90,5	93,6	91,2	90,4	86,2	83,9	89,3	$Y_{10}=92,6 - 0,2X$	0,94
20	94,6	95,1	93,8	90,5	93,4	90,3	92,9	$Y_{20}=94,4 - 6,0 \times 10^{-2}X$	0,72
Média	90,2	89,4	88,0	87,0	86,3	85,2		CV = 1,9%	

Ao considerar os níveis de inclusão da TM, observou-se que à medida que adicionou TM na ensilagem de capim-elefante houve elevação do RMS, sendo os índices médios de 80,8; 89,3 e 92,9% das silagens com adição de 0; 10 e 20% da TM, respectivamente, fato que pode ser evidenciado pelos aumentos dos teores de MS e redução das perdas por efluentes e por gases com a adição da TM.

## 7 CONCLUSÃO

A torta de macaúba foi eficiente como aditivo absorvente de umidade nas silagens de capim-elefante, além da melhoria no processo fermentativo, que favoreceu o desenvolvimento de microrganismos desejáveis, e, reduziu a população dos fungos provavelmente por meio da ação antifúngica propiciada pela adequada produção de ácido acético, o que favoreceu baixa produção de etanol. Houve redução dos teores de ácido butírico, maiores conteúdos de ácido lático, e, conseqüente redução dos valores de pH, que foram satisfatórios para a conservação do material ensilado. Níveis crescentes da torta de macaúba reduziram a proteólise no material ensilado, o que resultou em menores concentrações de nitrogênio amoniacal. Os teores de fibras foram reduzidos com a adição da torta de macaúba, os teores de proteína elevaram-se, porém, não foram tão expressivos, não houve contribuição da torta de macaúba sobre os carboidratos solúveis, os teores de extrato etéreo aumentaram com os níveis crescentes da torta de macaúba, o que deve-se atentar para que o uso na alimentação animal não limite o consumo de matéria seca e reduza a digestibilidade da fibra, nas silagens de capim-elefante com 20% da torta de macaúba, deve-se ponderar ao formular a dieta devido ao elevado teor de extrato etéreo. As perdas por gases e efluentes foram reduzidas e a recuperação de matéria seca nas silagens de capim-elefante foi aumentada com a inclusão da torta de macaúba, sendo que a adição de 20% proporcionou melhores resultados.



## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, A. de A.; EDUARDO, J. L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p.260-258, 2008.
- ANDRADE, P. A.; QUADROS, D. G. de; BEZERRA, A. R. G.; ALMEIDA, J. A. R.; SILVA, P. H. S.; ARAÚJO, J. A. M. Aspectos qualitativos da silagem de capim-elefante com fubá de milho e casca de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, p.1209-1218, 2012.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International**. 16<sup>th</sup> ed. Washington, 1995. 1070p.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International**. 17<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, 2000, 1117p.
- ARCURI, P. B.; CARNEIRO, J. C.; LOPES, F. C. F. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al. (Org.). *Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens*. 1<sup>a</sup> ed. Jaboticabal: 2003, p.51-69.
- ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; SUGAWARA, M. S.; SILVA, M. S.; SCHWAN, R. F. Qualidade da silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de *Lactobacillus buchneri*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p.255-261, 2008.
- BAILEY, R. W. Quantitative studies of ruminant digestion. II. Loss of ingested plant carbohydrates from the reticulo rumen. New Zeland. **Journal of Agricultural Research**, v. p.10-15-32, 1967.
- BOMFIM, M. A. D.; SILVA, M. M. C.; SANTOS, S. F. dos. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de Biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 4, p.15-26, 2009.
- BONFÁ, C. S.; VILLELA, S. D. J.; CASTRO, G. H. de F.; SANTOS, R. A. do; EVANGELISTA, A. R.; PIRES NETO, O. de S. Silagem de capim-elefante adicionada de casca de abacaxi. **Revista Ceres**, v. 64, n. 2, p.176-182, 2017.
- CARDOSO, A. M.; ARAUJO, S. A. D. C.; ROCHA, N. S.; DOMINGUES, F. N.; AZEVEDO, J. C. D.; PANTOJA, L. D. A. Elephant grass silage with the addition of crambe bran conjugated to different specific mass. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 4, p.375-382, 2016.
- CHAMBERLAIN, D. G. The silage fermentation in relation to the utilization of nutrients in the rumen. **Process Biochemistry**, v. 4, n. 1, p.60-63, 1987.
- CHAVES, K. F.; SILVA, N. B. N.; VIEIRA, T. B. V.; CRUZ, W. F.; MARTINS, M. L.; MARTINS, A. D. O. Avaliação microbiana de ambientes de diferentes laticínios da região de

rio pomba-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 380, p.11-15, 2011.

COAN, R. M.; REIS, R. A.; GARCIA, G. R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; FERREIRA, D. D. S.; RESENDE, F. D. D.; GURGEL, F. D. A. Dinâmica fermentativa e microbiana de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p.1502-1511, 2007.

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p.271-276, 2013.

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E. et al. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 1, p.562-567, 2003.

DETMANN, E. ; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O. S.; CABRAL, L. S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M. M.; AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para Análise de Alimentos - INCT - Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

EVANGELISTA, A. R.; PERON, A. J.; AMARAL, P. N. C. Forrageiras não convencionais para silagem – mitos e realidades. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2004. p.463-507.

EVANGELISTA, A. R.; SIQUEIRA, G. R.; LIMA, J. A.; LOPES, J.; REZENDE, A. V. Alterações bromatológicas e fermentativas durante o armazenamento de silagens de cana-de-açúcar com e sem milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p.20-26, 2009.

FÉRNANDEZ, J. Grasa sobrepasante del rumen para dietas de vacas lecheras. **Alimentos balanceados para animales**, Colanta, v. 7, n. 4, p.18-21, 2000.

FERREIRA, J. J. Estágio de maturação ideal para ensilagem do milho e do sorgo. In: CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S. et al. (Eds.) **PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE SILAGEM DE MILHO E SORGO**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001, p.405-428.

FERREIRA, D. J.; ZANINE, A. M.; LANA, R. P.; RIBEIRO, M. D.; ALVES, G. R.; MANTOVANI, H. C. Chemical composition and nutrient degradability in elephant grass silage inoculated with *Streptococcus bovis* isolated from the rumen. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p.465-474, 2014.

GONÇALVES, J. A. G.; ZAMBOM, M. A.; FERNANDES, T.; MESQUITA, E. E.; SCHIMIDT, E.; JAVORSKI, C. R.; CASTAGNARA, D. D. Composição químico-bromatológica e perfil de fermentação da silagem de resíduo úmido de fécula de mandioca. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, p.502-511, 2014.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHIMIDT, R. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, suplemento especial, p.101-119, 2007.

JONSSON, A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. **Journal Science Food Agriculture**, v.54, p.557-568, 1991.

KUNG JR, L. Preparation of silage water extracts for chemical analyses: Standard operating procedures – Warrilow: University of Delaware, Ruminant Nutrition Lab., 1996. 309p.

LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal). Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. Métodos Microbiológicos. Brasília:Ministério da Agricultura. 1981.

LOURES, D. R. S.; GARCIA, R.; PEREIRA, O. G.; CECON, P. R.; SOUZA, A. L. Características do efluente e composição químico-bromatológica da silagem do capim-elefante sob diferentes níveis de compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p.1851-1858, 2003 (supl. 2).

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R. **The biochemistry of silage**. New York: John Wiley, 1981, 226p.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON; S. J. E. **Biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.

MORAIS. G. de. Coprodutos do biodiesel na ensilagem de cana-de-açúcar. Lavras, MG. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras – UFLA, MG. 56p. 2012.

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

MUCK, R. Silage inoculation. In: CONFERENCE WITH DAIRY AND INDUSTRIES, 1996, Madison. **Proceedings...** Dairy Forage Research Center, p.43-51, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7 ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381 p.

OLIVEIRA, A. C.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; OLIVEIRA, H. C.; ALMEIDA, V. V. S. D.; VELOSO, C. M.; OLIVEIRA, U. L. C. Farelo de mandioca na ensilagem de capim-elefante: fracionamento de carboidratos e proteínas e características fermentativas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, p.1020-1031, 2012.

PAHLOW, G.; MUCK, R.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2003. p.31-93.

PACHECO, W. F.; CARNEIRO, M. S. de S.; PINTO, A. P.; EDVAN, R. L.; ARRUDA, P. C. L. de; CARMO, A. B. R. do. Perdas fermentativas de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum.) com níveis crescentes de feno de gliricídia (*Gliricidia sepium*). **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 3, p.155-162, 2014.

RODRIGUES, P. H. M.; LOPES, T. F. T.; ANDRADE, S. J. T. de; MELOTTI, L.; LUCCI, C. de S.; LIMA, F. R. de; MEYER, P. M. Adição de inoculantes microbianos sobre a

composição química e perfil fermentativo da silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 25, n. 2, p.397-402, 2003.

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**, v. 34, n. 4, p.1138-1145, 2005.

RODRIGUES, P. H. M.; LOBO, J. R.; SILVA, E. D.; BORGES, L. F. O.; MEYER, P. M.; DEMARCHI, J. J. A. A. Efeito da inclusão de polpa cítrica peletizada na confecção de silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p.1751-1760, 2007.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. de M., SANTANA, P. A. de; DÓREA, J. R. R.; SILVA, T. C. da; PEREIRA, O. G.; COSTA, R. G. Composição bromatológica, perdas e perfil fermentativo de silagens de capim-elefante com níveis de inclusão de jaca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 1, p.64-73, 2008.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SILVA, T. C.; DANTAS, P. A. S., DÓREA, J. R. R.; SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M.; PEREIRA, O. G. Populações microbianas, perfil fermentativo e composição de silagens de capim-elefante com jaca. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 230, p.247-255, 2011.

TEIXEIRA, F. A.; VELOSO, C. M.; PIRES, A. V.; SILVA, F. F.; NASCIMENTO, P. V. N. Perdas na ensilagem de capim-elefante aditivado com farelo de cacau e cana-de-açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p.227-233, 2008.

TEIXEIRA, U. B. G.; SIMIONI, T. A.; PINA, D. dos S.; GOMES, F. J.; PAULA, D. C. de; B9, L. A. Potencial de utilização de coprodutos agroindustriais para suplementos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.11, n.02, p.3363-3386, 2014.

TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; TOMICH, R. G. P.; BORGES, I. **Características para avaliação do processo fermentativo de silagens: uma proposta para qualificação da fermentação**. Corumbá: EMBRAPA Pantanal, 2003, 20p. (documento 57).

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIEIRA, F. A. P.; BORGES, I.; STEHLING, C. A. V.; GONÇALVES, L. C.; COELHO, S. G.; FERREIRA, M. I. C.; RODRIGUES, J. A. S. Qualidade de silagens de sorgo com aditivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 6, p.764-772, 2004.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; DÓREA, J. R. R.; DANTAS, P. A. D. S.; SILVA, T. C. D.; PEREIRA, O. G. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p.2611-2616, 2010.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; FERREIRA, D. de J.; OLIVEIRA, J. S.; ALMEIDA, J. C.; PEREIRA, O. G. Avaliação da silagem de capim-elefante com adição de farelo de trigo. **Archivos de Zootecnia**, v.55, n.209, p.75-84, 2006.

ZANINE, A. de M., SANTOS, E. M., FERREIRA, D. de J.; PINTO, 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**, v. 8, n. 4, p.621-628, 2007.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.170-189, 2009.



## **CAPÍTULO II: SILAGENS DE CAPIM-ELEFANTE ADITIVADAS COM FARELO DE CRAMBE**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar os efeitos do farelo de crambe, em diferentes níveis de inclusão na ensilagem de capim-elefante. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. O material foi ensilado em silos experimentais elaborados com tubos de PVC com tampas providas de válvula tipo Bunsen, compactou-se o material obtendo-se massa específica de  $600 \text{ kg/m}^3$ . Foi analisado os teores de ácidos orgânicos, a população microbiana, a composição químico-bromatológica e as perdas geradas durante o processo fermentativo. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial  $3 \times 6$ , sendo três níveis de inclusão do farelo de crambe (0; 10 e 20%) e seis tempos de abertura dos silos (1; 5; 10; 20; 40 e 60 dias após a ensilagem). Os dados foram submetidos à análise de variância, e, se detectados efeitos significativos em relação aos níveis de inclusão, tempos de abertura, e interação entre eles, aplicou-se a análise de regressão. O farelo de crambe adicionado na ensilagem de capim-elefante foi eficiente na melhoria do processo fermentativo através da elevação dos teores de matéria seca, da contribuição para o desenvolvimento de microrganismos benéficos em detrimento dos indesejáveis, da predominância da fermentação láctica com conseqüente redução do pH, além do incremento do valor nutricional, principalmente pela elevação do teor proteico e redução dos teores de fibras, contudo, o farelo de crambe favoreceu a elevação dos teores de nitrogênio amoniacal, mas este esteve dentro do intervalo considerado adequado, sem afetar o material ensilado. As perdas por gases e efluentes foram reduzidas e a recuperação de matéria seca nas silagens de capim-elefante foi aumentada com a inclusão do farelo de crambe. O maior nível de inclusão (20%) do farelo de crambe promoveu as melhores características nas silagens de capim-elefante.

**Palavras-chave:** Ácidos orgânicos. Composição químico-bromatológica. Coproduto de biodiesel. Microbiologia da silagem. Níveis de inclusão. Perfil de fermentação.



## ELEPHANT GRASS SILAGE ADDITIVATED WITH CRAMBE BRAN

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of crambe bran at different levels of inclusion in elephant grass silage. The experimental design was completely randomized, with four replications. The material was ensiled in experimental silos made with PVC tubes with caps equipped with a Bunsen type valve, the material was compacted to obtain a specific mass of 600 kg/m<sup>3</sup>. The content of organic acids, the microbial population, the chemical-bromatological composition and the losses generated during the fermentation process were analyzed. The treatments were arranged in a 3 x 6 factorial scheme, with three levels of inclusion of the crambe bran (0, 10 and 20%) and six opening times of the silos (1, 5, 10, 20, 40 and 60 days after silage). Data were submitted to analysis of variance, and if significant effects were detected in relation to inclusion levels, opening times, and interaction between them, the regression analysis was applied. The crambe bran added in elephant grass silage was efficient in improving the fermentation process by raising dry matter contents, contributing to the development of beneficial microorganisms to the detriment of undesirable ones, the predominance of lactic fermentation with consequent reduction of pH, in addition to the increase in nutritional value, mainly due to the elevation of protein content and reduction of fiber content, however, the crambe meal favored the elevation of ammoniacal nitrogen contents, but this was within the range considered adequate, without affecting the ensiled material. Gaseous and effluent losses were reduced and recovery of dry matter in elephant grass silages was increased with the inclusion of crambe meal. The highest level of inclusion (20%) of crambe bran promoted the best characteristics in elephant grass silages.

**Keywords:** Organic acids. Chemical-bromatological composition. Co-production of biodiesel. Microbiology of silage. Levels of inclusion. Fermentation Profile.



## 8 INTRODUÇÃO

As forrageiras tropicais apresentam acentuada estacionalidade, em função das variações climáticas, com distribuição desuniforme da produção ao longo do ano, com alta disponibilidade e bom valor nutritivo no período chuvoso e o oposto na época de estiagem, gerando comprometimento no desempenho da produção animal (MOCHEL FILHO *et al.*, 2016). A adoção de técnicas de conservação de forragem que preservem as características nutricionais destas e que permitam o seu uso em períodos críticos do ano se torna extremamente necessário, podendo-se salientar o processo de ensilagem (AZEVEDO *et al.*, 2017).

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é bastante indicado para produção de silagem, por possuir excelente potencial produtivo por área cultivada, boa aceitabilidade pelos animais, além de apresentar resistência a condições climáticas adversas. Entretanto, esta forrageira apresenta baixos níveis de nutrientes e alto teor de umidade no momento do corte para a obtenção da silagem, o que torna o ambiente mais propício para o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, no qual acarreta fermentações secundárias, comprometendo a qualidade do material ensilado (CARDOSO *et al.*, 2016). A ensilagem de capins sem uso de aditivos está propícia a significativas perdas por efluentes, no qual carregam grandes quantidades de compostos orgânicos, reduzindo assim o valor nutritivo das silagens (PINHO *et al.*, 2008; ANDRADE *et al.*, 2012).

Os coprodutos do biodiesel são promissores para a utilização na alimentação animal, podendo ser adicionados no processo de ensilagem, o que possibilita agregar valor nutricional ao produto final e reduzir os custos da produção tanto do biodiesel quanto do alimento a ser fornecido ao animal (ABDALLA *et al.*, 2008).

O farelo de crambe é um coproduto da cadeia produtiva do biodiesel, obtido através da extração do óleo com solvente. Possui teor proteico elevado, próximo de 40%, caracterizando-o como grande potencial na utilização na alimentação de ruminantes em substituição às fontes tradicionais, como farelo de soja e algodão, dentre outros (TRIPATHI & MISHRA, 2007; PITOL *et al.*, 2010). Segundo Souza *et al.* (2010), a concentração do teor proteico no farelo de crambe é em torno de 33%, e o percentual de extrato etéreo próximo de 1,9%, o que indica que esse coproduto do biodiesel pode ser apropriado para a alimentação de ruminantes.

Considerando a necessidade de conhecer os potenciais do farelo de crambe adicionado na ensilagem de capim-elefante para a utilização na alimentação animal, o

objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos níveis de inclusão do farelo de crambe na ensilagem de capim-elefante.

## 9 MATERIAL E MÉTODOS

### 9.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Campus JK, situada no município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil. As análises laboratoriais da população microbiana, dos teores de ácidos orgânicos e de etanol foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFVJM, e, as análises da composição químico-bromatológica foram realizadas nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, da UFVJM e da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e, Laboratório Integrado de Pesquisa Multiusuário dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – LIPEMVALE, da UFVJM.

### 9.2 Forrageira e coproduto utilizado

Utilizou-se o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), cultivar estudada foi a Cameroon ensilada exclusiva ou misturada com o farelo de crambe (*Crambe abyssinica* H.) em diferentes níveis de inclusão.

O capim-elefante foi obtido em uma propriedade rural localizada no município de Lavras, Minas Gerais. Realizou-se corte de uniformização e a adubação de manutenção foi a base de adubo formulado NPK 8-28-16, na quantidade de 400 kg/ha. No momento do corte, o capim estava com aproximadamente 1,60 m de altura e 70 dias de crescimento, com rendimento médio de 70 t/ha de matéria verde. O corte manual foi realizado a 10 cm do nível do solo. O farelo de crambe, coproduto do biodiesel, foi disponibilizado pela Empresa Caramuru Alimentos SA, situada no município de Itumbiara, Goiás. Ambos foram transportados ao Campus JK, em Diamantina.

### 9.3 Delineamento experimental e modelo estatístico

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 3 x 6, sendo três níveis de inclusão do farelo de crambe (0; 10 e 20%, baseados no peso verde da forragem) e seis tempos de abertura dos silos (1; 5; 10; 20; 40 e 60 dias após a ensilagem). Totalizando 18 tratamentos e 72 unidades experimentais. O modelo estatístico foi:

$$Y_{ijK} = \mu + N_i + T_j + NT_{ij} + e_{ijk}, \text{ em que:}$$

$Y_{ijK}$  = observação referente ao nível  $i$  de farelo de crambe, no tempo  $j$  de abertura, na repetição  $k$ ;

$\mu$  = média geral;

$N_i$  = efeito do nível  $i$  de farelo de crambe ( $i = 1, 2$  e  $3$ );

$T_j$  = efeito do tempo  $j$  de abertura ( $j = 1, 2, 3, 4, 5$  e  $6$ );

$NT_{ij}$  = efeito da interação entre o nível  $i$  de farelo de crambe com o tempo  $j$  de abertura;

$e_{ijk}$  = efeito do erro experimental associado a cada observação que recebeu o nível  $i$  de farelo de crambe, o tempo  $j$  de abertura na repetição  $k$ .

#### 9.4 Silos experimentais

O material foi ensilado em silos experimentais elaborados com tubos de policloreto de vinilo (PVC) de 100 mm de diâmetro e 400 mm de comprimento, com tampas de PVC providas de válvula tipo Bunsen, para permitir o escape dos gases gerados durante o processo fermentativo dentro dos silos.

No fundo dos silos experimentais, foram depositados sacos de pano contendo 0,8 kg de areia seca, para captação do efluente, caso este fosse produzido, e posterior realização da estimativa das perdas geradas durante o processo fermentativo.

#### 9.5 Ensilagem

Previamente ao processo de ensilagem, picou-se o capim-elefante em ensiladora estacionária regulada para obtenção de partículas de aproximadamente 2 cm. Posteriormente, realizou-se a adição do farelo de crambe ao capim-elefante, com os respectivos níveis de inclusão mencionados anteriormente. Utilizou-se 1,6 kg de material total em cada silo.

O material foi homogeneizado e depositado nos silos experimentais logo após a acomodação do saco de pano contendo areia seca, compactou-se o material com o uso de soquetes de madeira, obtendo-se massa específica média de  $600 \text{ kg/m}^3$  de peso do material ensilado. Vedou-se os silos utilizando a tampa confeccionada de PVC, conforme relato anterior, pesou-se todo o conjunto no momento da ensilagem e lacrou-se a tampa com fita adesiva. Estes foram acondicionados em local com área coberta e temperatura ambiente.

## 9.6 Amostragens

Antes da ensilagem, foram retiradas amostras do material: capim-elefante e farelo de crambe, bem como das misturas homogeneizadas do capim-elefante com os respectivos níveis de inclusão do farelo de crambe (0; 10 e 20%), ambas para análise da população microbiana, composição químico-bromatológica e pH.

A abertura dos silos foi realizada nos respectivos tempos, em dias, conforme tratamentos definidos anteriormente. Pesou-se todo o conjunto, silos e forragem, no momento da abertura para estimativa das perdas. A silagem foi homogeneizada e separada em duas partes, sendo uma amostra (peso conhecido) destinada à prensagem para extração do líquido da silagem para determinação do pH, ácidos orgânicos, nitrogênio amoniacal e etanol, a outra foi reservada às análises da população microbiana (25 g) e químico-bromatológica (aproximadamente de 800 g).

### 9.6.1 Amostra de preparação úmida

Tanto o material antes de ensilar, bem como da silagem, retirou-se uma amostra de peso conhecido, foi separada para prensagem em uma prensa hidráulica, para obter-se o líquido extraído do material e seu volume aferido. Determinou-se os valores de pH, através de um potenciômetro com escala expandida, marca Tecnopon mPA 210. Posteriormente, armazenou-se 4 mL do líquido extraído da silagem (em dois eppendorf com capacidade de 2 mL cada um) para análises de ácidos orgânicos e teor de etanol e 40 mL deste material foi armazenado (em tubo falcon) conservados em 10 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N, para determinação do teor de nitrogênio amoniacal, por destilação com óxido de magnésio (AOAC, 1995). Ambos foram armazenados no congelador à -15° C.

### 9.6.2 Amostra destinada às análises da população microbiana e químico-bromatológica

Coletou-se uma alíquota de 25 g, para as análises da população microbiana (KUNG JR., 1996); o restante do material, procedeu-se a pesagem e pré-secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 55° C por 72 horas (DETMANN *et al.*, 2012). Em seguida, as amostras foram processadas em moinho estacionário tipo Willey com peneira de 1 mm (AOAC, 2000) e acondicionadas em sacos plásticos para avaliações posteriores dos teores de

matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente em ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e carboidratos solúveis (CHOS).

## 9.7 Análises laboratoriais

### 9.7.1 Composição químico-bromatológica

Do procedimento analítico, avaliou-se a composição químico-bromatológica do material e das misturas homogeneizadas antes da ensilagem (capim-elefante e farelo de crambe nos respectivos níveis de inclusão) e do material ensilado. Foram analisados os teores de MS (INCT-CA G-003/1), FDN (INCT-CA F-002/1), FDA (INCT-CA F-004/1) e EE (INCT-CA G-004/1) de acordo com a metodologia proposta por Detmann *et al.*, (2012). Os CHOS em álcool, pelo método proposto por Bailey (1967). A PB foi determinada através de analisador elementar dos teores de nitrogênio. Os teores de nitrogênio amoniacal, em porcentagem do nitrogênio total (N-NH<sub>3</sub>/NT) por destilação com óxido de magnésio (AOAC, 1995).

#### 9.7.1.1 Teor de matéria seca

Para essa análise, pesou-se de dois a três gramas (g) de amostra seca ao ar e moída, em cápsula de porcelana previamente secas e pesada na “tara”. Logo, se procedeu à secagem em estufa a 105° C, durante 16 horas. A seguir, retirou-se os cadinhos da estufa e os colocou em um dessecador, por uma hora, até que a temperatura se equivalesse com a temperatura ambiente e pesou-os novamente. A perda de peso representa a umidade bruta, ou seja, todos componentes voláteis à temperatura de 105° C. Os resultados foram apresentados em porcentagem (DETMANN *et al.*, 2012).

#### 9.7.1.2 Teores de proteína bruta

A determinação do nitrogênio foi realizada através do analisador elementar LECO® CHNS/O, modelo Truspec Micro, localizado no Laboratório de Análise Elementar, pertencente ao Laboratório Integrado de Pesquisa Multiusuário dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – LIPEMVALE, Campus JK, na UFVJM.

Para isso, foram usados padrões de referência para curvas de calibração. As amostras (em torno de 1 a 10 mg) foram incineradas a 1075° C em tubo de quartzo, onde os gases gerados foram quantificados em detector de infravermelho. Os resultados são expressos em porcentagem (%) de nitrogênio da amostra, a conversão do nitrogênio em proteína foi obtido através da multiplicação do mesmo na matéria seca por 6,25 (DETMANN *et al.*, 2012).

#### *9.7.1.3 Teores de fibra em detergente neutro*

Pesou-se 0,4 g de amostras moídas, dentro de sacos Filter Bag F57 (Ankon®). Estes foram colocados em um béquer de 600 mL, no qual se adicionou 50 mL de solução detergente neutro para cada saco Filter Bag F57 (Ankon®). Em seguida digeriu-os por refluxo por 60 minutos a partir do início da ebulição.

Depois se procederam as lavagens sucessivas com água destilada quente e acetona. Deixou-os secar em temperatura ambiente por aproximadamente 2 horas. Posteriormente colocou os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) com a amostra para estufa a 105° C por cerca de quatro horas. Ao retirá-los, esfriou-os em dessecador até a temperatura ambiente, pesou-os e anotaram-se os valores. Os resultados foram apresentados em porcentagem (%) (DETMANN *et al.*, 2012).

#### *9.7.1.4 Teores de fibra em detergente ácido*

A análise de FDA foi executada com o resíduo da análise de FDN (análise sequencial). Colocaram-se os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) em um béquer de 600 mL, adicionou-se 50 mL de solução detergente ácido para cada saco Filter Bag F57 (Ankon®) no béquer e dez gotas de Álcool Amílico (antiespumante). Em seguida digeriu-os por refluxo por 60 minutos a partir do início da ebulição. Depois se retiraram os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) com as amostras e procederam-se lavagens sucessivas com água destilada quente e acetona. Posteriormente deixou-os secar em temperatura ambiente por aproximadamente duas horas.

Os sacos Filter Bag F57 (Ankon®) com a amostra foram levados para estufa a 105 °C por cerca de quatro horas. Retirou-os, esfriando-os em dessecador até a temperatura ambiente, pesou-os e anotaram-se os valores. Os resultados foram apresentados em porcentagem (%) (DETMANN *et al.*, 2012).

#### 9.7.1.5 Teores de carboidratos solúveis

Realizou-se de acordo com método descrito por Bailey (1967). O princípio desse método consistiu na extração dos carboidratos com solução alcoólica a 80%, na reação com solução ácida preparada com antrona e na posterior leitura em espectrofotômetro utilizando-se solução de glicose para preparo da curva padrão.

#### 9.7.1.6 Teores de extrato etéreo

Os teores de extrato etéreo foram analisados inicialmente com a pesagem, em papel filtro, 1 g da amostra moída, confeccionados os cartuchos e colocados no aparelho Soxhlet. Os balões com fundo achatado, utilizados na extração, foram pesados previamente, após permanecerem em estufa a 105° C durante 12 horas. O aparelho foi montado com os cartuchos e foram acrescentados aproximadamente 200 mL de éter em cada sistema de extração (sifão). As amostras foram submetidas à extração por no mínimo 4 horas, com uma velocidade de condensação de 4 a 6 gotas por segundo. No final do período de extração, o éter foi recuperado e os balões levados à estufa a 105° C até que o éter secasse por completo. Após essa etapa, estes foram levados ao dessecador, para que resfriassem. Então, foram pesados e os pesos anotados, conforme Detmann *et al.* (2012).

#### 9.7.2 População microbiana

A quantificação da população microbiana foi realizada nos materiais antes de ensilar e nas misturas homogeneizadas com os respectivos níveis de inclusão do farelo de crambe ao capim-elefante e nas silagens. Os microrganismos avaliados foram: bactérias ácido lácticas (BAL), enterobactérias (Entero), fungos leveduriformes (FL) e filamentosos (FF).

Retirou-se uma alíquota de 25 g que foi pesada sequencialmente à abertura dos silos, que foi adicionada em Erlenmeyer contendo 225 mL de solução tampão fosfato, e encaminhada ao agitador de amostras por 20 minutos a 28° C, representando a diluição de 10<sup>-1</sup> (KUNG JR., 1996). Posteriormente, realizou-se diluições, utilizando tubos de tampa rosqueada com capacidade de 15 mL, contendo 9 mL de água estéril, em que foi adicionado 1 mL da solução preparada de diluição 10<sup>-1</sup>, obtendo-se a diluição 10<sup>-2</sup> e, assim, sucessivamente, com a finalidade de se obter as diluições até 10<sup>-6</sup>.

Preparou-se meios de cultura específicos para o crescimento de cada população microbiana que foram dissolvidos e levados à autoclave para esterilização por 15 minutos a uma temperatura de 121° C e, posteriormente, vertidos em placas de Petri e, após a solidificação, armazenou-se sob refrigeração. Os respectivos meios de cultura foram preparados na véspera de cada inoculação visando o mínimo de contaminação possível. Todas as vidrarias utilizadas para fins de quantificação da população microbiana foram autoclavadas (esterilizadas) por 30 minutos a uma temperatura de 121° C.

As inoculações foram através das diluições (soluções) obtidas, no qual eram inoculadas 100 microlitros de solução em duplicatas, para cada diluição. As placas de Petri contendo o respectivo meio de cultura e o inóculo foram vedadas e armazenadas cada uma conforme especificação de cada população microbiana citada adiante. A população microbiana é passível de contagem, nas placas contendo valores de 30 a 300 unidades formadoras de colônias (UFC) e transformadas em logaritmo na base 10 (log UFC/g) (LANARA, 1981).

#### 9.7.2.1 *Bactéria ácido láctica*

O meio de cultura utilizado foi o MRS Agar Lactobacilos (MRS) marca Himedia. Em sua constituição (g/L) encontra-se: digestão enzimática de tecido animal 10 g; extrato de carne bovina 10 g; extrato de levedura 5 g; dextrose 20 g; acetato de sódio 5 g; polisorbato 80 g; fosfato de potássio 2 g; citrato de amônio 2 g; sulfato de magnésio 0,1 g; sulfato de manganês 0,05 g; ágar 15 g. Dissolveu-se 68,2 g deste produto em 1000 mL de água desmineralizada e adicionou-se um fungistático (nistatina 0,4%) marca Neo Química.

Posteriormente à inoculação, vedou-se as placas de Petri com papel filme e armazenou-se em posição invertida, em incubadora à 35° C por 96 horas, para proceder a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (ÁVILA *et al.*, 2008).

#### 9.7.2.2 *Enterobactéria*

Utilizou-se o meio de cultura específico para o crescimento de enterobactéria, o Violet Red Bile Agar (VRBA) marca Kasvi, consistindo em g/L de extrato de levedura 3 g; peptona 7 g; sais biliares nº 3 1,5 g; lactose 10 g; cloreto de sódio 5 g; vermelho neutro 0,030 g; cristal violeta 0,002 g; ágar 13 g. Dissolveu-se 38,5 g deste meio em 1000 mL de água destilada com adição de um fungistático (nistatina 0,4%) marca Neo Química.

Após a inoculação, vedou-se as placas de Petri com papel alumínio e incubou-se em posição inversa, em incubadora com temperatura 37° C por 48 horas, para proceder a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (JONSSON, 1991).

#### 9.7.2.3 *Fungo leveduriforme*

O meio de cultura Yeast Extract Peptone Glucose (YEPG) foi empregado para quantificação da população de fungo leveduriforme, contendo as seguintes especificações (extrato de levedura 10 g; peptona 20 g; glicose 20 g; ágar-ágar 17 g; ambos em 1000 mL de água destilada), o pH foi ajustado para 3,5, adicionou-se antibiótico (cloranfenicol 0,263 g) marca Inlab.

Após a inoculação, vedou-se as placas de Petri com papel filme e armazenou-se em posição invertida, em incubadora com temperatura controlada a 28° C por 48 horas, para posterior quantificação das unidades formadoras de colônia (UFC) (ÁVILA *et al.*, 2008).

#### 9.7.2.4 *Fungo filamentososo*

Para o crescimento e a quantificação da população de fungo filamentososo, utilizou-se o Agar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base (DRBC) marca Kasvi, no qual as especificações técnicas do produto em g/L são: digestão enzimática dos tecidos vegetais finais 5 g; glicose 10 g; fosfato de monopotássio 1 g; sulfato de magnésio 0,5 g; dicloran 2 mg; rosa bengal 25 mg; agar 15 g. O preparo consistiu de 31,5 g em 1000 mL de água destilada com o uso de um antibiótico (cloranfenicol 0,263 g) marca Inlab.

As placas de Petri foram inoculadas e envolvidas com papel alumínio, e incubadas na posição inversa, a temperatura de 28° C por 120 horas, onde ocorreu a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (CHAVES *et al.*, 2011).

### 9.7.3 *Ácidos orgânicos e etanol*

Os ácidos orgânicos analisados foram os seguintes: ácido láctico, acético e butírico e os teores de etanol, no material ensilado. Utilizou-se o extrato líquido obtido da silagem que inicialmente havia sido congelado para estas análises, após a abertura dos silos em seus respectivos tempos, o líquido foi centrifugado a frio a 10000 rpm por 10 minutos. Utilizou-se *vials* contendo 400 µL do líquido centrifugado e 800 µl da solução de ácido sulfúrico

previamente preparado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0025 mol/L). Em seguida, as soluções foram submetidas às análises de ácidos orgânicos realizados por meio de um cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC) (KUNG JR, 1996) e teores de etanol com o uso da coluna C18 (Fase reversa) da marca Biorad.

#### **9.7.4 Perdas por efluentes e por gases e Índice de recuperação de matéria seca**

As perdas de matéria seca sob as formas de gases e de efluentes foram quantificadas por diferença entre pesagens efetuadas na ensilagem e na abertura dos silos. O índice de recuperação de matéria seca é uma forma utilizada para estimar as perdas no processo de ensilagem na forma de perdas totais de MS (JOBIM *et al.*, 2007).

##### **9.7.4.1 Perdas por efluentes**

As perdas por efluentes (PE) foram calculadas baseando-se na diferença de peso da areia e saco de pano depositado no fundo do silo por ocasião do carregamento dos silos, conforme descrito por Jobim *et al.* (2007), representada pela equação a seguir:

$$PE = (P_{ab} - P_{en}) / (MV_{fe}) \times 1000$$

em que:

PE = Perdas por efluentes (kg/ton de massa verde);

$P_{ab}$  = Peso do conjunto (silo, areia e saco de pano) na abertura (kg);

$P_{en}$  = Peso do conjunto (silo, areia e saco de pano) na ensilagem (kg);

$MV_{fe}$  = Massa verde de forragem ensilada (kg).

##### **9.7.4.2 Perdas por gases**

As perdas por gases (PG) no processo de ensilagem foram obtidas com base na pesagem dos silos no fechamento e na abertura, diferença entre a matéria seca inicial e final do material, em relação à quantidade de matéria seca ensilada, descontando-se a tara do silo experimental, conforme descrito por Jobim *et al.* (2007), representada pela seguinte equação:

$$PG = [(P_{Cen} - P_{en}) * MS_{en}] - [(P_{Cab} - P_{en}) * MS_{ab}] \times 100 / [(P_{Cen} - P_{en}) * MS_{en}]$$

em que:

PG = Perdas por Gases (% da MS);

$P_{Cen}$  = Peso do silo cheio na ensilagem (kg);

Pen = Peso do conjunto (silo, tampa, areia e saco de pano) na ensilagem (kg);

MSen = Teor de MS da forragem na ensilagem (%);

PCab = Peso do silo cheio na abertura (kg);

MSab = Teor de MS da forragem na abertura (%).

#### 9.7.4.3 Índice de recuperação de matéria seca

O índice de recuperação de matéria seca foi obtido por meio da diferença de peso obtida pela pesagem da massa de forragem nos momentos da ensilagem e da abertura e seus respectivos teores de matéria seca. A seguinte equação foi utilizada para estimar o índice de recuperação de MS (RMS), conforme Jobim *et al.* (2007).

$$\text{RMS} = (\text{MFab} \times \text{MSab}) / (\text{MFfe} \times \text{MSfe}) * 100$$

em que:

RMS = Índice de recuperação de matéria seca (%);

MFab= Massa de forragem na abertura (kg);

MSab= Teor de MS na abertura (%);

MFfe = Massa de forragem no fechamento (kg);

Msfe = Teor de MS da forragem no fechamento (%).

## 9.8 Análise estatística

Na análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico Genes (CRUZ, 2013) e, quando foram detectados efeitos significativos em relação aos níveis de inclusão, tempos de abertura, e interação entre eles, aplicou-se a análise de regressão através do programa Sigmaplot, v.10.0. Foram utilizados modelos de regressão polinomiais de primeiro e segundo grau, onde a escolha do mesmo foi baseada no maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para cada equação.

## 10 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 10.1 Composição químico-bromatológica, população microbiana e pH do material antes da ensilagem

Na Tabela 1, são apresentados os dados referentes à composição químico-bromatológica do capim-elefante e do farelo de crambe e suas respectivas misturas antes da ensilagem.

**Tabela 1** - Composição químico-bromatológica do capim-elefante, do farelo de crambe e das respectivas misturas antes da ensilagem

Material antes da ensilagem	Variáveis (%)					
	MS	PB	FDN	FDA	CHOS	EE
Capim-elefante (C)	22,00	2,90	64,20	33,60	0,42	2,33
Farelo de Crambe (FC)	86,25	51,41	46,98	26,26	0,45	0,30
10% FC + 90% C	27,46	15,30	56,08	28,78	0,32	1,56
20% FC + 80% C	32,66	23,78	48,02	21,50	0,23	1,11

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido, CHOS: carboidratos solúveis e EE: extrato etéreo.  
C: capim-elefante; FC: farelo de crambe.

Na Tabela 2, encontram-se os dados de quantificação da microflora epífita e valores de pH do capim-elefante e do farelo de crambe, bem como das respectivas misturas no momento anterior à ensilagem.

**Tabela 2** - População microbiana (log ufc/g de silagem) e valores de potencial hidrogeniônico (pH) do capim-elefante, do farelo de crambe e das respectivas misturas antes da ensilagem

Material antes da ensilagem	População microbiana				pH
	BAL	Entero	FL	FF	
Capim-elefante (C)	5,30	8,16	3,20	NA	5,34
Farelo de Crambe (FC)	NA	NA	NA	NA	NA
10% FC + 90% C	6,48	8,41	3,40	5,30	5,11
20% FC + 80% C	6,93	8,32	3,04	4,61	4,93

BAL: bactérias ácido lácticas; Entero: enterobactérias; FL: fungos leveduriformes; FF: fungos filamentosos e, NA: dados não analisados.  
C: capim-elefante; FC: farelo de crambe.

## 10.2 Composição químico-bromatológica das silagens

Observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do farelo de crambe (FC) e da interação níveis x tempos para os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) das silagens de capim-elefante, os tempos de abertura dos silos não foram significativos para esses parâmetros mencionados. Para os teores de fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos solúveis (CHOS) e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do FC, tempos de abertura dos silos e da interação níveis x tempos (Tabela 3).

**Tabela 3** - Análise de variância da composição químico-bromatológica das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P						
		MS	PB	FDN	FDA	CHOS	EE	N-NH <sub>3</sub>
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Tempos de abertura	5	0,45	1,0	0,08	0,04	<0,001	0,11	<0,001
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Média		24,0	13,7	58,5	30,7	0,13	3,6	5,1

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: p-valor.

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido, CHOS: carboidratos solúveis; EE: extrato etéreo e N-NH<sub>3</sub>: nitrogênio amoniacal.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

### 10.2.1 Matéria seca

Observou-se comportamento quadrático para os teores de MS em função da interação níveis x tempos das silagens de capim-elefante (Tabela 4).

Os teores mínimos estimados de MS das silagens exclusivas de capim-elefante (0% do FC) foram de 18,7% aos 20 dias após a ensilagem, com a adição de 10 e 20% do FC os teores mínimos estimados de MS ocorreram aos 19 e 29 dias, sendo eles de 23,2 e 28,9%, respectivamente. Após esses períodos mencionados verificou-se elevação dos teores de MS das silagens em todos os níveis de inclusão do FC (Tabela 4).

Ao considerar os níveis de inclusão do FC na ensilagem de capim-elefante, observou-se maiores teores médios de MS nas silagens adicionadas com FC, o que pode inferir que esse coproduto do biodiesel contribuiu para elevação dos teores de MS das silagens de capim-elefante (Tabela 4), resultando em incrementos médios de 23,7 e 55,8% no

teor de MS, com os níveis de inclusão de 10 e 20% do FC, respectivamente, quando comparados à silagem exclusiva de capim-elefante.

Tal fato pode ser atribuído ao alto teor de MS presente no FC, associado ao baixo teor de MS do capim-elefante antes da ensilagem (Tabela 1). Semelhantemente a esse trabalho, Cardoso *et al.* (2016) observaram elevação dos teores de MS das silagens de capim-elefante adicionadas com diferentes níveis de inclusão do farelo de crambe.

**Tabela 4** - Teores de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempo de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	19,3	18,4	18,5	18,9	19,0	19,7	19,0	$Y_0=18,9 - 2,4 \times 10^{-2}X + 6,0 \times 10^{-4}X^2$	0,79
10	23,7	23,4	22,6	23,6	23,4	24,2	23,5	$Y_{10}=23,5 - 2,7 \times 10^{-2}X + 7,0 \times 10^{-4}X^2$	0,73
20	29,9	29,9	30,3	28,6	28,7	30,2	29,6	$Y_{20}=30,4 - 0,1X + 1,7 \times 10^{-3}X^2$	0,82
Média	24,3	23,9	23,8	23,7	23,7	24,7		CV = 1,5%	

O teor de MS baixo é apontado como uma das grandes limitações para a produção de silagens de qualidade, pois pode acarretar desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, prejudicando o processo fermentativo do material ensilado, além de produção excessiva de efluentes, no qual carregam nutrientes altamente digestíveis, o que reduz o valor nutritivo das silagens (PINHO *et al.*, 2008). No presente trabalho, as silagens exclusivas de capim-elefante resultaram em baixo teor de MS (19,0%), o que pode comprometer o processo fermentativo, com conseqüente redução na qualidade das silagens. O nível de inclusão de 20% do FC promoveu maior teor de MS (29,6%), que por sua vez, está dentro dos teores recomendados para silagens de capim tropical, conforme relatado por Zopollato *et al.*, 2009.

### 10.2.2 Proteína bruta

Verificou-se comportamento quadrático para os teores de PB em função da interação níveis x tempos das silagens de capim-elefante (Tabela 5).

O teor mínimo estimado de PB das silagens exclusivas de capim-elefante foi de 1,6% aos 60 dias após a ensilagem. No início do processo fermentativo (1 dia após a ensilagem) verificou-se teor de PB de 3,2% e ao final da ensilagem (aos 60 dias) o teor de PB foi de 1,6%, esse decréscimo nos teores de PB ao longo dos tempos de abertura pode ser

relacionado às reações que ocorreram no material ensilado durante o processo fermentativo, como exemplo, a proteólise que implica em perdas de compostos nitrogenados (LOURES *et al.*, 2003). Nas silagens adicionadas com FC encontrou-se teores mínimos estimados de PB de 14,5% aos 23 dias e 22,6% aos 22 dias para os níveis de inclusão de 10 e 20% do FC, respectivamente, após esses períodos os teores de PB elevaram-se (Tabela 5).

**Tabela 5** - Teores de proteína bruta (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	3,2	3,4	2,6	2,8	1,6	1,6	2,5	$Y_0=3,4 - 5,4 \times 10^{-2}X + 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,95
10	14,6	15,7	15,9	13,9	15,1	17,3	15,4	$Y_{10}=15,5 - 8,6 \times 10^{-2}X + 1,9 \times 10^{-3}X^2$	0,79
20	23,8	23,2	21,5	23,0	23,5	24,6	23,3	$Y_{20}=23,3 - 6,2 \times 10^{-2}X + 1,4 \times 10^{-3}X^2$	0,74
Média	13,9	14,1	13,3	13,2	13,4	14,5		CV = 3,8%	

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, os teores médios de PB elevaram-se com a adição crescente do coproduto do biodiesel, o que resultou em aumentos expressivos do teor de PB das silagens de capim-elefante (Tabela 5). Essa resposta é decorrente do alto teor de PB presente na composição químico-bromatológica do FC antes da ensilagem (51,4%) e nas respectivas misturas (Tabela 1), e pela menor produção de efluente, observado nas silagens adicionadas com FC (Tabela 25).

Na literatura foram encontrados teores de PB mais baixos para o FC, como Cardoso *et al.* (2016), trabalharam com o FC contendo 36,4% de PB; Mendonça *et al.* (2014), utilizaram FC com 35% de PB e Mizubuti *et al.* (2011) usaram FC de 37,1% e Oliveira *et al.* (2016) com FC de 32,3% de PB, porém, em todos esses trabalhos foram evidenciados o elevado teor proteico encontrado no FC e a sua contribuição para elevar os teores de PB das silagens produzidas.

O menor teor médio de PB (2,5%) foi encontrado nas silagens exclusivas de capim-elefante, esses baixos teores de PB estão associados à composição desse nutriente presente no capim-elefante antes da ensilagem (Tabela 1). As silagens de capim-elefante com adição de 10 e 20% do FC apresentaram teores médios de PB de 15,4 e 23,3%, respectivamente, o que está acima do recomendado por Van Soest (1994), no qual o limite considerado crítico para o apropriado funcionamento do ambiente ruminal situa-se em torno de 7%, sendo que teores abaixo podem afetar a fermentação ruminal por ocasionar redução da

atividade microbiana causada pela deficiência de nitrogênio, o que pode interferir no consumo voluntário pelos animais e no coeficiente de digestibilidade da forrageira.

### 10.2.3 Fibra em detergente neutro

Para os teores de FDN das silagens de capim-elefante, observou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos (Tabela 6).

As silagens exclusivas de capim-elefante apresentaram maiores teores de FDN observados de 68,4% aos 20 dias, enquanto que para as silagens com adição de 10 e 20% do FC, verificou-se maiores teores de FDN, de 59,0 no primeiro dia e 53,9% no décimo dia após a ensilagem, respectivamente (Tabela 6).

**Tabela 6** - Teores de fibra em detergente neutro (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	67,2	66,8	67,3	68,4	65,7	64,9	66,7	$Y_0=67,1 + 4,1 \times 10^{-2}X - 1,4 \times 10^{-3}X^2$	0,86
10	59,0	59,1	56,6	56,5	57,1	57,0	57,6	$Y_{10}=58,9 - 0,1X + 1,9 \times 10^{-3}X^2$	0,78
20	53,6	53,8	53,9	51,2	47,8	47,9	51,4	$Y_{20}=54,8 - 0,2X + 1,7 \times 10^{-3}X^2$	0,96
Média	59,9	59,9	59,3	58,7	56,9	56,6		CV = 1,0%	

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, verificou-se que os teores médios de FDN não oscilaram de forma significativa. Contudo, ao considerar os níveis de inclusão do FC, observou-se que os teores médios de FDN foram menores nas silagens com adição de 10 e 20% do FC em relação à silagem exclusiva de capim-elefante. Dessa forma, é possível notar que o FC contribuiu para reduzir os teores médios de FDN, esses decréscimos podem ser fundamentados pelo menor teor de FDN presente no FC, em relação ao capim-elefante antes da ensilagem (Tabela 1). Esse declínio nos teores de FDN representou 13,64% para as silagens com adição de 10% do FC e 22,9% com a inclusão de 20% do FC, em relação às silagens exclusivas de capim-elefante (Tabela 6).

Outra justificativa para essa redução dos teores de FDN das silagens aditivadas com o FC é a possível utilização de parte da hemicelulose pelos microrganismos, principalmente as bactérias ácido lácticas durante o processo fermentativo do material ensilado (dado que a hemicelulose é um dos constituintes da parede celular da planta, além da celulose

e lignina insolúveis ou remanescentes em detergente neutro, sendo determinado pelo teor de FDN). McDonald (1981), relata que durante o processo fermentativo, a quantidade de ácido produzido é geralmente maior do que a disponibilidade de carboidratos solúveis, propondo que substâncias como proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos e principalmente carboidratos estruturais, podem ser utilizados pelos microrganismos como substrato. A hidrólise da hemicelulose pode ser realizada por hemicelulases proveniente da planta e das bactérias, e também por ácidos orgânicos produzidos na fermentação. Esse fato pode ser constatado uma vez que, nesse estudo verificou-se pequena disponibilidade de carboidratos solúveis (Tabela 8).

Altos teores de FDN podem influenciar a ingestão de alimentos, em função do enchimento ruminal; em contrapartida, menores teores dessa fração representam ponto positivo na nutrição de ruminantes, uma vez que ela é apontada como um dos principais reguladores do consumo por sua lenta degradação e reduzida taxa de passagem (BONFÁ *et al.*, 2017). As silagens aditivadas com o FC (níveis de inclusão de 10 e 20%) apresentaram teores de FDN inferiores a 60%, limite considerado crítico por Van Soest, 1994, que acima desse valor representa limitação no consumo de matéria seca pelos animais, contudo, na silagem exclusiva de capim-elefante o teor de FDN (66,7%) foi considerado alto, confirmando o efeito positivo da utilização de aditivos.

#### **10.2.4 Fibra em detergente ácido**

Na interação níveis x tempos houve comportamento quadrático para os teores de FDA das silagens de capim-elefante (Tabela 7).

Os teores máximos observados de FDA ocorreram no vigésimo dia após a ensilagem, com 36% para as silagens exclusivas de capim-elefante, e, para as silagens adicionadas de 10 e 20% do FC, os teores máximos observados de FDA foram no quinto e décimo dia de avaliação, com 32,4 e 28,7%, respectivamente. Inicialmente, nos primeiros tempos de abertura dos silos houve elevação dos teores de FDA e, ao final do processo fermentativo, observou-se redução nos constituintes dessas frações, alcançando teores de FDA considerados adequados nas silagens aditivadas com o FC (Tabela 7).

Em relação ao FC adicionado na ensilagem de capim-elefante, verificou-se que os teores médios de FDA foram melhores nas silagens com adição de 10 e 20% do FC, que apresentaram teores menores em comparação às silagens exclusivas de capim-elefante. Tal

fato foi resultante das características apresentadas do material antes da ensilagem, conforme Tabela 1, em que o capim-elefante apresentou teores de FDA de 33,6% e o FC de 26,3%.

**Tabela 7** - Teores de fibra em detergente ácido (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crumbe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	34,8	34,9	35,2	36,0	34,5	34,1	34,9	$Y_0=34,8 + 4,8 \times 10^{-2}X - 1,0 \times 10^{-3}X^2$	0,79
10	30,8	32,4	30,2	30,3	30,2	29,8	30,6	$Y_{10}=31,4 - 5,1 \times 10^{-2}X + 4,0 \times 10^{-4}X^2$	0,65
20	26,4	28,7	26,1	26,9	25,3	26,2	26,6	$Y_{20}=27,5 - 7,2 \times 10^{-2}X + 8,0 \times 10^{-4}X^2$	0,56
Média	30,7	32,0	30,5	31,1	30,0	30,0		CV = 2,0%	

Respostas semelhantes foram encontradas em trabalhos ao utilizarem coprodutos da agroindústria na ensilagem de capim-elefante, em que obtiveram redução dos teores de FDA nas silagens aditivadas com os coprodutos, em relação à silagem exclusiva de capim-elefante (RIBEIRO *et al.*, 2014; BONFÁ *et al.*, 2015; CARDOSO *et al.*, 2016; AZEVEDO *et al.*, 2017; BONFÁ *et al.*, 2017).

Os teores médios de FDA das silagens de capim-elefante com adição de 10 e 20% do FC representaram reduções de 12,3 e 23,8%, respectivamente, em relação às silagens exclusivas de capim-elefante. Dessa forma, o FC favoreceu o decréscimo dos constituintes da parede celular, o que é considerado fator positivo, uma vez que, o teor de FDA determina a qualidade da parede celular e expressa a fração insolúvel e menos digestível desta (celulose e lignina – insolúveis ou remanescentes em detergente ácido) (VAN SOEST, 1994).

### 10.2.5 Carboidratos solúveis

Observou-se comportamento quadrático para os teores de CHOS das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 8).

Os teores máximos observados de CHOS das silagens de capim-elefante foram encontrados no primeiro dia após a ensilagem, com teores de 0,38; 0,36 e 0,29% para as silagens sem adição do FC, e com os níveis de inclusão de 10 e 20% do FC, respectivamente. Os maiores teores de CHOS no primeiro dia do processo fermentativo em todos os níveis de inclusão do FC, podem ser justificados por não ter ocorrido o consumo desse substrato pelos

microrganismos inicialmente, e, com o avanço dos processos fermentativos os teores de CHOS decresceram (Tabela 8).

Ao considerar os níveis de inclusão do FC das silagens de capim-elefante, observou-se redução dos teores médios de CHOS (Tabela 8), tal fato pode ser fundamentado pelo baixo teor de CHOS do FC antes da ensilagem (0,45%) e das misturas desse coproduto do biodiesel ao capim-elefante antes da ensilagem (Tabela 1). Esses dados permitem constatar que não houve contribuição do FC para elevar os teores de CHOS das silagens de capim-elefante.

**Tabela 8** - Teores de carboidratos solúveis (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crumbe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,38	0,19	0,12	0,08	0,05	0,05	0,15	$Y_0=0,3 - 1,5 \times 10^{-2}X + 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,90
10	0,36	0,19	0,11	0,08	0,04	0,04	0,14	$Y_{10}=0,3 - 1,5 \times 10^{-2}X + 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,91
20	0,29	0,17	0,09	0,05	0,04	0,03	0,11	$Y_{20}=0,2 - 1,2 \times 10^{-2}X + 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,92
Média	0,34	0,18	0,11	0,07	0,04	0,04		CV = 13,3%	

Em relação aos tempos de abertura dos silos, verificou-se redução dos teores médios de CHOS à medida que se avançou os dias após a ensilagem (Tabela 8). Essa redução pode ser justificada pelo consumo de CHOS pelos microrganismos durante o processo fermentativo do material ensilado, principalmente pelas bactérias ácido lácticas, com produção do ácido láctico e conseqüente redução do pH a valores adequados para boa conservação da forragem nos silos (Tabela 21). Os teores de CHOS tornaram-se praticamente nulos, dessa forma, os microrganismos possivelmente utilizaram os carboidratos estruturais como substratos para fermentação, o que foi fundamentado pela redução dos teores de FDN nos últimos tempos de abertura dos silos (Tabela 6), sendo a hemicelulose um dos constituintes da parede celular, determinada pelo teor de FDN, conforme relatado anteriormente.

### 10.2.6 Extrato etéreo

Observou-se comportamento quadrático para os teores de EE das silagens de capim-elefante (Tabela 9).

O maior teor observado de EE nas silagens exclusivas de capim-elefante foi de 6,9% aos 40 dias de abertura dos silos, e, nas silagens adicionadas com 10 e 20% do FC observou-se teores máximos de 3,5 e 3,3%, respectivamente, ambos aos 60 dias após a ensilagem (Tabela 9).

**Tabela 9** - Teores de extrato etéreo (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	3,8	5,2	5,5	6,6	6,9	6,4	5,7	$Y_0=4,1 + 0,2X - 2,1 \times 10^{-3}X^2$	0,97
10	2,6	2,3	2,5	2,4	2,6	3,5	2,7	$Y_{10}=2,6 - 2,4 \times 10^{-2}X + 6,0 \times 10^{-4}X^2$	0,97
20	1,9	2,4	2,5	2,1	2,4	3,3	2,4	$Y_{20}=2,2 - 1,1 \times 10^{-2}X + 5,0 \times 10^{-4}X^2$	0,87
Média	2,8	3,3	3,5	3,7	4,0	4,4		CV = 8,4%	

Os teores de EE das silagens de capim-elefante possibilitou concluir que estão dentro do limite crítico máximo (7%) para ruminantes, sendo que acima deste valor pode comprometer o consumo de MS e reduzir a digestibilidade da fibra (NRC, 2001). Altas proporções de EE na dieta afeta negativamente o processo fermentativo do rúmen, pois a gordura recobre as partículas dos alimentos, especialmente a fração fibrosa dos volumosos, limitando sua digestão pela toxidez ocasionada aos microrganismos, reduzindo ainda a atividade enzimática destes microrganismos (FÉRNANDEZ *et al.*, 2000).

Os farelos oriundos da produção de biodiesel são obtidos após o processamento através da extração do óleo por solventes (SOUZA *et al.*, 2009; CARRERA *et al.*, 2012), o que permite perceber que o teor de EE dos farelos é menor ao ser comparado com o das tortas, uma vez que possui alta eficiência de extração do óleo com redução do conteúdo de EE dos farelos gerados.

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, notou-se que, à medida que adicionou o coproduto do biodiesel houve decréscimo nos teores médios de EE das silagens de capim-elefante, fato que é alicerçado pelos teores de EE presentes no FC antes da ensilagem (Tabela 1). Contudo, Cardoso *et al.* (2016) não verificaram efeito dos níveis de inclusão do FC adicionado na ensilagem de capim-elefante sobre o teor de EE.

### 10.2.7 Nitrogênio amoniacal

Comportamento linear crescente foi observado para os teores de N-NH<sub>3</sub> (% do NT) das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 10).

Os teores observados de N-NH<sub>3</sub> das silagens exclusivas de capim-elefante variaram de 1,4 a 3,7%, no primeiro tempo de abertura dos silos, e no último dia após a ensilagem, respectivamente, e, com a adição de 10 e 20% do FC variaram de 1,9 a 8,9% e 2,8 a 11,9%, respectivamente (Tabela 10).

**Tabela 10** - Teores de nitrogênio amoniacal (% do NT) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	R <sup>2</sup>
	1	5	10	20	40	60			
0	1,4	2,5	2,7	2,4	3,7	3,7	2,7	$Y_0=2,0 + 3,3 \times 10^{-2}X$	0,87
10	1,9	2,6	3,4	5,7	7,9	8,9	5,1	$Y_{10}=2,3 + 0,1X$	0,97
20	2,8	4,6	5,4	8,9	10,6	11,9	7,4	$Y_{20}=4,0 + 0,1X$	0,89
Média	2,0	3,2	3,8	5,7	7,4	8,2		CV = 7,2%	

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, observou-se que os teores médios de N-NH<sub>3</sub> elevaram-se com o avanço dos dias após a ensilagem (Tabela 10), o que pode ser explicado pela possível utilização dos aminoácidos pelos microrganismos como fonte de energia para seu metabolismo ao longo dos tempos, uma vez que neste trabalho os CHOS, que são os principais substratos, apresentavam pequena disponibilidade (Tabela 8), e, havia uma boa quantidade de PB no material ensilado (Tabela 5). De acordo com Pahlow *et al.* (2003), a produção de amônia pode ser decorrente do baixo perfil de carboidratos fermentáveis, uma vez que as bactérias ácido lácticas podem utilizar aminoácidos como fonte primária de energia para o metabolismo, contudo esses microrganismos não são proteolíticos, porém, podem comportar dessa forma quando o aporte de nutrientes é baixo.

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, verificou-se que nas silagens aditivadas com 10 e 20% do FC foram encontrados teores médios de N-NH<sub>3</sub> mais alto em relação às silagens exclusivas de capim-elefante, com isso pode-se afirmar que esse coproduto do biodiesel elevou os teores de N-NH<sub>3</sub> ao serem adicionados na ensilagem de capim-elefante (Tabela 10). Apesar de ter ocorrido elevação dos teores de MS com adição do FC (Tabela 4) e redução dos valores de pH com o processo fermentativo, o que deixou o ambiente menos

propício a atividade de bactérias do gênero *Clostridium*, observou-se que houve maior produção de N-NH<sub>3</sub> com adição do FC na ensilagem de capim-elefante. Esse fato pode ser explicado pelo alto teor proteico do FC antes da ensilagem (Tabela 1), que incrementou em altas proporções os teores de PB das silagens de capim-elefante (Tabela 5), e houve a quebra da PB em abundância no meio, o que resultou em teores mais elevados de N-NH<sub>3</sub>, com a geração de amônia como produto final (Tabela 10).

Segundo Evangelista *et al.* (2004), os teores de N-NH<sub>3</sub> juntamente aos valores de pH, promovem indicativo da forma como se processou a fermentação no material ensilado, ou seja, quanto menor os teores de N-NH<sub>3</sub> há indício que o processo fermentativo resultou em baixa degradação de proteína em amônia com preservação das proteínas e compostos nitrogenados.

Conforme Benachio (1965), as silagens são classificadas em muito boa, quando os teores de N-NH<sub>3</sub> (% do NT) são inferiores a 10%; aceitável, quando se mantêm entre 10 e 15%; e insatisfatória, quando acima de 20%. No presente trabalho, observou-se que os teores médios de N-NH<sub>3</sub> são considerados adequados, contudo, nas silagens com o nível de inclusão de 20% do FC a partir dos 40 dias os teores são mais altos, todavia, são considerados aceitáveis (Tabela 10).

### **10.3 População microbiana das silagens**

Observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do FC e da interação níveis x tempos para a população de bactérias ácido lácticas (BAL). As entrobactérias (Enter) e fungos leveduriformes (FL) foram afetados significativamente pelos níveis de inclusão do FC, tempos de abertura dos silos e interação níveis x tempos. Quanto aos fungos filamentosos (FF), houve efeito significativo somente dos níveis de inclusão do FC (Tabela 11).

**Tabela 11** - Análise de variância da quantificação da população microbiana (log ufc/g) das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P			
		BAL	Entero	FL	FF
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Tempos de abertura	5	0,08	<0,001	<0,001	0,29
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001	0,13
Média		6,4	1,2	2,6	5,0

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade, P: nível de significância.

BAL: bactérias ácido lácticas; Entero: enterobactérias; FL: fungos leveduriformes; FF: fungos filamentosos.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

### 10.3.1 Bactérias ácido lácticas

Para a população das BAL das silagens de capim-elefante observou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos. A população das BAL das silagens exclusivas de capim-elefante apresentou ponto de mínimo estimado aos 23 dias com 5,6 log ufc/g de silagem. Nas silagens com adição de 10 e 20% do FC, a população mínima estimada das BAL foi de 6,2 e 6,3 log ufc/g de silagem aos 30 e 29 dias, respectivamente (Tabela 12). A presença inicial das BAL no material ensilado, primeiro dia, é decorrente das características da microbiota epífita, ou seja, dos microrganismos encontrados no material antes da ensilagem (Tabela 2).

**Tabela 12** - População de bactérias ácido lácticas (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	6,4	5,6	5,4	5,9	5,8	6,7	6,0	$Y_0 = 6,1 - 4,1 \times 10^{-2}X + 9,0 \times 10^{-4}X^2$	0,80
10	6,5	6,6	6,2	6,6	5,9	6,9	6,5	$Y_{10} = 6,7 - 3,6 \times 10^{-2}X + 6,0 \times 10^{-4}X^2$	0,66
20	6,7	7,0	6,6	6,7	6,1	7,2	6,7	$Y_{20} = 7,0 - 4,6 \times 10^{-2}X + 8,0 \times 10^{-4}X^2$	0,74
Média	6,5	6,4	6,1	6,4	5,9	6,9		CV = 2,9%	

Em relação aos tempos de abertura dos silos, não houve efeito significativo dos dias após a ensilagem para as populações médias das BAL. Entretanto, ao considerar os níveis de inclusão do FC, observou-se que a população média das BAL aumentou à medida que adicionou-se o FC (Tabela 12), em virtude do comportamento dos teores de MS das silagens

de capim-elefante, em que elevaram-se com a adição do FC (Tabela 4). A população média das BAL das silagens exclusivas de capim-elefante foi de 6,0 log ufc/g de silagem, e, nas silagens com adição de 10 e 20% do FC a população média das BAL foi de 6,5 e 6,7 log ufc/g de silagem, respectivamente (Tabela 12), o que caracterizou incrementos de 8,3 e 11,7%, respectivamente, em relação às silagens exclusivas de capim-elefante.

As BAL fermentam carboidratos solúveis em ácido láctico, pois estes compostos são os principais substratos utilizados por esse grupo microbiano para a conversão em ácidos orgânicos. Neste trabalho os teores de CHOS estavam baixos, e, com a adição do FC houve redução nesses teores (Tabela 8), demonstrando comportamento inverso à população das BAL, indicando pouca disponibilidade de substratos. Contudo, os teores de FDN reduziram com a adição do FC, o que pode ter justificado a utilização da hemicelulose, que é um dos constituintes da parede celular das plantas, como substrato pelas BAL. Outro fato ocorrido foi elevação do nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) com a adição do FC (Tabela 10), ou seja, as BAL podem ter utilizado aminoácidos como fonte para seu metabolismo, em decorrência da baixa disponibilidade dos CHOS, com conseqüente produção de amônia.

Dessa forma, pode-se afirmar que o FC contribuiu para elevar a população das BAL das silagens de capim-elefante, o que é considerado de grande relevância, pois o ácido láctico produzido por esses microrganismos possibilita a redução do pH com acidificação do meio, com preservação do material ensilado. A elevação da população das BAL com a adição do FC é justificada pela quantidade das BAL presente no material antes da ensilagem e nas respectivas misturas (Tabela 2), e pelos processos fermentativos ocorridos no interior dos silos. E, para a população das BAL, o nível de inclusão que apresentou melhor resultado foi o de 20% do FC adicionado na ensilagem de capim-elefante.

### ***10.3.2 Enterobactérias***

Comportamento quadrático foi observado para a população de enterobactérias (Entero) das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 13).

A população de Entero das silagens de capim-elefante foi detectada somente nos primeiros tempos de abertura dos silos, em todos os níveis de inclusão do FC. Nas silagens exclusivas de capim-elefante, detectou-se a presença da população de enterobactérias somente até o quinto dia após a ensilagem, porém nas silagens com 10 e 20% do FC, foram detectados presença de Entero apenas no primeiro dia após a ensilagem (Tabela 13). A presença da população de Entero na fase inicial da ensilagem é provavelmente em virtude da existência do

oxigênio residual do fechamento dos silos, no qual estas consomem o oxigênio presente, além dos valores alto de pH inicial no material ensilado.

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, verificou-se redução na população média de Entero com a adição do FC, ou seja, a maior quantificação dessa população microbiana foi encontrada nas silagens exclusivas de capim-elefante (2,4 log ufc/g de silagem) (Tabela 13). As reduções representaram quedas de 50,0 e 66,7% nas silagens adicionadas de 10 e 20% do FC, respectivamente, em relação às silagens exclusivas de capim-elefante. Tal fato foi considerado um fator positivo, uma vez que o desenvolvimento desse grupo microbiano é indesejável, por possuírem potencial de fermentar carboidratos a ácido acético, podendo competir com as BAL pelo substrato, e por apresentarem a capacidade de degradar aminoácidos, reduzindo o valor nutritivo da silagem, além de produzirem aminas e ácidos graxos ramificados com conseqüente redução de aceitabilidade desse alimento pelos animais. A amônia formada por proteólise aumenta a capacidade tampão do material ensilado, diminuindo a velocidade de redução do pH da silagem (MCDONALD *et al.*, 1991). Estes resultados permitem inferir que a competição das enterobactérias com as BAL pelo substrato, pode ter ocorrido somente na fase inicial do processo fermentativo.

**Tabela 13** - População de enterobactérias (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	6,1	5,8	ND	ND	ND	ND	2,4	$Y_0=5,9 - 0,4X + 4,7 \times 10^{-3}X^2$	0,86
10	5,8	ND	ND	ND	ND	ND	1,2	$Y_{10}=3,4 - 0,3X + 3,3 \times 10^{-3}X^2$	0,67
20	4,5	ND	ND	ND	ND	ND	0,8	$Y_{20}=2,6 - 0,2X + 2,6 \times 10^{-3}X^2$	0,67
Média	5,5	2,9	ND	ND	ND	ND		CV = 37,9%	

ND: não detectado.

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, observou-se redução na população média de Entero até não ser mais encontrada no material, à medida que se avançou o tempo de fermentação. O ocorrido pode ser explicado pelo decréscimo do pH com o avanço dos dias após a ensilagem (Tabela 21), dado que o desenvolvimento das Entero é inibido com a acidificação do meio, o que foi verificado no presente trabalho.

### 10.3.3 Fungos leveduriformes

Observou-se comportamento quadrático para a população de FL das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 14).

A população máxima estimada de FL das silagens exclusivas de capim-elefante foi encontrada aos 18 dias com 3,9 log ufc/g de silagem, e, nas silagens adicionadas com 10 e 20% do FC a população máxima alcançou 3,2 e 3,5 log ufc/g de silagem, no 9º e no 1º dia após a ensilagem, respectivamente. Após esses períodos, ocorreu queda nas contagens dos FL em todos os níveis de inclusão do FC, e ao longo dos tempos de abertura dos silos, em que não foi detectado presença dessa população microbiana no último dia de armazenamento (Tabela 14).

Neste trabalho a presença dos FL foi baixa nas silagens de capim-elefante adicionadas com o FC, fato que pode ter ocorrido em função da pequena disponibilidade de substratos (Tabela 8) para o seu crescimento, resultando em baixa produção de etanol (Tabela 23), visto que o etanol é um produto final de seu metabolismo, que por sua vez segundo Randby *et al.* 1998, propicia recusa de consumo pelo animal. Tal fato também pode ser associado à predominância das BAL nas silagens de capim-elefante (Tabela 12), em virtude da adição do FC, com produção de ácido láctico e acético, responsáveis pela redução dos valores de pH, e pelo potencial inibidor do desenvolvimento dos fungos, respectivamente.

**Tabela 14** - População de fungos leveduriformes (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	4,0	3,1	3,1	3,7	3,5	ND	2,9	$Y_0=3,2 + 7,7 \times 10^{-2}X - 2,1 \times 10^{-3}X^2$	0,93
10	3,6	3,2	3,5	2,2	2,4	ND	3,0	$Y_{10}=3,4 - 1,2 \times 10^{-2}X - 7,0 \times 10^{-4}X^2$	0,94
20	4,2	3,3	2,3	2,6	2,5	ND	3,0	$Y_{20}=3,5 - 2,5 \times 10^{-2}X - 5,0 \times 10^{-4}X^2$	0,89
Média	3,9	3,2	3,0	2,8	2,8	ND		CV = 11,4%	

ND: não detectado.

O postulado de Chamberlain (1987) *apud* Rodrigues *et al.* (2005), menciona que a rápida acidificação da silagem pode favorecer o desenvolvimento de fungos leveduriformes não sensíveis ao baixo pH e promover, portanto, a fermentação de açúcares a etanol, e, segundo McDonald *et al.* (1991), alguns tipos destes fungos podem se desenvolver em baixas

concentrações de oxigênio. No presente trabalho, observou-se a rápida queda nos valores de pH, o que pode ter acarretado a existência dos FL no meio. Contudo, a contagem dessa população microbiana nas silagens foi considerada baixa, principalmente nas silagens adicionadas com 10 e 20% do FC, que obtiveram contagens semelhantes de FL.

### 10.3.4 Fungos filamentosos

Para a população de FF das silagens de capim-elefante, verificou-se comportamento linear decrescente em função dos níveis de inclusão do FC (Tabela 15).

A população estimada de FF variou de 5,2 a 4,3 log ufc/g de silagem em função dos níveis de inclusão do FC na ensilagem de capim-elefante (Tabela 15). Esses dados permitem visualizar a redução da população de FF das silagens que foram adicionadas com FC em relação à silagem exclusiva de capim-elefante, porém, essa queda não foi tão expressiva. Tal fato pode ser justificado pela quantidade de FF presente no material antes da ensilagem, que obteve mesmo comportamento em relação aos níveis de inclusão do FC nas misturas do material (Tabela 2).

**Tabela 15** - População de fungos filamentosos (log ufc/g) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	5,1	5,3	5,3	5,2	5,2	4,9	5,2	$Y_{\text{níveis}} = 5,2 - 1,5 \times 10^{-2} X$	0,98
10	5,0	4,9	4,9	5,1	4,9	5,0	5,0		
20	5,0	4,9	5,0	4,9	4,9	4,7	4,9		
Média	5,0	5,0	5,1	5,1	5,0	4,9		CV = 3,2%	

Após a ensilagem de capim-elefante com os diferentes níveis de inclusão do FC, as condições do meio ficaram desfavoráveis para o desenvolvimento dos FF, ou seja, condições inadequadas para germinação de esporos fúngicos, através da acidificação proporcionada pela produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático (Tabela 17), além da produção de ácido acético (Tabela 18), que possui ação antifúngica, contribuindo para controlar a ação dos fungos durante o processo fermentativo (PAHLOW *et al.*, 2003).

Os FF contribuem de forma negativa para as perdas na superfície do silo na fase de descarregamento, além disso, podem degradar proteínas gerando como produto final a

amônia, que tem a capacidade de neutralizar os ácidos orgânicos formados e impedir a redução dos valores de pH, porém, os FF não são significativos em relação à fermentação da silagem (JOBIM & GONÇALVES, 2003).

Neste trabalho as quantidades de FF das silagens de capim-elefante adicionadas com FC foram consideradas baixas, pois, segundo McDonald *et al.* (1991) a presença de populações de fungos acima de 5 log ufc/g de silagem são geralmente associadas à rápida deterioração aeróbica da silagem. Dessa forma, o reduzido número populacional de fungos leveduriformes e filamentosos nas silagens de capim-elefante, devem-se ao efeito inibitório causado pelo ácido acético (Tabela 18), que apresentaram comportamentos contrários, ou seja, à medida que aumentou a produção de ácido acético, houve redução da população dos fungos leveduriformes e filamentosos com a adição do FC.

#### 10.4 Ácidos orgânicos das silagens

Observou-se efeito significativo para os teores de ácido láctico e acético em função dos níveis de inclusão do FC, tempos de abertura dos silos e interação níveis x tempos. Para os teores de ácido butírico verificou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do FC e da interação níveis x tempos, não sendo afetado pelos tempos de abertura dos silos (Tabela 16).

**Tabela 16** - Análise de variância dos ácidos orgânicos das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crumbe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P		
		Ácido láctico	Ácido acético	Ácido butírico
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	<0,001
Tempos de abertura	5	<0,001	<0,001	0,16
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001
Média		4,5	0,1	0,005

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: nível de significância. Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

##### 10.4.1 Ácido láctico

Observou-se comportamento quadrático para os teores de ácido láctico das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 17).

As silagens exclusivas de capim-elefante apresentaram produção máxima estimada de ácido láctico de 4,5% aos 39 dias. Nas silagens adicionadas de 10 e 20% do FC os

teores máximos estimados de ácido láctico foram encontrados aos 46 e 38 dias com 5,3 e 6,8%, respectivamente (Tabela 17).

Em relação aos níveis de inclusão do FC na ensilagem de capim-elefante observou-se aumento dos teores de ácido láctico, em que a menor produção desse ácido orgânico ocorreu nas silagens exclusivas de capim-elefante (Tabela 17). Tal fato pode estar associado ao mesmo comportamento encontrado pelas BAL das silagens de capim-elefante (Tabela 12), com maior população das BAL com a adição do FC, uma vez que, segundo Bolsen (1995) este grupo microbiano é o principal responsável pela produção de ácido láctico como produto final da fermentação. Vale ressaltar que as BAL homofermentativas proporcionam maior eficiência na produção do ácido láctico e consequente rapidez na acidificação (WEINBERG & MUCK, 1996). Todavia as BAL heterofermentativas produzem ácido láctico, em menor proporção, além de ácido acético, ácido propiônico e etanol, adicionados de CO<sub>2</sub> (ZOPOLLATTO *et al.*, 2009). Porém, neste trabalho não foi realizada a caracterização das BAL em relação a essas duas categorias de classificação.

**Tabela 17** – Teores de ácido láctico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crumbe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	R <sup>2</sup>
	1	5	10	20	40	60			
0	2,2	3,6	4,0	4,9	3,3	4,2	3,7	$Y_0 = 2,9 + 8,5 \times 10^{-2}X - 1,1 \times 10^{-3}X^2$	0,59
10	3,1	3,7	4,7	4,7	4,8	5,1	4,4	$Y_{10} = 3,4 + 8,2 \times 10^{-2}X - 9,0 \times 10^{-4}X^2$	0,89
20	3,5	5,0	5,4	6,2	6,7	6,0	5,5	$Y_{20} = 3,8 + 0,2X - 2,1 \times 10^{-3}X^2$	0,96
Média	2,9	4,1	4,7	5,3	4,9	5,1		CV = 7,3%	

A taxa de produção de ácido láctico é um fator imprescindível na inibição do crescimento de bactérias indesejáveis e na redução das perdas durante o processo fermentativo, uma vez que a produção desse ácido é dependente da população inicial de bactérias ácido lácticas no momento do processo de ensilagem e da quantidade de substrato presente no meio (MCDONALD & HENDERSON, 1981). Neste trabalho, verificou-se presença das BAL no capim-elefante e nas misturas antes da ensilagem, o que justifica a existência desse grupo de bactérias nas silagens de capim-elefante desde o primeiro dia de abertura dos silos (Tabela 2).

A fermentação láctica deve predominar nas condições anaeróbicas, para que as plantas forrageiras possam ser conservadas como silagem (FERREIRA *et al.*, 2013), sendo

que o ácido láctico é o principal responsável pela redução do pH rapidamente, por se tratar de um ácido mais forte do que os demais.

A adição do FC na ensilagem de capim-elefante contribuiu para elevar os teores de ácido láctico, o que representou acréscimos de 18,9 e 48,6% nas silagens adicionadas de 10 e 20% do FC, respectivamente, em relação à silagem exclusiva de capim-elefante. Apenas nas silagens exclusivas de capim-elefante os teores de ácido láctico não alcançaram o teor considerado adequado (4,0%) conforme Vieira *et al.* (2004), em compilação de dados para avaliação de silagens. E, no presente trabalho, as silagens com adição de 20% do FC obtiveram os melhores resultados para o ácido láctico.

#### 10.4.2 Ácido acético

Os teores de ácido acético das silagens de capim-elefante apresentaram comportamento linear crescente em função da interação níveis x tempos (Tabela 18).

A produção estimada de ácido acético nas silagens exclusivas de capim-elefante variou de 0,04 a 0,15%, e, nas silagens com os níveis de inclusão de 10 e 20% do FC, os teores de ácido acético variaram de 0,06 a 0,16% e 0,07 a 0,16%, respectivamente (Tabela 18).

**Tabela 18** - Teores de ácido acético (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crumbe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,03	0,06	0,07	0,10	0,07	0,17	0,08	$Y_0=4,3 \times 10^{-2} + 1,8 \times 10^{-3} X$	0,85
10	0,05	0,07	0,09	0,12	0,14	0,15	0,10	$Y_{10}=6,7 \times 10^{-2} + 1,6 \times 10^{-3} X$	0,93
20	0,04	0,09	0,10	0,13	0,12	0,15	0,11	$Y_{20}=7,4 \times 10^{-2} + 1,4 \times 10^{-3} X$	0,82
Média	0,04	0,07	0,09	0,12	0,11	0,16		CV = 11,8%	

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, verificou-se elevação dos teores de ácido acético das silagens de capim-elefante no decorrer dos dias do processo fermentativo (Tabela 18), o que pode ser associado à intensa atividade microbiana das BAL, provavelmente as heterofermentativas, que estavam presentes no material ensilado em todos os tempos de abertura dos silos (Tabela 12). Contudo, há necessidade de trabalhos voltados para a identificação desses microrganismos para validar os argumentos mencionados anteriormente.

De acordo com McDonald *et al.* (1991), a elevada produção de ácido acético é indício da atuação de enterobactérias durante os estádios iniciais da fermentação da silagem, competindo por nutrientes com as bactérias lácticas. Essa condição não foi observada nas silagens de capim-elefante adicionadas com FC, uma vez que a produção de ácido acético foi baixa e, não foi detectada presença de enterobactérias após o quinto dia de ensilagem (Tabela 13).

Em relação aos níveis de inclusão do FC, observou-se aumento nos teores de ácido acético, porém esse aumento não foi muito expressivo. Portanto, constatou-se que as maiores produções de ácido acético ocorreram com a adição de 10 e 20% do FC, em comparação às silagens exclusivas de capim-elefante (Tabela 18).

Os teores de ácido acético encontrados em todos os níveis de inclusão do FC e nos tempos de abertura dos silos das silagens de capim-elefante foram inferiores a 0,8%, considerado um fator positivo, pois de acordo com Rodrigues *et al.* (2005), teores acima deste limite crítico relaciona-se às alterações indesejáveis durante o processo de ensilagem.

O ácido acético apresenta o potencial de ser inibidor de fungos filamentosos e leveduriformes, microrganismos estes precursores da degradação aeróbia das silagens e responsáveis pelo consumo de carboidratos no processo com a liberação de CO<sub>2</sub> resultante de seu metabolismo (MCDONALD *et al.*, 1991; DANNER *et al.*, 2003). A capacidade inibidora do ácido acético nos fungos leveduriformes e filamentosos foram observadas neste trabalho, uma vez que apresentaram comportamentos inversos (Tabelas 14 e 15) à produção de ácido acético (Tabela 18), ou seja, à medida que aumentou a produção de ácido acético ocorreu a redução na população de fungos leveduriformes e filamentosos, que são prejudiciais ao processo fermentativo. Dessa forma, é possível notar que o ácido acético contribuiu para a melhoria da conservação do material ensilado através da inibição do desenvolvimento desses microrganismos indesejáveis.

#### **10.4.3 Ácido butírico**

Observou-se comportamento quadrático para os teores de ácido butírico das silagens de capim-elefante em função da interação níveis x tempos (Tabela 19).

Os teores observados de ácido butírico foram encontrados nas silagens exclusivas de capim-elefante e com adição de 10% do FC até o quinto dia após a ensilagem, e, nas silagens adicionadas com 20% do FC, a produção de ácido butírico ocorreu somente no primeiro dia de abertura dos silos. Após esses períodos não foi detectado produção de ácido butírico (Tabela 19), evidenciando que houve controle efetivo da fermentação clostrídica, uma

vez que as bactérias do gênero *Clostridium* são as principais responsáveis pela produção de ácido butírico. Além disso, a ausência de produção de ácido butírico nas silagens de capim-elefante pode ser justificada pela redução do pH com acidificação do meio (Tabela 21), dado que bactérias do gênero *Clostridium* são favorecidas em ambientes com elevado pH, o que não foi observado nesse trabalho nos últimos tempos de abertura dos silos.

Em relação aos níveis de inclusão do FC, verificou-se redução dos teores médios de ácido butírico à medida que adicionou-se FC na ensilagem de capim-elefante (Tabela 19). Tal fato pode ser baseado na elevação dos teores de MS das silagens de capim-elefante com a adição desse coproduto do biodiesel (Tabela 4), uma vez que o desenvolvimento dos Clostrídios pode ser atribuído ao excesso de água na forragem o que torna o meio mais propício para seu desenvolvimento (ZANINE, *et al.*, 2006), o que não foi observado excesso de umidade das silagens de capim-elefante com adição do FC.

**Tabela 19** – Teores de ácido butírico (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,01	0,05	0,0	0,0	0,0	0,0	0,010	$Y_0=2,6 \times 10^{-2} - 1,4 \times 10^{-3}X + 1,7 \times 10^{-5}X^2$	0,61
10	0,01	0,01	0,0	0,0	0,0	0,0	0,003	$Y_{10}=9,9 \times 10^{-3} - 6,0 \times 10^{-4}X + 7,9 \times 10^{-6}X^2$	0,85
20	0,01	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,002	$Y_{20}=5,9 \times 10^{-3} - 4,0 \times 10^{-4}X + 5,7 \times 10^{-6}X^2$	0,67
Média	0,01	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0		CV = 39,6%	

A produção do ácido butírico é indesejável em silagens, pois este ácido orgânico está relacionado com a população de bactérias do gênero *Clostridium*, e estes, por sua vez, promovem fermentações secundárias e indesejáveis, além da degradação de proteína e de ácido láctico, caracterizando silagens de baixa qualidade (MCDONALD *et al.*, 1991). Além disso, reduz o valor nutritivo das silagens, elevam os valores de pH com a redução dos teores de ácido láctico do meio, e resulta em odor desagradável o que reduz a aceitabilidade pelo animal, e redução da estabilidade aeróbia da silagem (MAHANNA, 1994 *apud* LOPES, 2006).

Esses dados possibilitam confirmar a predominância do ácido láctico durante o processo fermentativo (Tabela 17), rápida queda do pH (Tabela 21), com razoáveis teores de ácido acético (Tabela 18) e baixos teores de ácido butírico (Tabela 19) das silagens de capim-elefante.

### 10.5 Potencial hidrogeniônico das silagens

Verificou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do FC, tempos de abertura dos silos e da interação níveis x tempos para o valor de potencial hidrogeniônico (pH) das silagens de capim-elefante (Tabela 20).

**Tabela 20** - Análise de variância de pH das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P
		pH
Níveis de inclusão	2	<0,001
Tempos de abertura	5	<0,001
NI x TA	10	<0,001
Média		4,2

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: nível de significância.

pH: potencial hidrogeniônico.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

Os valores de pH das silagens de capim-elefante apresentaram comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos. Os valores mínimos estimados de pH das silagens exclusivas de capim-elefante foram de 3,6 aos 43 dias após a ensilagem, e, das silagens com os níveis de inclusão de 10 e 20% do FC os valores mínimos estimados de pH foram de 4,0 e 3,7 aos 38 e 53 dias após a ensilagem, respectivamente (Tabela 21). No primeiro dia do processo fermentativo os valores de pH foram maiores na silagem exclusiva (0% do FC), seguido dos níveis de inclusão de 10% e 20% do FC, em conformidade com os valores iniciais de pH do material antes da ensilagem (Tabela 2).

**Tabela 21** – Valores de pH das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	5,2	4,3	4,1	3,9	3,9	3,8	4,2	$Y_0 = 4,9 - 6,0 \times 10^{-2}X + 7,0 \times 10^{-4}X^2$	0,85
10	4,7	4,3	4,1	4,2	4,1	4,0	4,2	$Y_{10} = 4,5 - 2,3 \times 10^{-2}X + 3,0 \times 10^{-4}X^2$	0,80
20	4,4	4,2	3,9	4,0	3,9	3,8	4,0	$Y_{20} = 4,3 - 2,1 \times 10^{-2}X + 2,0 \times 10^{-4}X^2$	0,85
Média	4,8	4,3	4,0	4,0	4,0	3,9		CV = 1,6%	

Em relação aos tempos de abertura dos silos, observou-se uma rápida queda dos valores médios de pH das silagens de capim-elefante, com posterior estabilização (Tabela 21), o que é considerado um fator importante, pois segundo Evangelista *et al.* (2004), apenas o baixo pH final do material ensilado não garante que a atividade dos microrganismos indesejáveis que degradam proteína, especialmente as enterobactérias e clostrídios, seja reduzida durante o processo fermentativo. Os mesmos autores ressaltam que, para que ocorra o impedimento do desenvolvimento de enterobactérias e clostrídios, é necessário que a redução dos valores de pH seja alcançada rapidamente.

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, verificou-se que os valores médios de pH foram semelhantes nas silagens exclusivas de capim-elefante e nas silagens adicionadas com 10% do FC (4,2), e, nas silagens com adição de 20% desse coproduto do biodiesel foi obtido menor valor médio de pH (4,0). Esses dados possibilitam salientar que o FC foi efetivo na redução dos valores de pH, particularmente nas silagens adicionadas com 20% do FC, que por sua vez, está diretamente relacionado com a conservação do material ensilado (Tabela 21). Desse modo, os valores médios obtidos de pH nas silagens de capim-elefante em relação aos níveis de inclusão do FC, estão de acordo com o intervalo recomendado por McDonald *et al.* (1991), em que relataram que uma silagem de boa qualidade apresenta valores de pH entre 3,8 a 4,2.

O pH não deve ser considerado de forma isolada como parâmetro de indicador de qualidade da fermentação do material ensilado, pois seu efeito inibidor de microrganismos indesejáveis depende de outros fatores, como exemplo a velocidade de redução da concentração e do conteúdo de umidade do material ensilado (COAN *et al.*, 2007). Além do possível desenvolvimento de fungos leveduriformes em baixos valores de pH, uma vez que, esse grupo microbiano pode se desenvolver em ampla faixa de pH (MCDONALD *et al.*, 1991).

Com isso, observou-se que o FC além de promover aumento do teor de MS (Tabela 4), favoreceu o desenvolvimento de BAL (Tabela 12) e elevação da produção de ácido láctico (Tabela 17), com conseqüente redução nos valores de pH (Tabela 21), o que evidenciou a contribuição do ácido láctico em acidificar o meio. De modo geral, o incremento do FC melhorou o perfil fermentativo e a preservação do material ensilado, com redução da atividade de microrganismos indesejáveis (Tabelas 13, 14 e 15).

## 10.6 Etanol das silagens

Observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do FC e tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, assim como da interação níveis x tempos para os teores de etanol das silagens de capim-elefante (Tabela 22).

**Tabela 22** - Análise de variância de etanol das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P
		Etanol
Níveis de inclusão	2	<0,001
Tempos de abertura	5	0,01
NI x TA	10	<0,001
Média		0,09

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: p-valor.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

Verificou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos para os teores de etanol das silagens de capim-elefante (Tabela 23).

Os teores máximos estimados de etanol das silagens exclusivas de capim-elefante alcançaram 0,13% aos 45 dias, e, das silagens com adição de 10 e 20% do FC os teores máximos de etanol foram de 0,10 e 0,09% aos 27 e 47 dias, respectivamente (Tabela 23).

**Tabela 23** - Teores de etanol (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	0,05	0,11	0,11	0,15	0,08	0,14	0,11	$Y_0 = 8,3 \times 10^{-2} + 1,9 \times 10^{-3}X - 2,1 \times 10^{-5}X^2$	0,46
10	0,06	0,11	0,12	0,09	0,09	0,09	0,09	$Y_{10} = 9,1 \times 10^{-2} + 8,0 \times 10^{-4}X + 1,5 \times 10^{-5}X^2$	0,25
20	0,04	0,08	0,08	0,10	0,07	0,09	0,08	$Y_{20} = 6,0 \times 10^{-2} + 1,5 \times 10^{-3}X - 1,6 \times 10^{-5}X^2$	0,60
Média	0,05	0,10	0,10	0,11	0,08	0,11		CV = 14,1%	

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, verificou-se aumento nos teores médios de etanol ao comparar o primeiro e o último dia após a ensilagem (Tabela 23). Este fato ocorreu em função do processo fermentativo das silagens, em que os fungos leveduriformes e as BAL heterofermentativas utilizaram os substratos contidos no material

ensilado para seu desenvolvimento, gerando como produtos finais vários compostos, dentre eles os ácidos orgânicos, CO<sub>2</sub> e etanol (MCDONALD *et al.*, 1991).

Em relação aos níveis de inclusão do FC, observou-se redução nos teores médios de etanol nas silagens de capim-elefante, ou seja, à medida que adicionou-se o FC houve queda na produção média de etanol, porém, esse decréscimo foi pouco expressivo (Tabela 23). Dessa forma, a inclusão do FC contribuiu para a redução da fermentação alcoólica nas silagens de capim-elefante, o que é considerado um fator positivo, pois a produção de etanol desencadeia perdas de MS no material ensilado, além de provocar rejeição de consumo pelo animal, logo após o fornecimento no cocho (SCHMIDT *et al.*, 2004), além de promover redução dos carboidratos disponíveis como substrato para utilização pelos microrganismos desejáveis nas silagens.

Contudo, os teores de etanol das silagens de capim-elefante encontrados foram considerados baixos, estando em conformidade com compilação de dados realizado por Vieira *et al.* (2004), em que relataram que é considerado silagem de boa qualidade quando a produção de etanol é menor do que 0,1% na MS para silagem de milho e sorgo. As baixas produções de etanol podem ser associadas à pequena concentração de carboidratos solúveis no material ensilado (Tabela 8).

A produção de etanol observada nesse trabalho provavelmente foi decorrente das BAL heterofermentativas, que além do ácido lático produzem também CO<sub>2</sub>, etanol e ácido acético (MCDONALD *et al.* 1991), e esse grupo microbiano esteve presente em todos os tempos de abertura dos silos. Os fungos leveduriformes também podem ter sido os responsáveis pela produção de etanol, uma vez que o etanol é o principal produto da fermentação dos açúcares pelos fungos leveduriformes (ARCURI *et al.*, 2003). Contudo, a presença dos fungos leveduriformes nas silagens de capim-elefante foi considerada baixa, não sendo detectada no último tempo de abertura, demonstrando que possivelmente as BAL heterofermentativas provavelmente foram as maiores responsáveis pela produção de etanol.

### **10.7 Perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens**

Para as perdas por efluentes observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão do FC, tempos de abertura dos silos e interação níveis x tempos. Para as perdas por gases e para o índice de recuperação de matéria seca das silagens de capim-elefante houve efeito apenas dos níveis de inclusão do FC e da interação níveis x tempos (Tabela 24).

**Tabela 24** - Análise de variância das perdas por efluentes, por gases e índice de recuperação de matéria seca das silagens de capim-elefante, em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura (TA), em dias, após a ensilagem

FV	GL	P		
		PE	PG	RMS
Níveis de inclusão	2	<0,001	<0,001	<0,001
Tempos de abertura	5	0,01	1,0	0,08
NI x TA	10	<0,001	<0,001	<0,001
Média		29,0	11,4	85,8

FV: fonte de variação; GL: grau de liberdade, P: nível de significância.

PE: perdas por efluentes; PG: perdas por gases; RMS: Índice de recuperação de matéria seca.

Significativo em  $p < 0,05$  e não significativo em  $p > 0,05$  pelo teste F.

### 10.7.1 Perdas por produção de efluentes

Comportamento linear crescente foi observado em função da interação níveis x tempos para as perdas por efluentes das silagens de capim-elefante (Tabela 25).

As perdas por efluentes observadas variaram de 25,8 a 89,3 kg/ton de matéria verde das silagens exclusivas de capim-elefante ao longo dos tempos de abertura dos silos, e, das silagens com níveis de inclusão de 10 e 20% do FC, as perdas por efluentes observadas oscilaram de 5,9 a 42,0 e 2,0 a 9,4 kg/ton de matéria verde, no primeiro dia e no último dia após a ensilagem, respectivamente (Tabela 25).

**Tabela 25** - Perdas por efluentes (kg/ton de matéria verde) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	25,8	49,8	57,6	66,1	66,7	89,3	59,2	$Y_0 = 40,8 + 0,8X$	0,89
10	5,9	15,9	16,3	24,1	32,8	42,0	22,8	$Y_{10} = 10,3 + 0,6X$	0,97
20	2,0	2,5	3,5	4,9	7,4	9,4	5,0	$Y_{20} = 2,1 + 0,1X$	0,99
Média	11,2	22,7	25,8	31,7	35,6	46,9		CV = 6,7%	

Ao considerar os tempos de abertura dos silos, observou-se que à medida que ocorreram os processos fermentativos, houve aumento dos valores médios das perdas por efluentes das silagens de capim-elefante (Tabela 25). Andrade *et al.* (2012) também observaram maior perda por efluentes no último tempo de abertura estudado, em silagens de capim-elefante.

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, verificou-se que os valores médios das perdas por efluentes reduziram à medida que se adicionou o coproduto do biodiesel (Tabela 25). Os decréscimos representaram 61,5 e 91,6% com a adição de 10 e 20% do FC, respectivamente, comparadas às perdas por efluentes obtidas nas silagens exclusivas de capim-elefante. Segundo LOURES *et al.* (2005), as silagens com menores teores de MS apresentam maiores perdas por efluentes, que foi observado no presente trabalho.

Dessa forma, observou-se que o FC utilizado na ensilagem de capim-elefante possui elevado potencial como aditivo absorvente de umidade, em virtude do aumento dos teores de MS (Tabela 4), que esteve diretamente relacionado com a menor produção de efluentes.

O efluente das silagens carrega nutrientes em água, compostos nitrogenados, açúcares, ácidos orgânicos e sais minerais, o que representa redução no valor nutritivo das silagens (TEIXEIRA *et al.*, 2008; ANDRADE *et al.*, 2012; PACHECO *et al.*, 2014). Nesse trabalho, a inclusão do FC possibilitou redução do escape de nutrientes altamente digestíveis via efluente, e, nas silagens com adição de 20% do FC, obteve-se melhores resultados para esse parâmetro.

### **10.7.2 Perdas por produção de gases**

Observou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos para as perdas por gases das silagens de capim-elefante (Tabela 26).

As silagens exclusivas de capim-elefante, adicionadas de 10 e 20% do FC, apresentaram perdas máximas estimadas por gases de 15,0; 13,5 e 10,3% aos 17; 28 e 34 dias, respectivamente (Tabela 26).

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, as silagens exclusivas de capim-elefante (0% do FC), apresentaram perdas médias por gases de 14,0% e, as silagens adicionadas com 10 e 20% do FC as perdas médias por gases reduziram para 11,6 e 8,7%, respectivamente (Tabela 26). Tal fato pode ser explicado pela elevação dos teores de MS com adição do FC, que favoreceu fermentações desejáveis, e pelo abaixamento mais rápido do pH nas silagens aditivadas, através da redução da atividade de microrganismos produtores de gases durante o processo fermentativo, como as bactérias do gênero *Clostridium*, as enterobactérias e as BAL heterofermentativas, com maior predominância de fermentação láctica.

**Tabela 26** - Perdas por gases (% da MS) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	12,0	16,8	15,3	14,3	14,3	11,3	14,0	$Y_0=13,8 + 0,1X - 2,9 \times 10^{-3}X^2$	0,70
10	9,9	11,8	13,2	13,4	11,6	9,6	11,6	$Y_{10}=10,7 + 0,2X - 3,6 \times 10^{-3}X^2$	0,87
20	7,0	8,5	8,3	9,5	10,3	8,5	8,7	$Y_{20}=6,9 + 0,2X - 2,9 \times 10^{-3}X^2$	0,95
Média	9,6	12,4	12,3	12,4	12,1	9,8		CV = 7,7%	

De acordo com Zanine *et al.* (2010), altos teores de umidade no material ensilado estão associados as perdas por gases e efluentes, em que bactérias do gênero *Clostridium* são beneficiadas em ambientes muito úmidos e com alto pH, elevando as perdas por gases, pois produzem  $CO_2$  e ácido butírico, em vez de ácido lático. Além disso, o poder tampão das silagens de capim favorece o crescimento de enterobactérias, que são produtoras de gases, tais como  $CO_2$ , além de etanol, ácido acético e amônia. Porém, os teores de MS das silagens de capim-elefante aditivadas com FC estavam dentro dos intervalos considerados adequados (Tabela 4), não caracterizando material úmido, os valores de pH foram considerados satisfatórios para a conservação do material ensilado (Tabela 21), o que não favoreceu o desenvolvimento dos microrganismos indesejáveis (Tabelas 13, 14 e 15). A produção de ácido butírico (Tabela 19) e de etanol (Tabela 23) foi considerada baixa e houve predominância de fermentação láctica (Tabelas 12 e 17), o que permite enfatizar que as perdas nas silagens aditivadas com FC foram mínimas.

### 10.7.3 Índice de recuperação matéria seca

Verificou-se comportamento quadrático em função da interação níveis x tempos das silagens de capim-elefante para o índice de recuperação de matéria seca (Tabela 27).

O índice de recuperação de matéria seca teve menor valor observado aos 10 dias com 79,0% das silagens exclusivas de capim-elefante, e, as silagens com adição de 10 e 20 % do FC, o menor índice de recuperação de matéria seca observado foi de 81,1 e 91,0%, respectivamente, ambas aos 10 dias após a ensilagem (Tabela 27).

**Tabela 27** – Índice de recuperação de matéria seca (%) das silagens de capim-elefante em função dos níveis de inclusão (NI) do farelo de crambe e dos tempos de abertura dos silos, em dias, após a ensilagem, com as respectivas médias, equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de variação (CV)

NI (%)	Tempos de abertura						Média	Equações de regressão	$R^2$
	1	5	10	20	40	60			
0	85,5	79,6	79,0	80,1	79,3	81,5	80,8	$Y_0 = 83,2 - 0,3X + 4,5 \times 10^{-3}X^2$	0,68
10	88,1	83,6	81,1	84,0	83,1	84,3	84,0	$Y_{10} = 85,9 - 0,2X + 3,4 \times 10^{-3}X^2$	0,60
20	91,4	92,6	91,0	92,8	93,2	94,0	92,5	$Y_{20} = 91,5 + 4,5 \times 10^{-2}X - 6,9 \times 10^{-3}X^2$	0,84
Média	88,3	85,3	83,7	85,6	85,2	86,6		CV = 1,5%	

Ao considerar os níveis de inclusão do FC, observou-se que houve elevação do índice de recuperação média de matéria seca das silagens de capim-elefante (Tabela 27), o que representou acréscimos de 4,0 e 14,5% das silagens adicionadas de 10 e 20% do FC, respectivamente, em relação às silagens exclusivas de capim-elefante. Essa elevação do índice de recuperação de matéria seca em comparação às silagens sem o FC pode ser comprovado pela redução das perdas fermentativas nas formas de efluentes (Tabela 25) e de gases (Tabela 26).

De acordo com Pacheco *et al.* (2014), a taxa de recuperação da matéria seca é altamente afetada pelas perdas por produção de efluentes e por gases das silagens de capim-elefante, sendo o cálculo determinado em função dessas duas variáveis, ou seja, naqueles tratamentos onde ocorreram maiores perdas por gases e por efluentes, o índice de recuperação de matéria seca é menor. A silagem originada com o maior teor de MS tende a resultar em elevação do índice de recuperação de matéria seca, resultado que foi observado no presente trabalho, justificando a utilização do FC. Nas silagens com a adição de 20% do FC, encontrou-se os melhores resultados para esse parâmetro.



## 11 CONCLUSÕES

O farelo de crambe adicionado na ensilagem de capim-elefante foi eficiente na elevação de matéria seca, melhorando o processo fermentativo, contribuindo para o desenvolvimento de microrganismos benéficos em detrimento dos indesejáveis, e, pela ação antifúngica proporcionada pela adequada produção de ácido acético que diminuiu o desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduriformes, com consequente baixa produção de etanol. Além disso, o farelo de crambe reduziu os teores de ácido butírico, proporcionou predominância da fermentação láctica, e, redução dos valores de pH, que foram suficientes para a preservação do material ensilado.

Níveis crescentes de farelo de crambe elevaram os teores de nitrogênio amoniacal, contudo, os conteúdos encontrados foram considerados adequados, não afetando de forma negativa o material ensilado. Os teores de fibra em detergente neutro e em detergente ácido foram reduzidos com adição do farelo de crambe, os teores de proteína bruta elevaram-se de forma expressiva, o que caracterizou incremento do valor nutricional. Não houve contribuição do coproduto do biodiesel sobre os carboidratos solúveis, os teores de extrato etéreo reduziram com os níveis crescentes do farelo de crambe. As perdas por gases e por efluentes foram reduzidas e o índice de recuperação de matéria seca das silagens de capim-elefante foi aumentado com a inclusão do farelo de crambe. O maior nível de inclusão (20%) do farelo de crambe promoveu as melhores características nas silagens de capim-elefante.



## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, A. de A.; EDUARDO, J. L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, suplemento especial, p.260-258, 2008.
- ANDRADE, P. A.; QUADROS, D. G. de; BEZERRA, A. R. G.; ALMEIDA, J. A. R.; SILVA, P. H. S.; ARAÚJO, J. A. M. Aspectos qualitativos da silagem de capim-elefante com fubá de milho e casca de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, p.1209-1218, 2012.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International**. 16<sup>th</sup> ed. Washington, 1995. 1070p.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International**. 17<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, 2000, 1117p.
- ARCURI, P. B.; CARNEIRO, J. C.; LOPES, F. C. F. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al.. (Org.). *Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens*. 1<sup>a</sup> ed. Jaboticabal: 2003, p.51-69.
- ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; SUGAWARA, M. S.; SILVA, M. S.; SCHWAN, R. F. Qualidade da silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de *Lactobacillus buchneri*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p.255-261, 2008.
- AZEVEDO, J. C. de; ARAUJO, S. A. do C.; ROCHA, N. S.; CARDOSO, A. M.; PANTOJA, L. de A.; FATURI, C.; DOMINGUES, F. N. Fruit agribusiness waste as an additive in elephant grass silage. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p.1987-2000, 2017.
- BAILEY, R. W. Quantitative studies of ruminant digestion. II. Loss of ingested plant carbohydrates from the reticulo rumen. New Zeland. **Journal of Agricultural Research**, v. p.10-15-32, 1967.
- BENACHIO, S. Niveles de melaza en silo experimental de milho criollo (*Sorghum vulgare*). **Agronomia Tropical**, v. 14, n. 4, p.651-658, 1965.
- BOLSEN, K. K. Silage: basic principles. In: BARNES, R. F.; MILLER, D. A.; NELSON, C. J. **Forages**. 5. ed. Ames: Iowa State University, 1995. p.163-176.
- BONFÁ, C. S.; CASTRO, G. H. F.; VILLELA, S. D. J.; SANTOS, R. A.; EVANGELISTA, A. R.; JAYME, C. G.; GONÇALVES L. C.; PIRES NETO, O. S.; BARBOSA, J. A. S. Silagem de capim-elefante adicionada de casca de maracujá. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p.801-808, 2015.

BONFÁ, C. S.; VILLELA, S. D. J.; CASTRO, G. H. de F.; SANTOS, R. A. do; EVANGELISTA, A. R.; PIRES NETO, O. de S. Silagem de capim-elefante adicionada de casca de abacaxi. **Revista Ceres**, v. 64, n. 2, p.176-182, 2017.

CARDOSO, A. M.; ARAUJO, S. A. do C.; ROCHA, N. S.; DOMINGUES, F. N.; AZEVEDO, J. C. D.; PANTOJA, L. de A. Elephant grass silage with the addition of crambe bran conjugated to different specific mass. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 4, p.375-382, 2016.

CARRERA, R. A. B.; VELOSO, C. M.; KNUPP, L. S; SOUZA JÚNIOR, A. H., DETMANN, E.; LANA, R. D. P. Protein co-products and by-products of the biodiesel industry for ruminants feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 5, p.1202-1211, 2012.

CHAMBERLAIN, D. G. The silage fermentation in relation to the utilization of nutrients in the rumen. **Process Biochemistry**, v. 4, n. 1, p.60-63, 1987.

CHAVES, K. F.; SILVA, N. B. N.; VIEIRA, T. B. V.; CRUZ, W. F.; MARTINS, M. L.; MARTINS, A. D. O. Avaliação microbiana de ambientes de diferentes laticínios da região de rio pomba-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 380, p.11-15, 2011.

COAN, R. M.; REIS, R. A.; GARCIA, G. R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; FERREIRA, D. D. S.; RESENDE, F. D. D.; GURGEL, F. D. A. Dinâmica fermentativa e microbiana de silagens dos capins tanzânia e marandu acrescidas de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p.1502-1511, 2007.

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p.271-276, 2013.

DANNER, H.; HOLZER, M.; MAYRHUBER, E. et al. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 1, p.562-567, 2003.

DETMANN, E. ; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O. S.; CABRAL, L. S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M. M.; AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para Análise de Alimentos** - INCT - Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

EVANGELISTA, A.R.; PERON, A.J.; AMARAL, P.N.C. Forrageiras não convencionais para silagem – mitos e realidades. *In*: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2004. p.463-507.

EVANGELISTA, A. R.; SIQUEIRA, G. R.; LIMA, J. A.; LOPES, J.; REZENDE, A. V. Alterações bromatológicas e fermentativas durante o armazenamento de silagens de cana-de-açúcar com e sem milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p.20-26, 2009.

FÉRNANDEZ, J. Grasa sobrepasante del rumen para dietas de vacas lecheras. **Alimentos balanceados para animales**, Colanta, v. 7, n. 4, p.18-21, 2000.

FERREIRA, D. de J.; LANA, R. de P.; ZANINE, A de M.; SANTOS, E. M.; VELOSO, C. M.; RIBEIRO, G. A. Silage fermentation and chemical composition of elephant grass inoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 18, n. 1, p.22-28, 2013.

JOBIM, C. C.; GONÇAVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES: valor alimentício de forragens**, 2003, Joticabal. **Anais...** Joticabal: Funep, 2003, p.1-26.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHIMIDT, R. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, suplemento especial, p.101-119, 2007.

JONSSON, A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. **Journal Science Food Agriculture**, v. 54, p.557-568, 1991.

KUNG JR, L. Preparation of silage water extracts for chemical analyses: Standard operating procedures – Warrilow: University of Delaware, Ruminant Nutrition Lab., 1996. 309p.

LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal). Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. Métodos Microbiológicos. Brasília: Ministério da Agricultura. 1981.

LOPES, J. Qualidade da silagem de cana-de-açúcar elaborada com diferentes aditivos. 85 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, MG. 2006.

LOURES, D. R. S.; GARCIA, R.; PEREIRA, O. G.; CECON, P. R.; SOUZA, A. L. Características do efluente e composição químico-bromatológica da silagem do capim-elefante sob diferentes níveis de compactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p.1851-1858, 2003 (supl. 2).

LOURES, D. R. S.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. de F.; PEDROSO, A. de F.; MARI, L. J.; RIBEIRO, J. L.; ZOPOLLATTO, M.; SCHMIDT, P.; JUNQUEIRA, M. C.; PACKER, I. U.; CAMPOS, F. P. de.. Composição bromatológica e produção de efluente de silagens de capim-tanzania sob efeitos do emurchecimento, do tamanho de partícula e do uso de aditivos biológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p.726-735, 2005.

MAHANNA, B. Proper management assures high-quality feeds. **Feedstuffs**, v. 10, p.12-56, 1994.

MCDONALD, P. **The biochemistry of silage**. John Wiley & Sons. Chichester. 1981, 218p.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R. **The biochemistry of silage**. New York: John Wiley, 1981, 226p.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON; S. J. E. **Biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.

- MENDONÇA, B. P.C.; LANA, R. de P.; DETMANN, E.; GOES, R. H. de T. B. de; CASTRO, T. R. de. Uso do farelo e da torta de crambe na alimentação de bezerros em crescimento. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 4, n. 2, p.84-92, 2014.
- MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. de A.; PEREIRA, E. S.; PINTO, A. P.; FRANCO, A. L. C.; SYPPERRECK, M. A.; DÓREA, J. R. R.; CUNHA, G. E.; CAPELARI, G. M.; MUNIZ, E. B. Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do biodiesel pela técnica de produção de gás *In vitro* rumen fermentation kinetics of some co-products generated in the biodiesel production chain by gas production technique. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, suplemento 1, p.2021-2028, 2011.
- MOCHEL FILHO, W. de J. E.; CARNEIRO, M. S. de S.; ANDRADE, A. C.; PEREIRA, E. S.; ANDRADE, A. P. de; CÂNDIDO, M. J. da D.S.; MAGALHÃES, J. A.; RODRIGUES, B. H.; SANTOS, F. J. de S.; COSTA, N. de L. Produtividade e composição bromatológica de *Panicum maximum* cv. Mombaça sob irrigação e adubação azotada. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 1, p.81-88, 2016.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7 ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381p.
- OLIVEIRA, K. M.; CASTRO, G. H. F.; HERCULANO, B. N.; MOURTHÉZ, M. H. F.; SANTOS, R. A.; PIRES, A. V. Comportamento ingestivo de bovinos leiteiros alimentados com farelo de crambe. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p.439-447, 2016.
- PACHECO, W. F.; CARNEIRO, M. S. de S.; PINTO, A. P.; EDVAN, R. L.; ARRUDA, P. C. L. de; CARMO, A. B. R. do. Perdas fermentativas de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum.) com níveis crescentes de feno de gliricídia (*Gliricidia sepium*). **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 3, p.155-162, 2014.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.; DRIEHUIS, F. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2003. p.31-93.
- PINHO, B. D.; PIRES, A. J. V.; RIBEIRO, L. S. O.; CARVALHO, G. G. P. Ensilagem de capim-elefante com farelo de mandioca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p.641-645, 2008.
- PITOL, C.; BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe 2010**. Maracaju: Fundação MS para Pesquisa e Difusão de Tecnologias Agropecuária, 2010. 60p.
- RANDBY, A. T., I. SELMER-OLSEN, AND L. BAEVRE.. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.420–428, 1998.
- RIBEIRO, L. S. O.; PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P. de; PEREIRA, M. L. A.; SANTOS, A. B. dos; ROCHA, L. C. Características fermentativas, composição química e fracionamento de carboidratos e proteínas de silagem de capim-elefante emurhecido ou com adição de torta de mamona. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p.1447-1462, 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**, v. 34, n. 4, p.1138-1145, 2005.

SCHMIDT, P.; NUSSIO, C.M.B.; RODRIGUES, A.A.; L.G., et al. Produtividade, composição morfológica, digestibilidade e perdas no processo de ensilagem de duas variedades de cana-de-açúcar, com e sem adição de uréia. In: Reunião da SBZ, 41, Campo grande, 2004. **Anais...** Campo Grande: SBZ, Cdrom 2004.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SOUZA, A. D. V. de. FÁVARO, S. P.; ÍTAVO, L. C. V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p.1328-1335, 2009.

SOUZA, V. S; OLIVEIRA, P. B; LOUVANDINI, H; Potencial nutricional do *Crambe abyssinica* para ruminantes e seus co-produtos oriundos da obtenção do biodiesel. 47º **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Salvador, Bahia. 2010.

TEIXEIRA, F. A.; VELOSO, C. M.; PIRES, A. V.; SILVA, F. F.; NASCIMENTO, P. V. N. Perdas na ensilagem de capim-elefante aditivado com farelo de cacau e cana-de-açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p.227-233, 2008.

TRIPATHI, M. K.; MISHRA, A. S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, p.1-27, 2007.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIEIRA, F. A. P.; BORGES, I.; STEHLING, C. A. V.; GONÇALVES, L. C.; COELHO, S. G.; FERREIRA, M. I. C.; RODRIGUES, J. A. S. Qualidade de silagens de sorgo com aditivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 6, p.764-772, 2004.

WEINBERG, Z. G.; MUCK, R. E. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 19, p.53-68, 1996.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; FERREIRA, D. de J.; OLIVEIRA, J. S.; ALMEIDA, J. C.; PEREIRA, O. G. Avaliação da silagem de capim-elefante com adição de farelo de trigo. **Archivos de Zootecnia**, v.55, n.209, p.75-84, 2006.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M.; DÓREA, J. R. R.; DANTAS, P. A. D. S.; SILVA, T. C. D.; PEREIRA, O. G. Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p.2611-2616, 2010.

ZOPOLLATTO, M.; DANIEL, J. L. P.; NUSSIO, L. G. Aditivos microbiológicos em silagens no Brasil: revisão dos aspectos da ensilagem e do desempenho de animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.170-189, 2009.

## 12 CONCLUSÃO GERAL

A torta de macaúba foi eficiente como aditivo absorvente de umidade nas silagens de capim-elefante, no qual proporcionou elevação dos teores de matéria seca, além da melhoria no processo fermentativo, que favoreceu o desenvolvimento de microrganismos desejáveis, e, reduziu a população de fungos provavelmente por meio da ação antifúngica propiciada pela adequada produção de ácido acético, o que favoreceu baixa produção de etanol. Houve redução dos teores de ácido butírico, aumento de ácido lático, e, conseqüente redução dos valores de pH, que foram satisfatórios para a conservação do material ensilado. Níveis crescentes da torta de macaúba reduziram a proteólise no material ensilado, o que resultou em menores concentrações de nitrogênio amoniacal. Os teores de fibras foram reduzidos com a adição da torta de macaúba, os teores de proteína elevaram-se, porém, não foram tão expressivos, não houve contribuição da torta de macaúba sobre os carboidratos solúveis. Os teores de extrato etéreo aumentaram com os níveis crescentes da torta de macaúba, o que se deve atentar para que o uso na alimentação animal não limite o consumo de matéria seca e reduza a digestibilidade da fibra. Nas silagens de capim-elefante com 20% da torta de macaúba, devem ser misturados a outros alimentos com concentração de extrato etéreo menor, as perdas por gases e por efluentes foram reduzidas e o índice de recuperação de matéria seca nas silagens de capim-elefante foi aumentada com a inclusão da torta de macaúba, sendo que a adição de 20% proporcionou melhores resultados.

O farelo de crambe adicionado na ensilagem de capim-elefante foi eficiente na elevação da matéria seca, melhorando o processo fermentativo, contribuindo para o desenvolvimento de microrganismos benéficos em detrimento dos indesejáveis, para a predominância da fermentação láctica com conseqüente redução do pH, além do incremento do valor nutricional, principalmente pela elevação do teor proteico e redução dos teores de fibras, contudo, o farelo de crambe favoreceu a elevação dos teores de nitrogênio amoniacal. As perdas por gases e por efluentes foram reduzidas e o índice de recuperação de matéria seca nas silagens de capim-elefante foi aumentada com a inclusão do farelo de crambe. O maior nível de inclusão (20%) do farelo de crambe promoveu as melhores características nas silagens de capim-elefante.

Mais trabalhos de pesquisas devem ser realizados para saber os efeitos destes para os animais, em relação ao consumo e desempenho animal, bem como para estabelecimento dos níveis de inclusão adequados.