



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL**  
**NA AMAZÔNIA**

**MELANY SIMÕES DE SOUZA**

**COMO A APLICAÇÃO DE BENZOATO DE SÓDIO, A REALOCAÇÃO E O  
TEMPO DE ARMAZENAMENTO AFETAM A FERMENTAÇÃO, A COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E A ESTABILIDADE AERÓBIA DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR?**

**BELÉM**

**2019**

**MELANY SIMÕES DE SOUZA**

**COMO A APLICAÇÃO DE BENZOATO DE SÓDIO, A REALOCAÇÃO E O TEMPO DE ARMAZENAMENTO AFETAM A FERMENTAÇÃO, A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E A ESTABILIDADE AERÓBIA DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR?**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do curso de mestrado em saúde e produção animal para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Produção Animal,

Orientador: Prof<sup>o</sup> Aníbal Coutinho do Rêgo

Co-orientador: Prof<sup>o</sup> Thiago Carvalho da Silva

**BELÉM**

**2019**

**MELANY SIMÕES DE SOUZA**

**COMO A APLICAÇÃO DE BENZOATO DE SÓDIO, A REALOCAÇÃO E O TEMPO  
DE ARMAZENAMENTO AFETAM A FERMENTAÇÃO, A COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA E A ESTABILIDADE AERÓBIA DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR?**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Produção Animal, para obtenção do título de Mestre.

Data de aprovação: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Aníbal Coutinho do Rêgo - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**

---

**Prof. Ricardo Martins Araujo Pinho – 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA**

---

**Prof. Dr. Felipe Nogueira Domingues – 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**

---

**Prof. Dr. Ebson Pereira Cândido – 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus, que me concede saúde e me abençoa todos os dias da minha vida.

À minha mãe, que é minha melhor amiga. Me escuta, me aconselha, me acolhe, me inspira, me incentiva e me dá força pra alcançar meus sonhos. Ao meu pai, que é meu suporte e meu exemplo. Todas minhas vitórias são de vocês e para vocês.

Ao meu irmão Derek pela amizade, companheirismo, e pelo incentivo diário.

Ao Victor Souza, meu amor e meu companheiro, que me acompanha em todos os passos, me incentivando, participando e me amparando desde o início. Você é também responsável pelas minhas conquistas.

À minha família, tia Cris, tia Cléa, tio Jairo, tia Maria e Camila, pelo apoio e incentivo aos estudos.

Ao João Lucas, que é o meu grande amor, que me deixa feliz só de estar próximo a mim.

À Lilian, minha irmã, que é minha parceira em todos os momentos.

A Jéssica Soares, minha melhor amiga, por ser meu apoio, por ter os melhores conselhos, e por me fazer melhor sempre.

À Nelma, Lucas, Izabela e Maria Tavares, minha segunda família, por fazerem me sentir em casa, e por compartilhar desse sonho comigo.

À Samanta, Agatha, Marcia, Ludinéia, Andréa e Amanda, pela grande amizade. Por serem meu porto seguro, e por serem a parte divertida do meu dia.

Ao meu cachorro Ted, que me recebe com tanto carinho quando chego em casa, e que me acompanhou todos os dias de escrita até a madrugada.

À Amanda Queiroz, pela amizade e companheirismo. Pela grande ajuda durante os dias mais difíceis (nos fáceis também), por me ouvir, me aconselhar e me fazer rir.

À Rita Mendonça, Rosana Ribeiro e Juliana Pitirini, que foram grandes parceiras, repassando todo conhecimento adquirido durante anos, e por me ajudarem sempre que preciso.

Ao Marcus Cardoso, por me receber em sua casa em Lavras-MG, pela companhia, e pela ajuda nas análises. E agradeço também às participantes do NEFOR -UFLA (Jéssica, Fernanda e Bianca) pela ajuda durante as análises e pela ótima companhia durante a minha estadia.

Aos integrantes do GERFAM, que não medem esforços para realização dos experimentos. Agradeço a contribuição, a amizade, e o tempo passado juntos.

Ao meu orientador Prof. Aníbal Coutinho, que é meu orientador desde a graduação, pela sua disponibilidade, pelos ensinamentos, pelo apoio e pela paciência. O senhor contribuiu para o meu crescimento profissional e pessoal. Serei sempre grata por tudo.

Ao meu co-orientador Prof. Thiago Silva, pelas cobranças, pela disponibilidade, pelo incentivo, e pelos conhecimentos repassados. O senhor foi de fundamental importância no avanço da dissertação.

À banca, pela contribuição e atenção disponibilizada.

## RESUMO

Silagens de cana-de-açúcar são naturalmente propensas a perdas de matéria seca (MS) devido a intensa fermentação alcoólica. O uso de aditivos químicos, como o benzoato de sódio (BS), pode ser eficiente na redução dessas perdas, principalmente quando silagens são submetidas a condições adversas, como processos de realocação. Objetivou-se através desse estudo determinar o efeito da aplicação do benzoato de sódio numa concentração de 0,2% da matéria natural (MN) da massa ensilada, o tempo de exposição das silagens ao ar durante a realocação (sem realocação (SR), 12; 48 ou 72 horas), e o tempo de armazenamento após a realocação (10 ou 60 dias) sobre o perfil fermentativo, microbiologia, composição química e estabilidade aeróbia em silagens de cana-de-açúcar. As silagens foram confeccionadas em silos experimentais plásticos com capacidade de 15 L. Tanto na ensilagem como na reensilagem das massas foram utilizadas densidades de  $476 \pm 35$  kg de MN/m<sup>3</sup> de silo. Foram determinadas a composição microbiológica e química; as características fermentativas; as perdas matéria seca; e a estabilidade aeróbia. O uso de BS alterou a composição química da silagem de cana-de-açúcar, assim como o tempo de exposição modificou os teores de MS. Silagens com BS tiveram maiores perdas ao serem realocadas por 72h enquanto silagens sem aditivo aumentaram perdas com 48h de realocação. Silagens armazenadas por 60 dias e realocadas por 12 ou 48 horas apresentaram maiores perdas por efluentes. A estabilidade foi maior em silagens que não foram realocadas. O benzoato de sódio a 0,2% da matéria natural é efetivo na inibição de leveduras e na manutenção do pH de silagens de cana-de-açúcar realocadas.

**Palavras-chave:** aditivo químico, ensilagem, etanol, reensilagem, *Saccharum officinarum*

## ABSTRACT

Sugarcane silages are naturally prone to dry matter (DM) losses due to intense alcoholic fermentation. The use of chemical additives, such as sodium benzoate (SB), can be efficient in reducing these losses, especially when silages are subjected to adverse conditions such as relocation processes. This study aimed to determine the effect of the application of sodium benzoate at a concentration of 0.2% of the natural matter (DM) of the ensiled mass, the time of exposure of the silages to the air during the relocation (no relocation, 12, 48 or 72 hours), and the storage time after the relocation (10 or 60 days) on the fermentation profile, microbiology, chemical composition and aerobic stability. The silages were made in plastic experimental silos with a capacity of 15 L. In the silage and in the re-ensiling of the masses, densities of  $476 \pm 35$  kg MN / m<sup>3</sup> of silo were used. The microbiology and chemical composition; the fermentative characteristics; dry matter losses; and aerobic stability were determined. The use of BS altered the chemical composition of sugarcane silage, as well as the time of exposure modified the DM contents. Silages with SB had higher losses when relocated for 72 hours while silages without additive increased losses with 48 hours of relocation. Silages stored for 60 days and relocated for 12 or 48 hours showed higher effluent losses. Stability was greatest in silages that were not reallocated. The 0.2% (NM) sodium benzoate is effective in the inhibition of yeasts and in the maintenance of the pH of reallocated sugarcane silages.

**Keywords:** chemical additive, silage, ethanol, reensiling, *Saccharum officinarum*

## **LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS**

BS – Benzoato de sódio

CNF – Carboidratos não fibrosos

CSA – Carboidratos solúveis em água

DIVMS – Digestibilidade in vitro da matéria seca

EA – Estabilidade aeróbia

FDN – Fibra em detergente neutro

MM – Matéria mineral

MN – Matéria natural

MO – Matéria orgânica

MS - Matéria seca

NDT – Nutrientes digestíveis totais

PB – Proteína bruta

PE – Perdas por efluentes

PMS - Perdas de matéria seca

SR – Sem realocação

TA – Tempo de armazenamento

HTM – tempo em horas para atingir a temperatura máxima

TMAX – temperatura máxima

ufc - Unidades formadoras de colônia

## Sumário

<b>RESUMO</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	6
<b>1. CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	10
<b>1.1. Revisão de literatura</b> .....	12
1.1.1. Cana-de-açúcar .....	12
1.1.2. Silagem de cana-de-açúcar.....	13
1.1.3. Aditivos Químicos .....	16
1.1.4. Realocação de silagens .....	17
1.1.5. Tempo de armazenamento .....	18
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	19
<b>2. COMO A APLICAÇÃO DE BENZOATO DE SÓDIO, A REALOCAÇÃO E O TEMPO DE ARMAZENAMENTO AFETAM A FERMENTAÇÃO, A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E A ESTABILIDADE AERÓBIA DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR?</b> .....	21
<b>2.1. Introdução</b> .....	21
<b>2.2. Material e métodos</b> .....	22
2.2.2 Design experimental .....	23
2.2.3. Perdas fermentativas .....	23
2.2.4 Estabilidade aeróbia .....	24
2.2.5 pH e microbiologia .....	24
2.2.6 Produtos da fermentação e composição química .....	25
2.2.7 Análise estatística.....	25
<b>2.3. Resultados</b> .....	27
2.3.1. Cana-de-açúcar antes da ensilagem e silagens após primeira abertura e exposição na realocação.....	27
2.3.2. Efeito do benzoato de sódio, realocação e tempo de armazenamento na qualidade de silagens de cana-de-açúcar .....	28
2.3.3. pH e microbiologia durante a exposição aeróbia na estabilidade .....	37
<b>2.4. Discussão</b> .....	44
2.4.1. Microbiologia e perfil fermentativo das silagens.....	44

2.4.2. Perdas fermentativas .....	46
2.4.3. Composição química.....	47
2.4.4. Estabilidade Aeróbia.....	48
2.4.5. pH, leveduras e mofos de silagens expostas ao ar durante o ensaio de estabilidade aeróbia	49
<b>2.5. Conclusão.....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>51</b>

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma cultura bastante difundida no Brasil. Amplamente utilizada na produção de álcool e açúcar, mas também na alimentação animal. O uso na dieta de ruminantes tem tido importância cada vez maior, dado ao grande potencial de produção de matéria seca e alto conteúdo energético por unidade de matéria seca. Segundo o levantamento sistemático da produção agrícola, o país apresenta uma área plantada de 10.582.066 hectares e uma produtividade média de 66 toneladas/ha (IBGE, 2016).

O alto potencial forrageiro, melhor valor nutritivo no período da escassez de forragens e facilidade de cultivo da cana-de-açúcar são pontos que influenciam a sua maior difusão na alimentação animal. Ainda, se considera por muitos autores, a cana-de-açúcar uma opção forrageira de bom desempenho bioeconômico para ser utilizada na dieta de bovinos destinados a produção de carne e leite (RESENDE et al., 2005; SIQUEIRA et al., 2008). Porém, aspectos relacionados ao manejo agrônômico, colheita e processamento diários da cultura demandam mão de obra e transporte, o que dificulta o uso dessa forrageira de forma fresca na alimentação animal (SIQUEIRA et al., 2012).

Por outro lado, Mota et al. (2010) apontam duas vantagens para o aproveitamento da cana-de-açúcar na forma de silagem: 1º. evita problemas de logística com operações diárias de manejo, colheita e picagem da cultura, além de evitar a perda da produção por queimadas; e 2º. a colheita da cultura para ensilagem é feita de maneira uniforme, melhorando o manejo pós-colheita e aumentando o tempo de vida da produção da cultura.

A cana-de-açúcar possui características favoráveis para a ensilagem, como matéria seca em torno de 25 a 30%, baixa capacidade tampão, que permite o decréscimo rápido do pH, e alta concentração de carboidratos solúveis (FREITAS et al., 2006). Porém, a sua maior limitação é a intensiva produção de etanol a partir da rica microflora epifítica de leveduras presente na cultura (PEDROSO et al., 2005), que convertem a maior parte dos carboidratos solúveis em CO<sub>2</sub>, água e etanol, desencadeando mudanças químicas na silagem como perda de matéria seca e produção de efluentes, afetando o valor nutritivo da silagem (NUSSIO E SCHMIDT, 2004).

No Brasil a cana-de-açúcar é a quarta cultura mais utilizada para produção de silagem nas propriedades rurais produtoras de leite, e tem utilização semelhante ao sorgo e capins tropicais (BERNARDES E RÊGO, 2014). Dessa forma, a busca por diferentes

aditivos que melhorem as características fermentativas do processo de ensilagem da cana-de-açúcar, tem aumentado buscando a difusão do uso da silagem de cana na alimentação animal.

Dentre os vários aditivos testados em silagem de cana-de-açúcar, os resultados mais promissores na melhoria das características fermentativas e aumento de estabilidade aeróbia foram obtidos quando foi utilizado aditivos que possuem propriedades antifúngicas. Dentre esses, ácidos orgânicos, como o benzoato de sódio, se destacam quando comparados a outros aditivos, devido sua forte propriedade antifúngica e sem depender de fatores ambientais externos (KLEINSCHMIT et al., 2005).

No entanto, existem poucos estudos sobre a efetividade desse aditivo químico em silagens expostas a situações adversas, tais como: realocação de silagens e tempos de armazenamento dessas silagens após a realocação. Realocação, é uma atividade comercial em expansão no país, e que consiste no processo no qual após a produção de silagem, essas são desabastecidas e transportadas para um novo silo (CHEN e WEINBERG, 2014). Esse manejo necessita de cuidados para a manutenção do valor nutritivo da estabilidade aeróbia da silagem. Por isso, se eleva a busca por aditivos que sejam capazes de melhorar essas características no processo de reensilagem da cana-de-açúcar.

Portanto, objetivou-se através deste trabalho determinar os efeitos da realocação na composição química, perfil fermentativo, microbiologia e estabilidade de silagens de cana-de-açúcar com o uso de benzoato de sódio e em diferentes tempos de armazenamento.

## **1.1. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.1.1. Cana-de-açúcar**

A cana-de-açúcar é um dos principais produtos agrícolas produzido no Brasil. Segundo o levantamento sistemático da produção agrícola, a cana-de-açúcar é a terceira cultura mais plantada nacionalmente, seguida pela cultura do milho e da soja, respectivamente (IBGE, 2016). Além disso, é a cultura com maior produtividade por área, alcançando produtividade acima de 60 toneladas por hectare.

Uma das vantagens dessa cultura, é o período de colheita. Por ser uma cultura indicada para colheita no período de estiagem, se constitui uma ótima opção para cobrir a deficiência forrageira em períodos estacionais. O seu ciclo de 12 a 14 meses auxilia no crescimento vegetativo no período em que há abundância de forragem, já na entressafra, ocorre à maturidade fisiológica da cana-de-açúcar, que é a síntese máxima de sacarose e armazenamento no colmo (LIMA E MATTOS, 1993). De maneira oposta aos de outras forrageiras, a cana-de-açúcar apresenta aumento da digestibilidade com o avanço da maturidade da planta, pela elevação do teor de sacarose e redução dos constituintes da parede celular, resultando em melhoria da digestibilidade (FREITAS et al., 2006; MELLO et al., 2006)

O alto teor de açúcar presente na matéria seca e a digestibilidade de carboidratos não fibrosos em torno de 90%, auxilia no fornecimento de energia e conseqüente melhoria do desempenho animal. A cana-de-açúcar varia de 14,1 a 36,1% de carboidratos solúveis na matéria seca (tabela 1). Duas vezes maior que a quantidade do milho (ALMEIDA FILHO et al., 1999).

Apesar de suas potenciais vantagens devido suas características agronômicas, há vários entraves que dificultam a utilização da cana-de-açúcar em forma de capineira, dentre elas: risco de fogo acidental, mão-de-obra para fornecer diariamente aos animais e custos (SIQUEIRA et al., 2010). Portanto, a ensilagem torna-se uma alternativa para resolução desses problemas, além de facilitar a logística da propriedade, principalmente quando há a intensificação da produção, como em confinamentos. Neste processo, a concentração da colheita, uso da mão-de-obra em períodos menores, uniformidade da rebrota, colheita em período seco, e facilidades dos tratamentos culturais são vantajosos para o produtor (BALIEIRO NETO et al., 2007; PEDROSO et al., 2008).

### 1.1.2. Silagem de cana-de-açúcar

A ensilagem consiste em manter o valor nutritivo da forragem baseado na acidificação do meio e, conseqüente, controle de microrganismos indesejáveis. Isto ocorre devido a fermentação ocasionada por microrganismos, como as bactérias lácticas, que em condições anaeróbias, utilizam carboidratos solúveis presentes na planta e convertem em ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, resultando em queda do pH e a acidificação do meio (FYLIA, 2003).

De acordo com a Tabela 01, gerada através de uma compilação de 16 trabalhos com cana-de-açúcar publicados nos últimos 10 anos, é possível observar que a cana-de-açúcar apresentou uma média de matéria seca próxima a 29,5% e alta concentração de carboidratos solúveis, fatores estes que são considerados de grande influência na qualidade de fermentação da massa ensilada.

**Tabela 01:** Composição química de cana-de-açúcar *in natura* para ensilagem

Referências	MS (%)	CS (%)	FDN (%)
Amaral et al., 2009a e Amaral et al., 2009b	37,3	14,1	31,4
Ávila et al., 2009	29,3	30,0	57,8
Balieiro Neto et al., 2007	-	-	55,5
Balieiro Neto et al., 2010	26,9	-	55,5
Balieiro Neto et al., 2009	30,6	-	
Carvalho et al., 2012	24,4	-	53,7
Carvalho et al., 2017	27,5	26,6	52,4
Cavali et al., 2010	26,6	36,9	44,0
Daniel et al., 2015	36,0	36,1	58,4
Pedroso et al., 2008	30,5	23,3	55,1
Rezende et al., 2011	25,3	-	-
Rocha et al., 2014	27,4	-	39,1
Rodrigues et al., 2015	28,4	-	49,0
Santos et al., 2008	35,4	20,4	52,9

MS: matéria seca; CS: carboidratos solúveis ; FDN: fibra em detergente neutro

Os microrganismos responsáveis pelo processo fermentativo das silagens estão presentes de maneira natural nas forragens e são divididos em dois grupos: os

microrganismos desejáveis e os indesejáveis. Os microrganismos desejáveis são as bactérias ácido lácticas (BAL), que fermentam açúcares solúveis, produzindo principalmente ácido láctico, com rápida acidificação do meio aos teores de 3,8 a 4,2. A fermentação por microrganismos indesejáveis (leveduras, enterobactérias e clostrídeos) caracteriza-se por alto consumo de açúcares solúveis, baixa capacidade de acidificar o meio e, conseqüente, deterioração aeróbia (MIRANDA, 2006).

De acordo com Kung Jr. (2005), culturas com elevada concentração de açúcares tendem a apresentar maior número de leveduras. Portanto, o número de microrganismos nas plantas é variável, de acordo com o teor de carboidratos solúveis. Desse modo, a cana-de-açúcar favorece a presença de um número elevado de leveduras, devido ao seu alto teor de carboidrato solúveis, podendo alcançar até 40 % da matéria seca. De acordo com Alli et al. (1983), a cana-de-açúcar apresenta contagem de leveduras de  $6,15 \log \text{ufc g}^{-1}$  de forragem fresca, aumentando para aproximadamente  $7,0 \log \text{ufc g}^{-1}$  após o primeiro dia de colheita, padrão semelhante encontrado por Pedroso et al. (2005). Carvalho et al., 2017 observaram contagem de  $5,47 \log \text{ufc g}^{-1}$  para leveduras em cana-de-açúcar antes da ensilagem.

Dessa forma, a quantidade de carboidratos solúveis e leveduras epifíticas na cana-de-açúcar são os principais agravantes na ensilagem desta cultura, causando elevada fermentação alcoólica e perda no valor nutritivo durante o processo fermentativo.

A fermentação alcoólica é o processo pelo qual leveduras utilizam como substrato açúcares (glicose, sacarose e frutose) e, através da ação de um “pool enzimático”, produzem etanol e  $\text{CO}_2$  (REIS, 2014). A maioria dos fungos necessita de condições aeróbias para o crescimento, porém, algumas leveduras se desenvolvem sem a presença do oxigênio, podendo manter populações elevadas nessas condições. Além de etanol e  $\text{CO}_2$ , as leveduras produzem, em pequenas quantidades, propanol, 2-butanodiol, 2-methylpropanol, pentanol, 2-methylbutanol e ácidos orgânicos (acetado, propionato e butirato). São capazes de sobreviver sob limites de pH variando de 3,5 e 6,5 (McDONALD et al., 1991).

A fermentação dos açúcares a gás carbônico e etanol são os principais responsáveis pelas perdas de matéria seca da silagem. De acordo com McDonald et al. (1991), os processos metabólicos das leveduras levam a aproximadamente 49% de perdas da matéria seca. Além disso, é responsável por 90% das perdas de carboidratos solúveis e 44% da elevação de fibra em detergente ácido (FDA). Os aumentos dos constituintes da parede celular diminuem o valor nutritivo da cana-de-açúcar (NUSSIO et al., 2003). O etanol

produzido pode ser aproveitável quando transformado em acetato no rúmen (CHALUPA et al., 1964), porém grande parte pode ser volatilizado durante o desabastecimento do silo (DANIEL et al., 2013b)

Em média, silagens de cana-de-açúcar sem aditivos, possuem perdas de matéria seca na ordem de 20% da MS. Além disso, produzem 8,4% de etanol e possuem estabilidade aeróbia de 50 horas (Tabela 2).

**Tabela 02:** Médias referentes a silagens de cana-de-açúcar sem uso de aditivo nos últimos 10 anos.

	MS (%MN)	FDN (%MS)	CS	Perdas (%)	Etanol (%MS)	BAL log.ufc g <sup>-1</sup>	LEV g <sup>-1</sup>	pH	EA h
Balieiro Neto et al., 2009	24,5	63,3	-	19,5	-	-	-	3,6	45,6
Carvalho et al., 2016	26,3	62,3	5,6	14,0	5,3	8,3	4,5	3,8	-
Carvalho et al., 2014	25,2	-	-	34,2	25,6	-	-	3,7	-
Cavali et al., 2010	25,3	62,9	12,1	-	-	5,6	5,1	-	-
Daniel et al., 2015	28,3	69	10,5	25,0	13,4	7,0	3,4	3,8	42,2
Mendes et al., 2008	21,7	62,5	4,5	-	3,2	-	-	3,4	56
Neto et al., 2013	22,3	71,5	-	20,3	-	7,0	2,5	3,4	68,2
Pedroso et al., 2008	28,0	59,5	9,1	6,8	4,1	-	6,4	-	48
Rocha, 2014	22,3	-	-	22,1	-	-	-	3,2	-
Rodrigues et al., 2015	22,3	65,1	-	6,1	1,9	-	-	3,4	-
Santos et al., 2008	27,0	67,1	3,0	34,3	4,78	-	-	3,5	-

MS: matéria seca; FDN: fibra em detergente neutro; CS: carboidratos solúveis; BAL: bactérias ácido lácticas; LEV: leveduras; EA: estabilidade aeróbia.

As leveduras são consideradas precursoras da deterioração aeróbia, pois crescem em ambiente de pH ácido e mantêm altas populações sob condições anaeróbias. A utilização dos açúcares pelas leveduras provoca competição com as BAL no processo fermentativo (REIS et al., 2014). Ainda em condições aeróbias (abertura do silo), as leveduras assimiladoras de lactato causam diminuição das concentrações de ácido láctico, ocasiona o abaixamento do pH, e deixando o ambiente favorável a multiplicação de microrganismos (clostrídios e enterobactérias) que degradam nutrientes da silagem, e produz calor em excesso durante o metabolismo microbiano, caracterizando a deterioração aeróbia (TAYLOR E KUNG JR. 2002).

Neste contexto, diversos aditivos vêm sendo estudados e utilizados na ensilagem da cana-de-açúcar, com o objetivo de inibir a proliferação de microrganismo indesejáveis que afetam o processo fermentativo da silagem. O uso desses aditivos tem por finalidade promover menores perdas de matéria seca, de carboidratos solúveis, inibir a fermentação alcoólica e melhorar a estabilidade aeróbia (SIQUEIRA et al., 2012; CARVALHO et al., 2016).

### **1.1.3. Aditivos Químicos**

De acordo com McDonald et al. (1991), os grupos de aditivos são classificados por categorias: controle da fermentação - estimulador e inibidor; inibidores de deterioração aeróbia; nutrientes e absorventes de umidade. No Brasil, Nussio e Schimidt (2005) propuseram a classificação de aditivos em três grupos: químicos, aditivos microbianos e sequestrantes de umidade. Dentre estes, os grupos relacionados a inibição do crescimento microbiano e o grupo inibidor de deterioração aeróbia são considerados os mais importantes na ensilagem da cana-de-açúcar, buscando a inibição da fermentação alcoólica, com vista à redução das perdas (SCHMIDT et al., 2014). Nestes grupos encontram-se os aditivos químicos e os microbianos.

A aplicação de aditivos efetivos como *Lactobacillus buchneri* (LB) e benzoato de sódio, tem sido recorrente nos últimos anos em silagens de cana-de-açúcar e mostram efeito positivo na manutenção do valor nutritivo e no aumento da estabilidade aeróbia das silagens (QUEIROZ et al, 2008). Porém, os aditivos biológicos como o LB dependem diretamente de fatores climáticos externos e características da forragem, fatores esses que podem influenciar o crescimento desses microrganismos nas silagens (KLEINSCHMIT AND KUNG, 2006), principalmente em regiões de clima quente (MUCK, 2013).

Em estudos recentes, a utilização de aditivos químicos, inibidores de crescimento de microrganismos indesejáveis, têm se destacado no processo de conservação da cana-de-açúcar e diminuição da deterioração aeróbia. Entretanto, os mais efetivos foram o benzoato de sódio e o sorbato de potássio (KNICKÝ, M. E SPÖRNDLY, R., 2009; PEDROSO et al., 2011; QUEIROZ et al., 2013; QUEIROZ et al., 2018).

O benzoato de sódio é um sal de sódio do ácido benzóico, largamente utilizado na indústria de alimentos como um agente fungistático (SALKOWSKI, 1875). A ação fungistática desse sal é resultado da ação da passagem na membrana celular na forma dissociada e liberação de hidrogênio no citoplasma dos microrganismos, o que reduz o pH intracelular levando o microrganismo a perder energia para eliminar estes íons. O

prolongamento desse processo acarreta no retardo do crescimento e posterior morte celular (LAMBERT E STRATFORD, 1999).

Dessa forma, o emprego do benzoato de sódio na silagem de cana-de-açúcar está relacionado ao efeito inibidor do desenvolvimento de leveduras e, conseqüente, redução de perdas de matéria seca e de etanol (PEDROSO, 2003). Para melhor efetividade em preservar o teor de carboidratos solúveis, Schmidt et al., (2007) recomendam a utilização do benzoato de sódio, em pelo menos 0,1% da MN.

Pedroso et al. (2008) ao estudarem o uso de benzoato de sódio (0,1% da MN), em comparação à outros aditivos químicos, constataram que o benzoato possibilitou manter maior teor de carboidratos solúveis ( $134 \text{ g kg}^{-1}$ ), além de reduzir a produção de etanol ( $32,2 \text{ g kg}^{-1}$ ). Pedroso et al. (2011) afirmaram que, em seus estudos, a aplicação de benzoato de sódio (0,1%), não reduziu a fermentação alcoólica da silagem, mas de alguma forma elevou o valor nutritivo da silagem, com menor teor de FDA e lignina e aumento no NDT das silagens, comparadas a silagens controle. Por outro lado, Siqueira et al. (2007) e Siqueira et al. (2010) observaram aumento na recuperação de matéria seca e na estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar tratadas com benzoato de sódio (0,1%).

A variabilidade de resultados de ensaios experimentais utilizando esse aditivo, indica que mais estudos e avaliações são necessárias para ampliar o banco de dados para ensilagem de cana-de-açúcar (PEDROSO et al., 2011; SCHMIDT et al., 2008).

#### **1.1.4. Realocação de silagens**

Atualmente a aquisição de silagens e a realocação das mesmas estão ocorrendo com certa frequência. Parte do uso desta tecnologia é devido à utilização da técnica de ensilagem de forma inadequada, que acarreta sérias perdas do material estocado e, conseqüentemente, falta de alimento para os animais. Por outro lado, fatores climáticos que afetam a produção de gramíneas tropicais, juntamente com um planejamento forrageiro incorreto, também podem provocar escassez de alimento, obrigando os produtores a produzir silagens e adquirir as “realocadas”.

A realocação consiste pela produção da silagem, para seguinte desabastecimento, transporte, recompactação e vedação em um novo silo. Pode-se também realocar em sacos plásticos resistentes. A transferência de silagens expõe a mesma a contato inevitável com oxigênio podendo demorar horas, ou até dias (CHEN E WEINBERG, 2014).

Microrganismos aeróbicos iniciam suas atividades desde a colheita e enchimento do silo, mas tem suas atividades mais pronunciadas durante a fase de desabastecimento (HONIG, 1991). Assim, o tempo de desabastecimento e enchimento das silagens em novos silos influencia diretamente na deterioração aeróbia. Este fator é ainda mais agravante quando se trata de regiões de clima quente, onde o tempo de desabastecimento e as altas temperaturas podem aumentar a taxa de crescimento de microrganismos deterioradores de silagem (BERNARDES et al., 2018)

Dos Anjos et al. (2017) afirmam que no processo de realocação, a silagem fica exposta por, no mínimo, 12 horas. Dessa forma, ao avaliarem o efeito da reensilagem sobre a qualidade da silagem de sorgo, observaram que a exposição da silagem por 12 horas não afetou a composição química, pH, microbiologia, estabilidade aeróbia e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) das silagens. Ainda, as silagens reensiladas apresentaram maior teor de ácido propiônico (34,4 g/kg), e menor teor de ácido láctico (26,9 g/kg).

Chen e Weinberg (2014) ao avaliarem o efeito da realocação em silagens de trigo e de milho com tempos de exposição de 0, 4, 8, 24 e 48 horas, observaram que silagens realocadas até 48 horas resultam em uma desidratação da silagem, elevando os valores de matéria seca. Os parâmetros de perdas de matéria seca e estabilidade aeróbia, não foram alterados com a realocação. No geral, os autores concordam com a afirmação de Mahana e Chase (2003), os quais afirmam que o sucesso da realocação de silagens depende do seu perfil de fermentação, contagem de leveduras e mofos, e em menor grau, a velocidade de realocação.

Lima et al. (2016), avaliaram os efeitos da reensilagem na qualidade de silagens de milho após 12, 24 e 48 horas de exposição ao ar, e também observaram que o tempo de realocação não alterou os parâmetros de composição química, fermentativa e microbiológica das silagens. No entanto, esses estudos têm sido realizados utilizando principalmente milho e sorgo, e, portanto, há uma escassez de estudos quando nos referimos a silagens de cana-de-açúcar.

#### **1.1.5. Tempo de armazenamento**

Ao adquirir silagens realocadas, não se sabe ainda, qual período ideal de armazenamento deste produto para que haja o desabastecimento e fornecimento animal. Vários autores afirmam que o processo fermentativo, principalmente decorrente da atuação de leveduras durante o armazenamento, é o principal problema relacionado à

ensilagem da cana-de-açúcar (Bernardes et al., 2007; Pedroso et al., 2007; Siqueira et al., 2007). Fator este, que pode estar ligado, ao segundo período de armazenamento de silagens realocadas.

Alli et al. (1983) avaliaram o perfil de fermentação da silagem de cana-de-açúcar e constataram redução rápida do pH nos primeiros dias de ensilagem, chegando a 3,5 aos sete dias. Porém, Evangelista et al. (2009), ao armazenar silagens de cana-de-açúcar acima de 10 dias, observaram elevação da capacidade tampão dessas silagens e estabilidade desta elevação aos 70 dias de armazenamento. Resultado semelhante foi observado por Callieri et al. (1989), que observaram elevação intensa da capacidade tampão nos quatro primeiros dias de ensilagem, quando passou de 4 para 15 meq de HCl/100 g de MS, e estabilização entre 80 e 100 dias de ensilagem. Aumento este, que dificultaria a rápida redução de pH no momento de armazenamento após a realocação.

Além disso, Evangelista et al. (2009) observaram que o teor de MS nas silagens reduziu com o aumento do tempo de armazenamento até 45 dias. Os mesmos autores constatararam também que, após 50 dias de armazenamento, a hemicelulose é reduzida, provavelmente, pelas mudanças da disponibilidade de substratos e mudanças dos microrganismos atuantes no processo. Pedroso et al. (2005), afirmam que um dos principais fatores responsáveis pela redução no teor de matéria seca durante o processo fermentativo da cana-de-açúcar após a ensilagem é a perda de matéria seca ocasionada pela fermentação das leveduras. Assim, ao armazenar a silagem novamente, há um segundo processo fermentativo, passível de elevação das perdas da silagem e, conseqüente, diminuição de digestibilidade dos nutrientes desta.

Dessa forma, a busca de aditivos que auxiliem na manutenção do valor nutritivo da silagem é de fundamental importância para o sucesso da atividade utilizando cana-de-açúcar.

## **REFERÊNCIAS**

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2016. Acesso em: 10 de novembro de 2017.

MOTA, Diego Azevedo et al. Hidrólise da cana-de-açúcar com cal virgem ou cal hidratada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1186-1190, 2010.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 2., 2004, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2004. p.1-33

- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, v.62, p.427-432, 2005.
- RESENDE, F.D. et al. Terminação de bovinos de corte com ênfase na utilização de alimentos conservados. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A. (Eds). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2005. p.83-104.
- SIQUEIRA, G.R. et al. Uso da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, 2012.
- SIQUEIRA, G.R. et al. Uso estratégico de forragens conservadas em sistemas de produção de carne. In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (Eds) **Produção e utilização de forragens conservadas**. Maringá: Masson, 2008. p.41-89
- BERNARDES, T. F.; DO RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1852-1861, 2014.
- FREITAS, A.W.P et al. Avaliação da divergência nutricional de genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.35, n.1, p.229-236,2006.

## **2. COMO A APLICAÇÃO DE BENZOATO DE SÓDIO, A REALOCAÇÃO E O TEMPO DE ARMAZENAMENTO AFETAM A FERMENTAÇÃO, A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E A ESTABILIDADE AERÓBIA DA SILAGEM DE CANA-DE-AÇUCAR?**

### **2.1. INTRODUÇÃO**

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é uma forragem muito utilizada na alimentação de ruminantes, principalmente devido sua colheita coincidir com o período de baixa disponibilidade de forragem. Tradicionalmente é colhida e fornecida diariamente no cocho. Entretanto, a utilização na forma de silagem traz vantagens como: alimentação para os animais durante o ano todo, uniformidade de colheita e concentração da mão-de-obra na época de colheita e ensilagem (MOTA et al., 2010)

A cultura possui características favoráveis para um bom processo de fermentação, provendo o rápido decréscimo do pH, com valores abaixo de 4,0 nas primeiras 72 horas (PEDROSO et al., 2005). No entanto, a grande concentração de carboidratos solúveis e a elevada microflora epifítica de leveduras, promove uma fermentação alcoólica expressiva. Assim, a ensilagem de cana-de-açúcar transforma grande parte dos açúcares em produtos finais da fermentação. Ocasionalmente assim, grandes perdas de matéria seca, alto teores de etanol, diminuindo o valor nutritivo da silagem e consequente diminuição no desempenho animal (SCHMIDT et al., 2014)

Portanto, é necessário o estudo de aditivos que possam melhorar o processo fermentativo e elevem a estabilidade aeróbia dessas silagens. Aditivos químicos têm se tornado os mais utilizados quando se trata de ensilagem de cana-de-açúcar, principalmente benzoato de sódio. A ação antifúngica desse aditivo diminui o crescimento de microrganismos deterioradores primários, como leveduras, evitando assim a fermentação de carboidratos a etanol, CO<sub>2</sub> e água, e posteriormente a rápida deterioração aeróbia (QUEIROZ et al., 2013)

Ainda, a utilização do benzoato de sódio para aumento da estabilidade aeróbia pode ser uma alternativa quando se trata de realocação de silagens, processo no qual a silagem é desabastecida do silo de origem, transportada e reensilada em um novo silo, deixando a massa de silagem inevitavelmente exposta ao ar por várias horas. (CHEN E WEINBERG, 2014). Embora essa atividade seja muito realizada nos dias atuais, ainda não se sabe o tempo de armazenamento ideal para utilização das silagens realocadas. Isto

porque o processo fermentativo da silagem vai ser modificado de acordo com o tempo de armazenamento.

Dessa forma, objetivou-se com esse estudo determinar os efeitos da realocação, do uso de benzoato de sódio e do tempo de armazenamento das silagens sobre parâmetros de fermentação, populações microbianas, composição química, e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Plantação, colheita e ensilagem

O ensaio experimental foi realizado na Fazenda Escola de Igarapé Açú (FEIGA), localizada no município de Igarapé Açu, nordeste paraense, a 01°07'21" de latitude sul e 47°36'27" de longitude oeste. A região apresenta clima tropical de monções (Am), caracterizado como clima tropical chuvoso segundo a classificação de Köppen. A temperatura média na região é de 28°C e pluviosidade média anual de 2495 mm.

O canal foi formado em novembro de 2016 e após 12 meses foi realizada a colheita a, aproximadamente, 20 cm do solo, com colhedora tracionada por trator regulada com tamanho teórico de corte da partícula de 5 mm. No momento da colheita, foram feitas amostragens da planta inteira para determinação do grau brix com auxílio de refratômetro, análise de composição morfológica, microbiológica e química (Tabela 03).

**Tabela 03:** Composição química, morfológica, microbiológica e grau brix da cana-de-açúcar *in natura*.

Composição química (%)	
MS	32,67
MO	97,38
FDN	50,25
PB	2,49
Grau Brix	17
Características Morfológicas (% da MS)	
Colmo	60,3
Material senescente	39,4
Folha	0,3
Microflora epifítica (log.ufc g <sup>-1</sup> )	
Leveduras	5,72
Fungos	4,95

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; FDN: fibra em detergente neutro; PB: proteína bruta.

As silagens foram confeccionadas em silos experimentais de plástico com capacidade para 15 L. Antes da ensilagem foram colocadas três kg de areia no fundo e tecido não tecido (TNT) para separar a forragem da areia. Foi colocada uma quantidade de massa de forragem correspondente a densidade de  $476 \pm 35$  kg de MN/m<sup>3</sup> de silo. Nas silagens aditivadas, o benzoato de sódio foi diluído em água destilada e adicionado na proporção de 0,2% da MN da massa de forragem, com aplicação feita a uma taxa de 15 L t<sup>-1</sup> de forragem fresca de água destilada. O processo de aplicação foi realizado separadamente para cada repetição (silos experimentais). Em seguida, a massa de forragem foi homogeneizada ao aditivo, os mini-silos foram abastecidos, compactados, vedados, pesados e armazenados por 120 dias. Nas silagens sem aditivo o processo foi semelhante, mas sem a adição do benzoato de sódio. Os silos do tratamento “sem realocação” permaneceram fechados até o final do ensaio experimental, totalizando 130 dias para o tratamento de 10 dias de armazenamento, e 180 dias para os armazenados por 60 dias.

### **2.2.2 Design experimental**

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial  $2 \times 4 \times 2$ , com quatro repetições. Foram avaliados benzoato de sódio (BS; sem aditivo e com BS), realocação (sem realocação (SR), 12, 48 ou 72 horas de realocação), e o tempo de armazenamento da silagem após a realocação (TA; 10 ou 60 dias).

Passado o tempo de armazenamento, os silos foram pesados e abertos. Na abertura, os silos foram totalmente desabastecidos e as silagens depositadas sobre lonas plásticas em forma de pilhas e expostas ao ar nos tempos pré-estabelecidos, mantidas em local coberto. Após a exposição, as silagens foram realocadas para os silos de origem. Amostras em triplicata das silagens antes e após a exposição foram retiradas e refrigeradas para análise de composição química, microbiológica e características fermentativas. Os silos experimentais foram pesados para cálculo de perdas por efluentes e perdas de matéria seca.

### **2.2.3. Perdas fermentativas**

Os silos foram reabertos nos tempos de armazenamento diferentes de 10 ou 60 dias. Nesta reabertura, os silos foram pesados, retirada amostra para análise de composição química, ácidos orgânicos, pH, carboidratos solúveis e microbiologia. Amostras foram acondicionados em sacos plásticos e armazenadas a -20 °C até o momento das análises. As avaliações foram realizadas nos Laboratórios de Nutrição Animal e

Análise de Alimentos da UFRA. Seguiu-se a mesma metodologia em ambos os tratamentos.

As perdas de matéria seca das silagens e por efluentes foram quantificadas por diferença de peso do conjunto balde + areia antes e após o armazenamento. As perdas por efluentes foram obtidos pelo peso de retenção de efluentes na areia e expresso em  $\text{g kg}^{-1}$  de massa fresca de forragem ensilada. As perdas de matéria seca foram estimadas em percentagem de matéria seca, da massa de forragem ensilada em comparação com a massa final na abertura. Foram calculadas as perdas por efluentes e matéria seca acumuladas, somando o total de perdas nas duas aberturas dos silos experimentais.

#### **2.2.4 Estabilidade aeróbia**

No ensaio de estabilidade foi pesado 1,5 kg de amostra de silagem em cada balde, totalizando dois baldes por unidade experimental, um para análise de temperatura, e o segundo para retirada de amostra para análise de pH e microbiologia. Os baldes foram mantidos em uma sala climatizada a 21°C por 7 dias, onde a temperatura da sala e das silagens foram registradas a cada 4 horas por meio de termômetro. A estabilidade aeróbia foi definida como o número de horas em que a silagem permaneceu estável antes de atingir 2°C acima da temperatura ambiente (MORAN et al., 1996). A deterioração aeróbia das silagens foi definida como o somatório da temperatura acumulada, em °C, a partir do momento em que houve a quebra da estabilidade das silagens (CONAGHAN et al., 2010).

#### **2.2.5 pH e microbiologia**

Na determinação de pH e composição microbiológica foi preparado um extrato aquoso, pesando-se 25 g de amostra de silagem e adicionando 225 mL de água peptonada estéril a 1% e homogeneizada em homogeneizador tipo Stomacher por 20 minutos. O pH de cada extrato foi determinado utilizando-se potenciômetro. Para contagem microbiológica foi utilizado a técnica “pour-plate”. Foi utilizado o meio de cultura Agar MRS Lactobacilos para BALs e Agar Batata Dextrose para leveduras e mofos. Foram preparadas 5 diluições para cada amostra. As placas de petri foram incubadas a 35°C por três dias para BAL e a 28°C por três e cinco dias para leveduras e mofos, respectivamente. As contagens das colônias foram feitas baseadas nas características morfológicas. As medições de pH e microbiologia foram realizadas durante o ensaio de estabilidade, em 0; 48; 96 e 168 horas.

### **2.2.6 Produtos da fermentação e composição química**

Na determinação de ácidos graxos voláteis (ácido láctico, acético, propiônico e butírico) e etanol, foi utilizado cromatografia líquida de alta performance (Shimadzu LC 10 Ai; Shimadzu Corp. Larvas MG, Brasil). Uma alíquota de 2 mL foi adicionada a tubos Eppendorf contendo 0,01 ml de solução de ácido sulfúrico a 50% e, em seguida, centrifugados e filtrados. Um detector de radiação ultravioleta a um comprimento de onda de 210 nm foi usado. O dispositivo foi equipado com uma coluna de exclusão iônica (SUPELCO-SUPELCOGEL 8H (5 cm × 4,8 mm) operando a 30° C com vazão de 0,6 mL / min e usando água e ácido sulfúrico 0,005 M como fase móvel (SANTOS et al., 2014).

As amostras para determinação química foram processadas e analisadas no Laboratório de Nutrição Animal e Análise de Alimentos (LABNUTAN) da UFRA. Essas amostras foram acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72h para determinação de matéria seca (MS), de acordo com AOAC (1990), e as amostras foram moídas em moinho do tipo Willey a 1mm para determinação de matéria mineral (MM) proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) através da metodologia proposta pela AOAC (1990). A fibra em detergente neutro (FDN) foi obtida segundo metodologia de Van Soest et al. (1991).

### **2.2.7 Análise estatística**

Os dados de composição química, microflora epifítica e grau brix da cana-de-açúcar *in natura*, e os dados de composição química, microbiologia, pH e estabilidade das silagens de cana-de-açúcar na primeira abertura, e após a exposição aeróbia na realocação, são apenas para caracterização e por isso não passaram por análise estatística.

Na análise estatística, os valores de contagem de microrganismos passaram por uma transformação logarítmica antes de serem analisados.

Para a análise estatística dos parâmetros de composição química, perdas fermentativas, estabilidade, pH e microbiologia no dia de abertura, foi utilizado um arranjo fatorial 2 × 4 × 2 usando o procedimento MIXED do programa SAS (Statistical Analysis System, versão 9.0) observando os efeitos de aditivo (A), realocação (R), tempo de armazenamento (TA) e a interação desses (A × R × TA). As médias foram comparadas

por meio do teste “tukey” em nível de 5% de probabilidade. Foi utilizado o seguinte modelo matemático:

$$Yijkl = \mu + Ai + Rj + TAk + (AR)ij + (ATA)ik + (RTA)jk + (ARTA)ijk + \epsilonijkl$$

Onde:

$Yijkl$  = é o valor observado, referente ao nível i do fator A, combinado com o nível j do fator R e com o nível k do fator TA, na repetição l;

$\mu$  = é o efeito de média geral

A = efeito do fator aditivo (A);

R = efeito do fator realocação (R);

TA = efeito do fator tempo de armazenamento (TA);

(AR) = interação do fator A e fator R;

(ATA) = interação fator A e fator TA;

(RTA) = interação fator R e TA;

(ARTA) = interação entre todos os fatores;

Para análise de pH e microbiologia durante a estabilidade, o fator tempo foi analisado separadamente. As variáveis foram analisadas como um arranjo fatorial  $2 \times 4$  com medidas repetidas no tempo (0; 48; 96; e 168 horas) usando o procedimento MIXED do programa SAS (Statistical Analysis System, versão 9.0), observando os efeitos de aditivo (A), realocação (R), avaliações durante estabilidade aeróbia (EA) e a interação desses ( $A \times R \times EA$ ). As médias foram comparadas por meio do teste “tukey” em nível de 5% de probabilidade. Seguindo o seguinte modelo matemático:

$$Yijkl = \mu + Ai + Rj + EAk + (AR)ij + (AEA)ik + (REA)jk + (AREA)ijk + \epsilonijkl$$

Onde:

$Yijkl$  = é o valor observado, referente ao nível i do fator A, combinado com o nível j do fator R e com o nível k do fator EA, na repetição l;

$\mu$  = é o efeito de média geral

A = efeito do fator aditivo (A);

R = efeito do fator realocação (R);

EA = efeito do fator estabilidade aeróbia (EA);

(AR) = interação do fator A e fator R;

(AEA) = interação fator A e fator EA;

(REA) = interação fator R e EA;

(*AREA*)=interação entre todos os fatores;

As variáveis respostas passaram inicialmente por teste de normalidade, homocedasticidade e independência dos erros. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, sendo as médias consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Cana-de-açúcar antes da ensilagem e silagens após primeira abertura e exposição na realocação

As silagens sem aditivo ou com benzoato de sódio (BS) apresentaram valores próximos em relação a composição química, pH e microbiologia. Por outro lado, silagens com benzoato de sódio apresentaram maior estabilidade aeróbia, demonstrando o efeito do aditivo na manutenção da estabilidade aeróbia em silagens de cana-de-açúcar sem realocação (tabela 04). As silagens sem aditivo ou com benzoato de sódio, tiveram teor de matéria seca elevado com o passar do tempo de exposição, o mesmo ocorrendo com o teor de fibra em detergente neutro.

**Tabela 04:** Caracterização da cana-de-açúcar *in natura*, e das silagens na primeira abertura e após a exposição durante a realocação.

		MS	MO	PB	FDN	Brix	pH	BAL	LEV	PMS	EA
		%				°		log.ufc g <sup>-1</sup>	%	h	
Cana-de-açúcar <i>in natura</i>		32,87	97,38	2,49	50,08	17,5	-	-	5,71	-	-
		1ª abertura									
Sem aditivo		28,19	97,16	3,51	64,14	-	4,25	5,09	4,47	20,14	74
Benzoato de sódio		29,85	97,05	3,38	63,69	-	4,33	4,71	4,30	15,62	142
		Após exposição na realocação									
Sem aditivo	12h	28,68	96,92	3,30	66,16	-	3,75	4,91	6,48	18,93	-
	48h	29,83	97,32	3,14	68,94	-	3,69	4,00	7,67	21,93	-
	72h	32,76	97,32	3,41	69,15	-	3,96	4,00	7,94	19,57	-
Benzoato de sódio	12h	28,41	97,13	3,43	53,00	-	3,91	4,36	6,18	16,30	-
	48h	32,74	97,11	3,14	56,72	-	4,24	4,57	6,91	18,53	-
	72h	33,61	97,08	3,34	60,92	-	3,97	4,62	6,28	22,75	-

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; BAL: bactérias ácido lácticas; LEV: Leveduras; PMS: EA: estabilidade aeróbia.

### **2.3.2. Efeito do benzoato de sódio, realocação e tempo de armazenamento na qualidade de silagens de cana-de-açúcar**

As perdas por efluentes foram alteradas ( $p < 0,05$ ) pelo efeito da realocação e pelo tempo de armazenamento da silagem de cana-de-açúcar, apresentando maiores valores em silagens realocadas por 12 e 48 horas e menores valores em silagens não realocadas ou realocadas em 72 (tabela 05). Silagens armazenadas por 60 dias apresentaram maiores perdas por efluente (33,35%) ( $p < 0,05$ ). Houve efeito do uso de aditivo e do tempo de armazenamento sob os valores de ácido propiônico, pH e FDN das silagens de cana-de-açúcar ( $p < 0,05$ ). Silagens sem aditivo apresentaram menores valores de ácido propiônico, o mesmo ocorreu nas silagens armazenadas por 60 dias ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS apresentaram maiores valores de pH e menores teores de FDN ( $p < 0,05$ ). As silagens armazenadas por 10 dias após a realocação apresentaram menores valores de pH e FDN se comparadas às silagens armazenadas por 60 dias ( $p < 0,05$ ). Houve efeito de realocação e do tempo de armazenamento sobre a concentração de ácido acético das silagens, onde silagens realocadas por 48 e 72 horas ou silagens armazenadas por 60 dias apresentaram maiores concentrações desse ácido.

As perdas de matéria seca (PMS) e o índice de deterioração (IDET) foram alteradas pela interação entre uso de aditivo e tempo de realocação das silagens ( $A \times R$ ) ( $p < 0,05$ ). A HTMAX foi modificada pela interação entre  $A \times R$ , e pela interação de tempo de realocação e tempo de armazenamento ( $R \times TA$ ) ( $p < 0,05$ ). Houve efeito da interação do uso de aditivo e tempo de armazenamento ( $A \times TA$ ), e da interação  $R \times TA$  para BAL e LEV das silagens ( $p < 0,05$ ). As variáveis MS e PB das silagens foram alteradas pelas interações:  $A \times R$ ;  $R \times TA$ ; e  $A \times TA$  ( $p < 0,05$ ). Os valores de EA, TMAX e ácido butírico foram modificados pela interação entre uso de aditivo, tempo de realocação e tempo de armazenamento ( $A \times R \times TA$ ) ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 05:** Efeito do uso de benzoato de sódio (0,2 %MN), realocação e dias de armazenamento e suas interações sobre as variáveis de composição química, perdas fermentativas, microbiologia e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar.

	BAL	LEV	pH	Ác. Láctico	Ác. Acético	Ác. Propiônico	Ác. Butírico	PE	PMS	MS	PB	FDN	EA	TMAX	HTMAX	IDET
	log.ufc g <sup>-1</sup> MN			%MS				g.kg <sup>-1</sup>		%			h	°C	h	°C
Aditivo																
Sem aditivo	4,79	4,42	4,10b	4,17	3,06	0,07	0,10	23,29	20,92	30,07	3,65	69,20a	55,62	35,44	95,75	11,14
Benzoato de sódio	4,48	4,28	4,25a	3,42	2,22	0,12	0,06	25,26	18,22	31,07	3,04	67,16b	61,37	33,99	110,88	9,51
EPM								1,50	1,46	0,28	0,07	0,39	3,19	0,51	3,57	0,51
Tempo de exposição																
0	3,94	3,86	4,21	3,95	2,15	0,12	0,08	20,05b	15,79	29,70	3,63	68,24	102,25	32,49	115	4,76
12	4,66	4,02	4,15	4,26	2,15	0,07	0,09	29,13a	20,61	29,11	3,12	67,74	42,00	38,05	92,75	14,98
48	5,28	4,16	4,18	3,54	3,04	0,08	0,07	25,48a	19,04	31,52	3,31	67,34	44,25	33,37	104	10,71
72	4,66	5,36	4,17	3,43	3,25	0,11	0,05	22,45b	22,84	31,94	3,32	69,38	45,50	34,96	101,5	10,84
EPM								2,12	2,07	0,40	0,10	0,56	4,51	0,72	5,05	0,72
Tempo de armazenamento																
10	3,99	5,27	4,12b	3,57	2,49	0,13	0,07	15,20b	17,77	31,00	3,37	67,50b	47,37	36,21	87,12	11,77
60	5,27	3,43	4,23a	4,02	2,8	0,06	0,08	33,35a	21,37	30,13	3,32	68,85a	69,62	33,22	119,5	8,87
EPM								1,50	1,46	0,28	0,07	0,39	3,19	0,51	3,57	0,51
p-valores																
Aditivo (A)	0,08	<0,01	<0,01	<0,01	0,03	0,01	<0,01	0,35	0,2	0,01	<0,01	<0,01	0,2	0,04	<0,01	0,02
Realocação (RE)	<0,01	0,01	0,61	0,05	0,06	0,2	0,02	0,02	0,12	<0,01	<0,01	0,07	<0,01	<0,01	0,03	<0,01
Tempo de armazenamento (TA)	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	0,38	<0,01	0,22	<0,01	0,09	0,03	0,66	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
A×RE	0,09	0,05	0,18	0,13	0,07	0,04	<0,01	0,9	0,02	0,03	<0,01	0,46	0,15	0,69	0,01	<0,01
A×TA	0,03	<0,01	0,53	0,11	0,07	0,22	<0,01	0,97	0,35	<0,01	0,02	0,83	0,44	0,03	0,29	0,05
RE×TA	0,02	0,01	0,29	0,04	0,87	0,86	0,01	0,85	0,46	0,03	0,04	0,13	0,01	<0,01	0,01	0,08
A×RE×TA	0,45	0,05	0,17	0,72	0,56	0,51	<0,01	0,70	0,53	0,23	0,05	0,30	0,02	<0,01	0,05	0,73

MN: matéria natural; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; PMS: perdas de matéria seca; PE: perdas por efluentes; BAL: bactérias ácido lácticas; LEV: leveduras; TMAX: temperatura máxima; IDET: índice de deterioração; EA: estabilidade aeróbia; HTMAX: horas para atingir a temperatura máxima. EPM: erro padrão da média. Médias seguidas de letras minúsculas diferem entre coluna pelo teste de Tukey (p<0,05).

Silagens de cana-de-açúcar com BS tiveram maiores teores de ácido propiônico em silagens sem realocação (SR;  $p < 0,05$ ) (tabela 06). Em silagens sem aditivo, não houve efeito do tempo de realocação sob os valores de ácido propiônico ( $p > 0,05$ ). Silagens com BS tiveram maiores produções desse ácido quando não realocadas, e menores teores quando realocadas por 12 e 48h ( $p < 0,05$ ). Não houve efeito do uso de aditivo em silagens não realocadas ( $p < 0,05$ ) sob parâmetro de HTMAX. Silagens realocadas por 12, 48 e 72h demoraram mais horas para atingir a temperatura máxima das silagens quando foi utilizado BS ( $p < 0,05$ ). Em silagens sem aditivo, o maior valor de HTMAX foi verificado em silagens sem realocação e menor em silagens realocadas nos demais tempos ( $p < 0,05$ ). Em silagens com BS os maiores valores de HTMAX foram encontradas em silagens sem realocação e realocadas em 48h e menores em silagens realocadas por 12 e 72h ( $p < 0,05$ ).

O índice de deterioração de silagens de cana-de-açúcar com BS foi menor ( $p < 0,05$ ) em silagens realocadas em 48h se comparada as silagens sem aditivo. Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) do uso de BS nas silagens sem realocação e nos demais tempos de realocação. Silagens sem aditivo e realocadas em 12 e 48h obtiveram maior índice de deterioração, seguida das silagens realocadas em 72h e obtendo menor valor em silagens não realocadas ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS apresentaram maior índice de deterioração em silagens realocadas em 12h, seguido de silagens realocadas por 72h e apresentando menores valores em silagens realocadas em 48h e sem realocação ( $p < 0,05$ ).

As perdas de matéria seca em silagens de cana-de-açúcar com BS não diferiram das silagens sem aditivo, quando: sem realocação, e realocadas em 12 e 72h ( $p > 0,05$ ). Porém, houve efeito do BS em silagens realocadas em 48h, as quais apresentaram menores valores se comparadas a silagens sem aditivo ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS também apresentaram maiores PMS em silagens realocadas por 48h, porém, obteve menores valores em silagens realocadas em 72h ( $p < 0,05$ ).

Silagens com BS e realocadas por 48h apresentaram maiores teores ( $p < 0,05$ ). Os demais tempos de realocação não foram alterados pelo uso do aditivo ( $p > 0,05$ ). Em silagens sem aditivo, os teores de MS mais elevados foram observados em silagens realocadas em 72h ( $p < 0,05$ ). Silagens sem aditivo, não realocadas e realocadas em 12h obtiveram menor teor de MS ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS apresentaram maior teor de MS quando realocados em 48 e 72h, e menor teor quando não realocado e realocado até 12h ( $p < 0,05$ ).

Foi observado maiores teores de PB nas silagens sem aditivo quando não realocadas ou realocadas em 72h ( $p < 0,05$ ). O uso de BS não alterou os teores de PB nos demais

tempos de realocação ( $p>0,05$ ). Silagens sem aditivo e sem realocação apresentaram elevado teores de PB ( $p<0,05$ ) se comparado aos demais tempos de realocação, que não diferiram entre si ( $p>0,05$ ). O tempo de realocação não alterou os teores de PB em silagens com BS ( $p>0,05$ ).

**Tabela 06:** Desdobramento da interação do efeito do uso de aditivo e realocação (A×R) em silagens de cana-de-açúcar.

	Ácido Propiônico (%)			
	SR	12h	48h	72h
Sem aditivo	0,04Ba	0,04Aa	0,09Aa	0,09Aa
Benzoato de sódio	0,21Aa	0,09Ab	0,07Ab	0,13Aab
Perdas de matéria seca (%)				
Sem aditivo	15,55Ab	23,14Aab	25,04Aa	19,97Aab
Benzoato de sódio	16,04Ab	18,03Aab	13,03Bb	25,71Aa
Matéria Seca (%)				
Sem aditivo	29,51Ac	28,36Ac	30,17Bb	32,23Aa
Benzoato de sódio	29,88Ab	29,87Ab	32,87Aa	31,65Aa
Proteína Bruta (%)				
Sem aditivo	4,24Aa	3,29Ab	3,50Ab	3,56Ab
Benzoato de sódio	3,01Ba	2,95Aa	3,11Aa	3,09Ba
HTMAX (h)				
Sem aditivo	107Aa	82Bb	86,5Bb	107,5Aa
Benzoato de sódio	123Aa	103,5Aab	121,5Aa	95,5Ab
Índice de deterioração (°C)				
Sem aditivo	4,03Ac	15,52Aa	14,1Aa	10,9Ab
Benzoato de sódio	5,50Ac	14,44Aa	7,31Bc	10,77Ab

Dose de BS: 0,2% da matéria natural. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Não houve efeito do uso de BS na contagem de BAL em silagens armazenadas por 60 dias ( $p>0,05$ ). Silagens armazenadas por 10 dias apresentaram maior contagem de BAL quando não foi utilizado o aditivo ( $p<0,05$ ) (tabela 07). Silagens sem aditivo apresentaram maior contagem de BAL quando armazenadas por 60 dias ( $p<0,05$ ). O mesmo ocorreu para silagens com BS ( $p<0,05$ ). Houve efeito do uso de BS em silagens armazenadas por 10 dias após a realocação, as quais tiveram contagem de leveduras reduzidas em comparação às silagens sem aditivo ( $p<0,05$ ). Silagens sem aditivo, ou com BS tiveram menores contagens de leveduras quando armazenadas por 60 dias após a realocação ( $p<0,05$ ).

Silagens com BS tiveram índice de deterioração igual a silagens sem aditivo quando armazenadas por 10 d após a realocação ( $p>0,05$ ). Já em silagens armazenadas por 60d, o BS diminuiu o índice de deterioração ( $p<0,05$ ). Silagens sem aditivo não

tiveram o índice de deterioração alterado pelo tempo de armazenamento ( $p>0,05$ ). Porém, silagens com BS tiveram menor índice quando armazenadas por 60d ( $p<0,05$ ).

O BS não alterou o teor de MS de silagens armazenadas por 10 d ( $p>0,05$ ). No entanto, elevou os teores de MS quando armazenadas por 60d ( $p<0,05$ ). Silagens sem aditivo apresentaram maior teor de matéria seca quando armazenadas por 60d ( $p<0,05$ ). Não houve diferença entre o tempo de armazenamento nos teores de MS de silagens com BS ( $p>0,05$ ).

Silagens sem aditivo apresentaram valor elevado de PB nas silagens armazenadas por 10 e 60d quando comparadas a silagens com BS ( $p<0,05$ ). Silagens sem aditivo elevaram o valor de PB quando armazenadas por 60d ( $p<0,05$ ). Não houve diferença nos teores de PB de silagens com BS nos diferentes tempos de armazenamento ( $p>0,05$ ).

**Tabela 07:** Desdobramento da interação do efeito do uso de aditivo e tempo de armazenamento (A×TA) em silagens de cana-de-açúcar.

Bactérias ácido lácticas (log.ufc g <sup>-1</sup> )		
	10d	60d
Sem aditivo	4,34Ab	5,23Aa
Benzoato de sódio	3,64Bb	5,30Aa
Leveduras (log.ufc g <sup>-1</sup> )		
Sem aditivo	5,58Aa	3,00Ab
Benzoato de sódio	4,63Ba	3,00Ab
Matéria seca (%)		
Sem aditivo	31,21Aa	28,92Bb
Benzoato de sódio	30,8Aa	31,2Aa
Proteína Bruta (%)		
Sem aditivo	3,79Aa	3,50Ab
Benzoato de sódio	2,94Ba	3,14Ba
Índice de deterioração (%)		
Sem aditivo	11,87Aa	10,41Aa
Benzoato de sódio	11,67Aa	7,33Bb

Dose de BS: 0,2% da matéria natural. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de tukey; p-valor <0,05

Silagens não realocadas ou realocadas por 12 e 48h apresentaram maior contagem de BAL quando foram armazenadas por 60 dias ( $p<0,05$ ) (tabela 08). Silagens realocadas por 72 horas não diferiram em contagem de BAL com o tempo de armazenamento ( $p>0,05$ ). Silagens armazenadas por 10 dias, tiveram maiores contagens de BAL quando

realocadas por 12, 48 e 72 h ( $p < 0,05$ ). As silagens realocadas por 60 dias tiveram maior contagem de BAL quando realocadas por 48h ( $p < 0,05$ ).

Houve efeito do tempo de armazenamento sob os valores de ácido láctico, quando as silagens foram realocadas por 48, no qual silagens armazenadas por 60 dias, apresentaram teor mais elevado ( $p < 0,05$ ). Quando armazenadas por 10 dias, silagens tiveram menor valor de ácido láctico quando foram realocadas por 48h ( $p < 0,05$ ). Já em silagens armazenadas por 60 dias, esses valores foram menores quando as silagens não foram realocadas ou foram realocadas por 72 horas ( $p < 0,05$ ).

A contagem de leveduras foi maior em silagens armazenadas por 10 dias após a realocação, independentemente do tempo de realocação ( $p < 0,05$ ). Silagens armazenadas por 10 dias, tiveram contagem reduzida de leveduras quando não realocadas ou realocadas até 12h, enquanto tiveram maior contagem quando realocadas por 72h ( $p < 0,05$ ). Não houve efeito de realocação quando as silagens foram armazenadas por 60 dias ( $p > 0,05$ ).

Silagens realocadas em 72h apresentaram teores elevados de MS. Os menores teores de MS foram observados em silagens realocadas em 12h ( $p < 0,05$ ). Silagens realocadas em 48 e 72h apresentam maior teor de MS quando armazenadas por 10d se comparada as silagens sem realocação e realocada por 12h ( $p < 0,05$ ). Silagens não realocadas apresentaram maiores teores de MS quando armazenadas por 10d ( $p < 0,05$ ). Nos demais tempos de realocação não houve diferença nos teores de MS entre silagens armazenadas por 10 ou 60d ( $p > 0,05$ ).

Silagens realocadas em 72h apresentaram maior teor de PB ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, silagens realocadas por 12h apresentaram menores teores de PB ( $p < 0,05$ ) e as silagens não realocadas ou realocadas por 48h apresentaram valores intermediários e não diferiram entre si quando armazenadas por 10d ( $p > 0,05$ ). Silagens não realocadas apresentaram maiores teores de PB ( $p < 0,05$ ), silagens realocadas até 72h tiveram menores teores de PB ( $p < 0,05$ ), e silagens realocadas em 12 e 48h tiveram valores intermediários e semelhantes entre si, quando armazenados por 60d ( $p > 0,05$ ). O armazenamento de silagens de cana-de-açúcar por 10 ou 60d não alterou os teores de PB quando as silagens foram realocadas até 48h ( $p > 0,05$ ). No entanto, silagens armazenadas por 10d e realocadas em 72h, tiveram maior teor de PB quando comparada as silagens armazenadas por 60d ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 08:** Desdobramento da interação do efeito do tempo de realocação e tempo de armazenamento ( $R \times TA$ ) em silagens de cana-de-açúcar.

Bactérias ácido lácticas (log.ufc g <sup>-1</sup> )				
	SR	12h	48h	72h
10d	2,84Bb	4,16Ba	4,66Ba	4,31Aa
60d	5,02Ab	5,16Ab	5,89Aa	5,00Ab
Leveduras (log.ufc g <sup>-1</sup> )				
10d	4,68Ac	4,48Ac	5,24Ab	6,00Aa
60d	<3,00Ba	<3,00Ba	<3,00Ba	<3,00Ba
Ácido láctico (%)				
10d	4,01Aa	4,06Aa	2,76Bb	3,45Aa
60d	3,89Ab	4,46Aa	4,31Aa	3,42Ab
HTMAX (h)				
10d	85,5Ba	82Ba	86,5Ba	94,5Aa
60d	144,5Aa	103,5Ab	121,5Ab	108,5Ab
Matéria seca (%)				
10d	30,95Ab	29,26Ac	31,11Aab	32,69Aa
60d	28,45Bb	28,96Ab	31,92Aa	31,19Aa
Proteína bruta (%)				
10d	3,53Aab	3,11Ab	3,24Aab	3,59Aa
60d	3,50Aa	3,13Aab	3,38Aab	3,05Bb

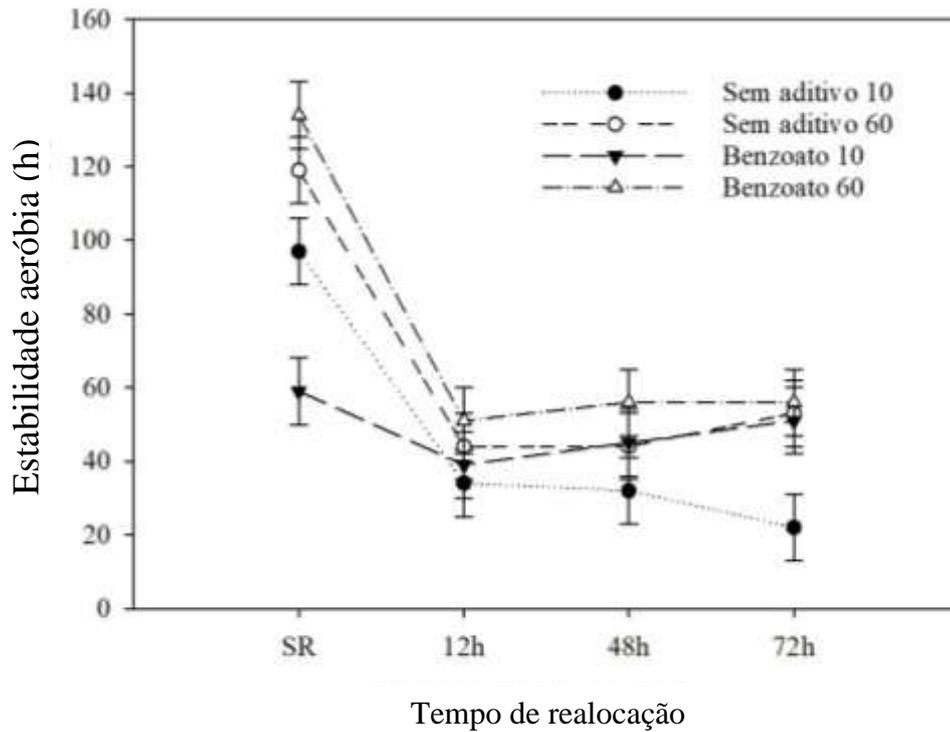
Dose de BS: 0,2% da matéria natural. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

As silagens que apresentaram maior estabilidade aeróbia foram as silagens sem realocação e armazenadas por 60 d, com ou sem aditivo químico ( $p < 0,05$ ) (figura 01). Silagens sem aditivo tiveram menor estabilidade quando realocadas por 72h e armazenadas por 10 dias ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS não diferiram entre si com o tempo de realocação, quando armazenadas por 10d ( $p > 0,05$ ). Silagens com BS reduziram a estabilidade ( $p < 0,05$ ) quando realocadas em 12,48 e 72h, que não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

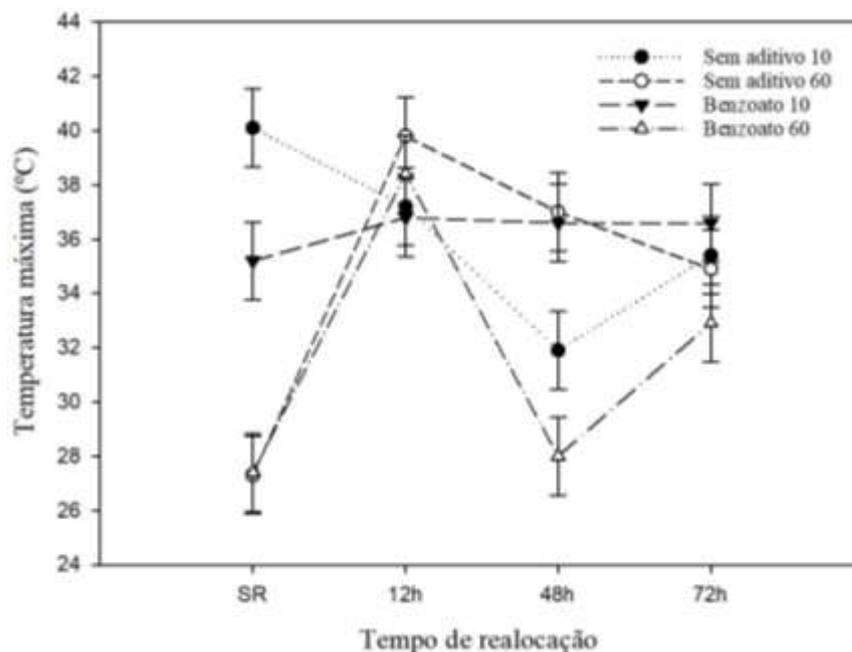
Silagens sem aditivo químico, sem realocação e armazenadas por 10 dias apresentaram maior valor de temperatura máxima, seguida pelas silagens tratadas com BS, sem realocação e armazenadas por 10 dias ( $p < 0,05$ ) (figura 02). Silagens sem realocação e armazenada por 60 dias tiveram menores valores de TMAX, independente do uso de aditivo ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS armazenadas por 10 dias não apresentaram efeito do tempo de realocação ( $p > 0,05$ ). Não houve efeito do uso de aditivo e de tempo de armazenamento quando as silagens foram expostas por 12h, apresentando todas altas valores de TMAX ( $p > 0,05$ ). Quando realocadas por 48h, silagens com BS armazenadas por 60 dias, apresentaram menores TMAX ( $p < 0,05$ ). Quando realocadas por 72h, as

silagens tiveram TMAX semelhantes, independente do uso de aditivo ou tempo de armazenamento ( $p>0,05$ ).

**Figura 01:** Interação do uso de aditivo (0,2% MN), tempo de realocação (SR = sem realocação) e tempo de armazenamento (10 ou 60 dias) ( $A \times R \times TA$ ) na estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar.

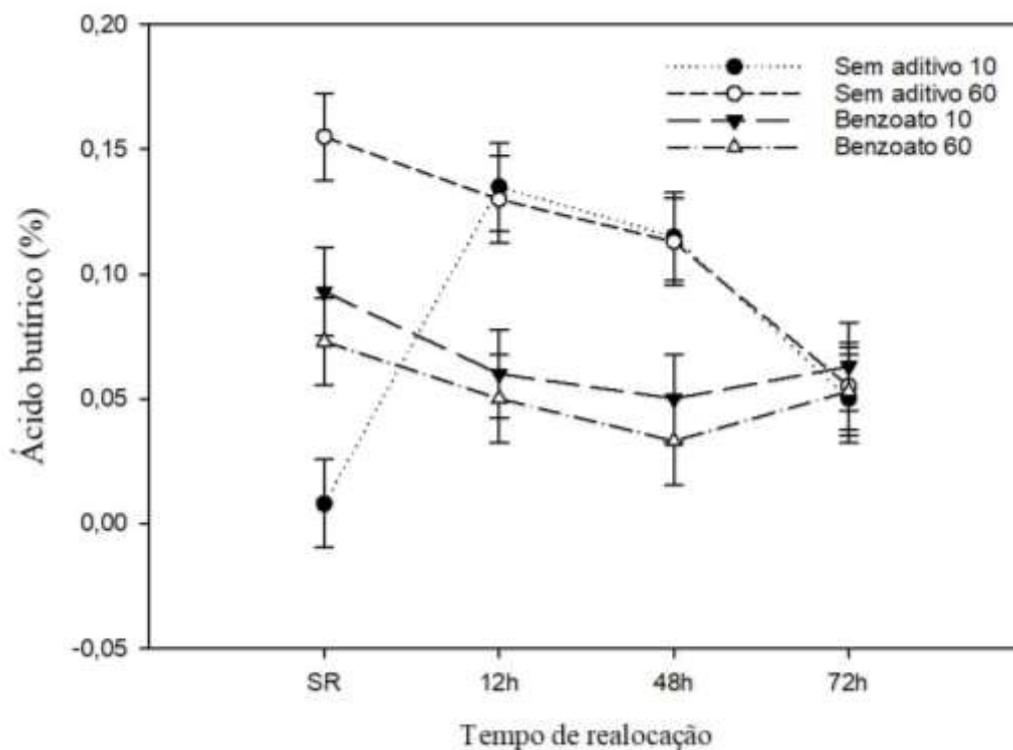


**Figura 02:** Interação do uso de aditivo (0,2% MN), realocação e tempo de armazenamento ( $A \times RE \times TA$ ) na temperatura máxima de silagens de cana-de-açúcar.



Silagens de cana-de-açúcar apresentaram valores de ácido butírico abaixo de 1% da matéria seca. Silagens sem aditivo, não realocadas e armazenadas por 60 dias apresentaram maiores valores de ácido butírico ( $p < 0,05$ ) (Figura 03). Silagens sem aditivo, sem realocação e armazenadas por 10 dias, apresentaram valores reduzidos de ácido butírico, aumentando quando realocadas por 12h e 48h, e reduzindo quando realocadas por 72h ( $p < 0,05$ ). Silagens com BS não diferiram entre si quanto ao tempo de realocação e tempo de armazenamento, apresentando valores medianos de ácido butírico ( $p > 0,05$ ). Quando as silagens foram realocadas por 72h os teores de ácido butírico foram iguais, independente do uso de aditivo ou tempo de armazenamento ( $p > 0,05$ ).

**Figura 03:** Interação do uso de aditivo (0,2% MN), tempo de realocação (SR = sem realocação) e tempo de armazenamento (10 ou 60 dias) (A×RE×TA) na estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar.



### 2.3.3. pH e microbiologia durante a exposição aeróbia na estabilidade

Houve efeito da interação de uso de aditivo e realocação ( $A \times RE$ ), e da interação de realocação e estabilidade aeróbia ( $RE \times EA$ ) para a população de mofos nas silagens de cana-de-açúcar armazenadas por 10 dias. Houve efeito da interação entre uso de aditivo, tempo de realocação durante a estabilidade aeróbia ( $A \times RE \times EA$ ) nos valores de pH população de leveduras das silagens armazenadas por 10 dias e população de leveduras em silagens armazenadas por 60 dias.

**Tabela 09:** Efeito do uso de benzoato de sódio (0,2 %MN) realocação, estabilidade aeróbia e suas interações sobre as variáveis de pH e microbiologia de silagens de cana-de-açúcar armazenadas por 10 ou 60 dias.

	10 dias de armazenamento			60 dias de armazenamento		
	pH	Mofos log.ufc g <sup>-1</sup>	Leveduras	pH	Mofos log.ufc g <sup>-1</sup>	Leveduras
Aditivo						
Sem aditivo	5,22	5,31	7,74	6,00	5,04	
Benzoato de sódio	4,45	5,35	6,44	5,25	4,56	
EPM	0,07	0,09	0,09	0,10	0,05	
Tempo de realocação						
0	4,54	5,25	6,78	4,81	4,38	
12	4,93	5,33	7,43	5,90	4,94	
48	4,85	5,46	6,38	5,57	4,91	
72	5,04	5,27	7,78	6,21	4,97	
EPM	0,10	0,13	0,12	0,15	0,07	
Estabilidade aeróbia						
0	4,12	4,87	4,92	3,0	4,23	
48	4,39	5,67	6,90	5,32	4,52	
96	4,89	5,49	8,33	6,76	4,90	
168	5,94	5,28	8,22	7,42	5,55	
EPM	0,10	0,13	0,12	0,15	0,07	
p-valor						
Aditivo (A)	<0,01	0,79	<0,01	<0,01	<0,01	
Realocação (RE)	<0,01	0,68	<0,01	<0,01	<0,01	
Estabilidade aeróbia (EA)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	
A×RE	0,06	0,49	<0,01	0,21	<0,01	
A×EA	<0,01	0,06	0,88	<0,01	<0,01	
RE×EA	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	
A×RE×EA	0,01	0,08	<0,01	0,14	<0,01	

EPM: erro padrão da média.

Em silagens armazenadas por 10d após a realocação, as sem aditivo tiveram menores contagens de mofo quando expostas por 0h ( $p<0,05$ ) (tabela 10). Silagens com BS tiveram menores contagens quando expostas por 0 e 168h ( $p<0,05$ ). E quando expostas por 168 horas silagens com benzoato tiveram menores contagens de mofos do que silagens sem aditivo ( $p<0,05$ ). Em silagens armazenadas por 60 dias, silagens sem aditivo apresentaram maiores contagens de mofo quando expostas por 168h e menores em silagens não expostas ao ar ( $p<0,05$ ), o mesmo ocorrendo para silagens com BS ( $p<0,05$ ). Ao expor silagens por 96 e 168h, houve efeito do benzoato na redução de contagem de mofos ( $p<0,05$ )

**Tabela 10:** Desdobramento da interação do efeito de realocação e tempo de exposição durante a estabilidade aeróbia (A×EA) sobre a população (log.ufc g<sup>-1</sup>) de mofos em silagens de cana-de-açúcar.

10d armazenamento				
	0h	48h	96h	168h
Sem aditivo	4,80Ab	5,53Aa	5,35Aa	5,58Aa
Benzoato de sódio	4,96Ab	5,80Aa	5,63Aa	4,98Bb
60d armazenamento				
Sem aditivo	3,00Ad	5,54Ac	7,42Ab	8,04Aa
Benzoato de sódio	3,00Ad	5,09Ac	6,11Bb	6,79Ba

Dose de BS: 0,2% da matéria natural. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de tukey; p-valor <0,05

Silagens realocadas por 12 e 72h e armazenadas por 10 dias apresentaram menor população de mofos ao serem expostas por 96h (p<0,05) (tabela 11). Silagens realocadas por 12h, em 10 dias de armazenamento, apresentaram maiores populações de mofos em 48h de exposição aeróbia (p<0,05), Silagens relocadas por 48 tiveram maiores contagens de mofo a partir de 48h de exposição (p<0,05) e silagens realocadas por 72h apresentaram maiores contagens em 48 e 168h de exposição (p<0,05). Já em silagens armazenadas por 60d de armazenamento e sem exposição ao ar, a contagem foi igual independente de terem sido realocadas ou não (p>0,05). Silagens expostas por 48 e 96h apresentaram maiores contagens de mofo quando realocadas por 12 e 72h (p<0,05). Em 168h de exposição, as silagens sem realocação apresentaram menores contagens de mofos (p<0,05). Silagens realocadas por 12,48 e 72h apresentaram maiores contagens de mofo ao serem expostas por 168h (p<0,05).

**Tabela 11:** Desdobramento da interação do efeito de realocação e tempo de exposição durante a estabilidade aeróbia (RExEA) sobre a população de mofos (log.ufc g<sup>-1</sup>) em silagens de cana-de-açúcar.

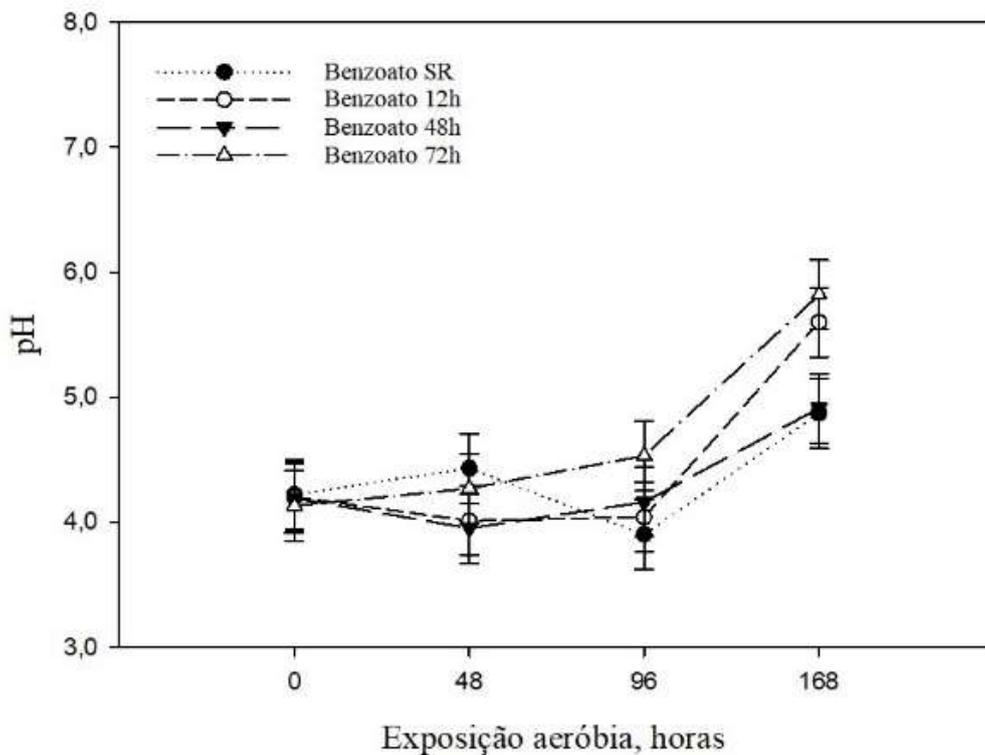
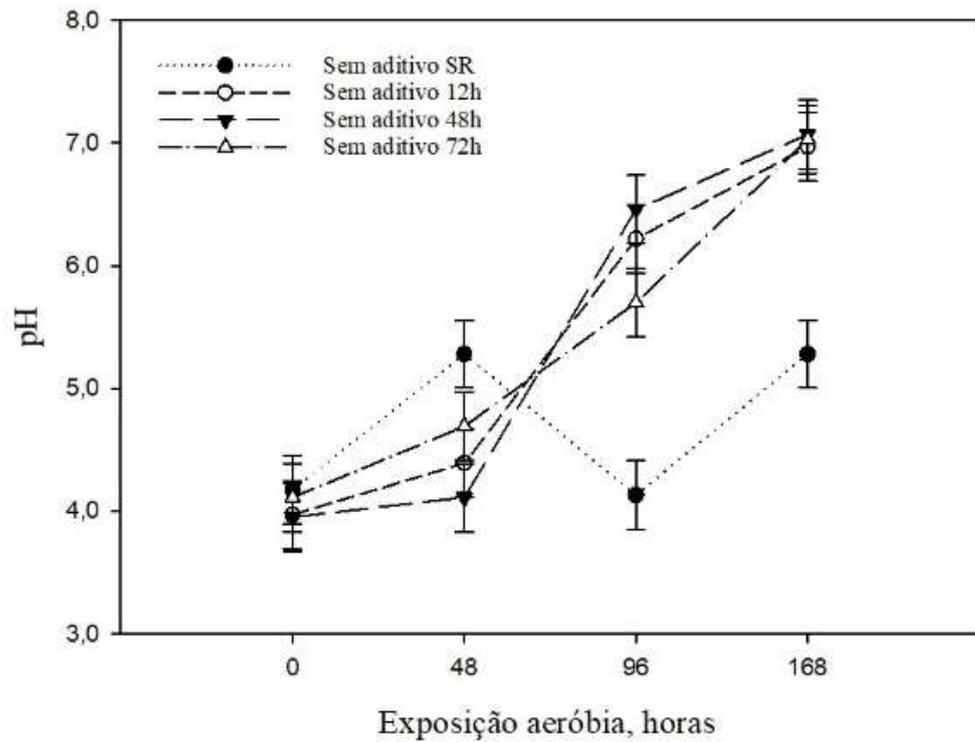
10d armazenamento				
	0h	48h	96h	168h
SR	4,59Ab	5,66Aa	6,03Aa	4,71Ab
12h	5,06Ab	6,03Aa	5,12Bb	5,12Ab
48h	4,93Ab	5,60Aa	5,75Aa	5,54Aa
72h	4,9Ab	5,39Aa	5,05Bb	5,75Aa
60d armazenamento				
SR	3,00Ab	5,17ABa	5,27Ca	5,80Ba
12h	3,00Ad	5,38Ac	7,18Ab	8,02Aa
48h	3,00Ac	4,82Bb	6,86Ba	7,65Aa
72h	3,00Ac	5,9Ab	7,75Aa	8,20Aa

SR: Sem realocação; Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de tukey; p-valor <0,05

Silagens sem aditivo tiveram pH em torno de 4,0 no tempo 0 de exposição aeróbia e foram iguais para todos os tempos de realocação ( $p > 0,05$ ) (Figura 04). Em 48 horas de exposição, silagens sem aditivo e sem realocação alcançaram valores mais elevados de pH ( $p < 0,05$ ). Em 96 horas de exposição, silagens sem aditivos realocadas por 12, 48 e 72h apresentaram valores elevados de pH (acima de 5,0), enquanto silagens sem realocação apresentaram os valores mais reduzidos ( $p < 0,05$ ). Em 168 horas de exposição, silagens sem aditivo e sem realocação, tiveram valores reduzido de pH, enquanto silagens realocadas por 12, 48 e 72h apresentaram os maiores valores ( $p < 0,05$ ).

Não houve efeito do tempo de exposição aeróbia até 96 horas sob o pH das silagens de cana-de-açúcar com BS armazenadas por 10 dias, independentemente do tempo de realocação dessas silagens ( $p < 0,05$ ) (Figura 05). Houve elevação no pH de silagens com BS em exposição aeróbia por 168 horas, e realocadas por 12 e 72h, enquanto silagens não realocadas ou realocadas por 48h apresentaram menores valores de pH ( $p < 0,05$ ).

**Figura 04:** Interação do uso de aditivo (0,2% MN), tempo de realocação (SR = sem realocação) e estabilidade aeróbia (A×RE×EA) no pH de silagens de cana-de-açúcar armazenadas por 10 dias. (coloque uma legenda como essa: a). silagens sem aditivo; b). silagens com aditivo) USE O MSM PARA AS FIGURAS POSTERIORES..

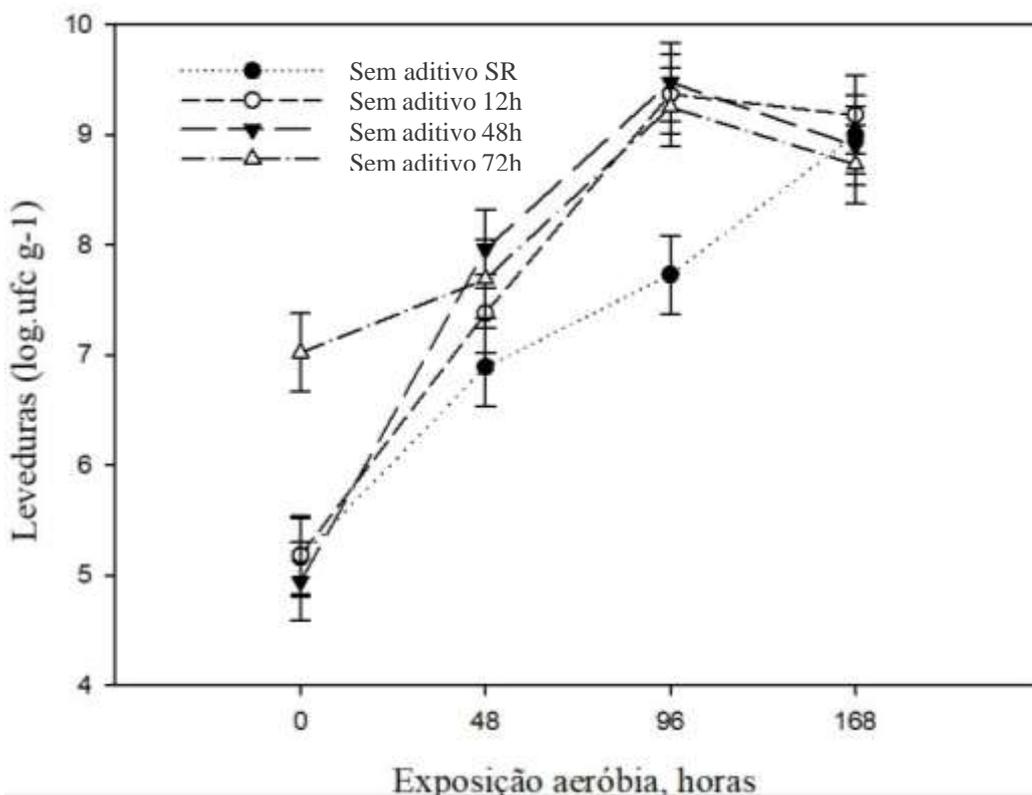


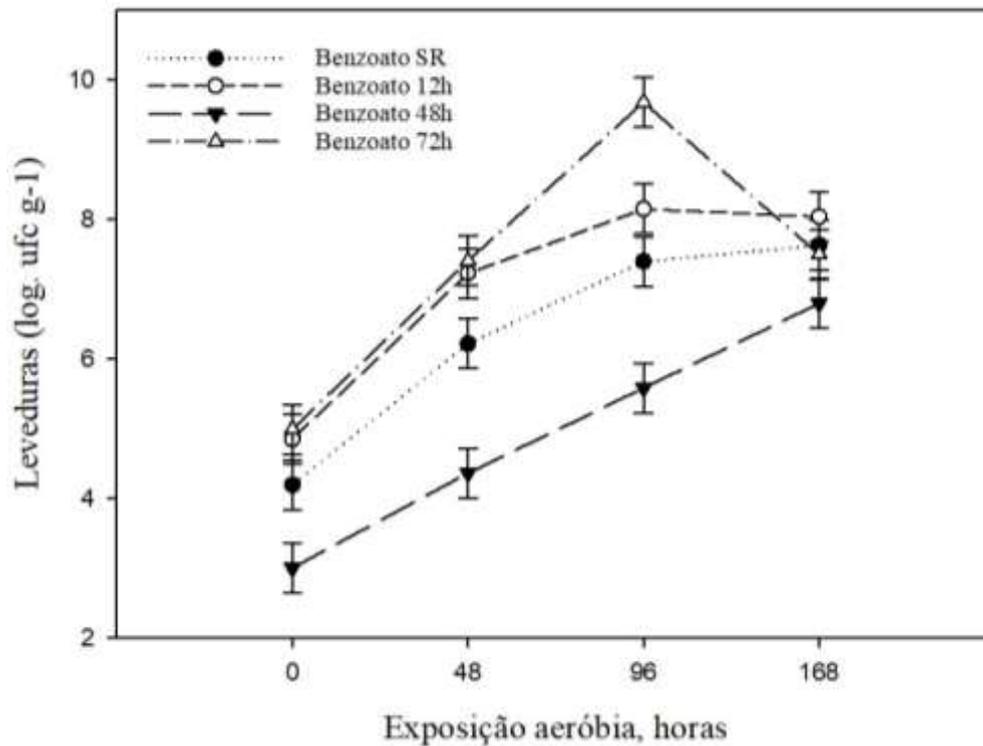
Silagens sem aditivo e expostas por 72 horas, armazenadas por 10 dias, apresentaram maior contagem de leveduras em 0h de exposição aeróbia ( $p < 0,05$ ) (Figura 06). Enquanto silagens sem realocação ou realocadas por 12 e 48h, foram iguais significativamente ( $p > 0,05$ ). Silagens sem aditivo apresentaram reduzida contagem de leveduras se comparada às demais silagens quando expostas por 48 e 96 horas ( $p < 0,05$ ).

Todas as silagens apresentaram contagem de leveduras em torno de 9 log. ufc g<sup>-1</sup> quando armazenadas por 10 dias e expostas por 168 horas, independentemente do tempo de realocação (p>0,05).

Silagens com BS, realocadas por 48h, armazenadas por 10 dias, apresentaram reduzida contagem de leveduras para todos os tempos de exposição aeróbia (p<0,05) (Figura 07). As silagens com BS sem realocação, ou realocadas por 12 e 72 apresentaram valores semelhantes, exceto quando expostas por 96h, onde silagens realocadas por 72 apresentou maior contagem de leveduras(p>0,05).

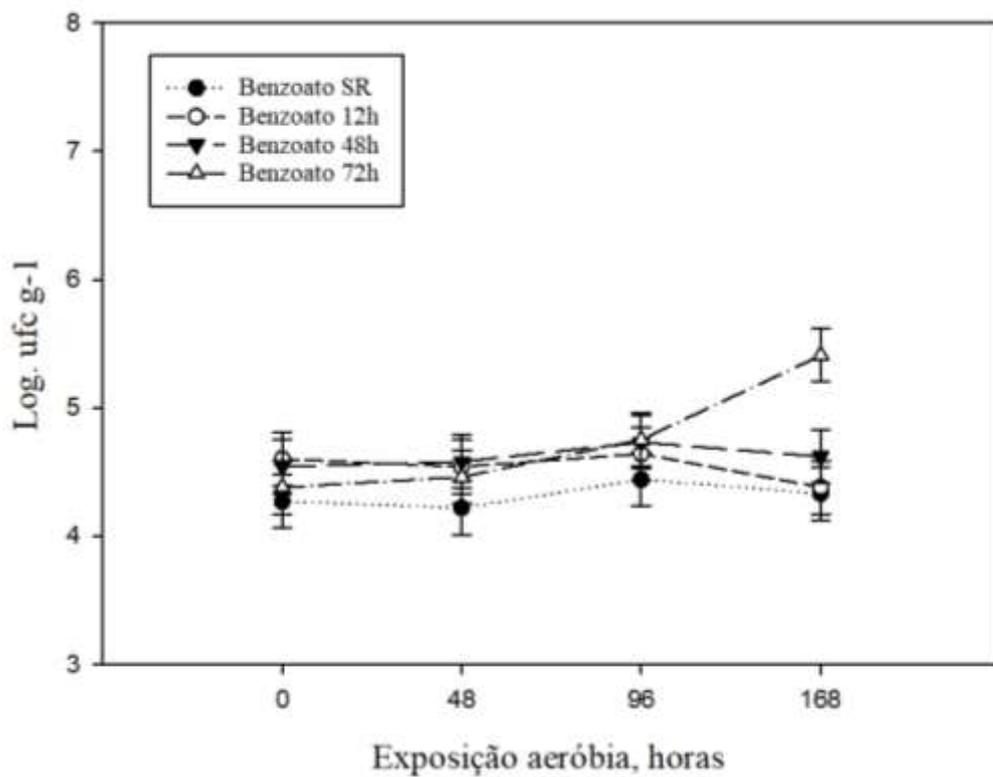
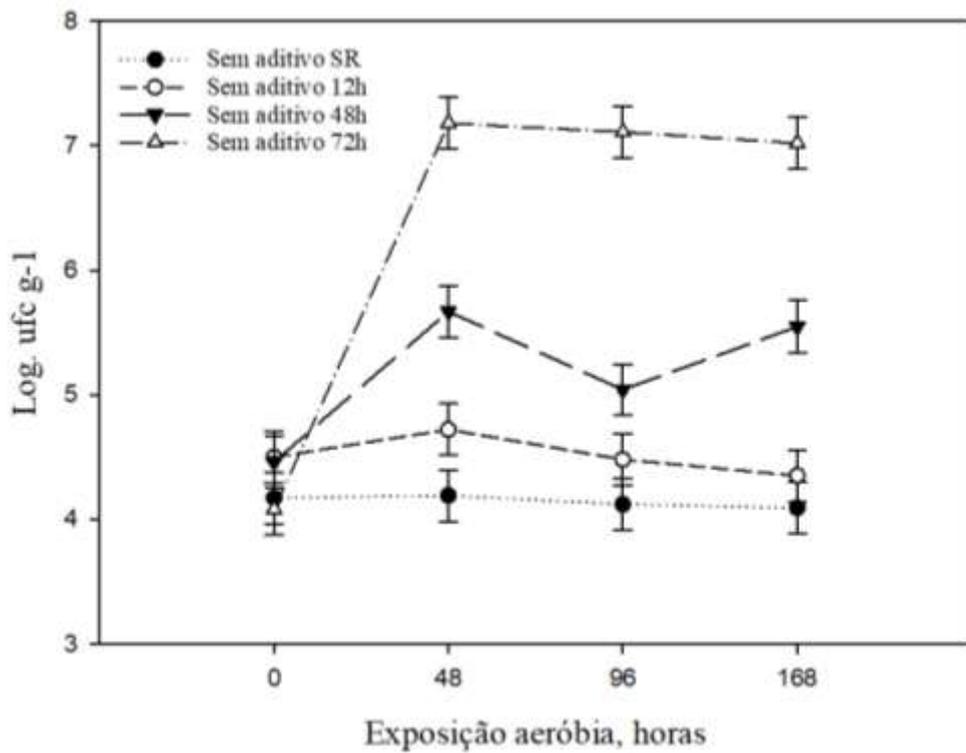
**Figura 05:** Interação do uso de aditivo (0,2% MN), tempo de realocação (SR = sem realocação) e estabilidade aeróbia (A×RE×EA) na contagem de leveduras de silagens de cana-de-açúcar armazenadas por 10 dias





Silagens sem aditivo em 0h de exposição aeróbia não diferiram entre silagens sem realocação, ou realocadas em 12, 48, e 72h ( $p>0,05$ ) (figura 6). Por outro lado, não diferiram das silagens com BS ( $p>0,05$ ). Em 48 horas de exposição aeróbia, silagens sem aditivo e expostas por 72 horas alcançaram contagem acima de  $7 \log. ufc g^{-1}$ , silagens expostas por 48h alcançaram contagem acima de  $5 \log. ufc g^{-1}$  e silagens expostas por 12 horas alcançaram contagem acima de  $4 \log. ufc g^{-1}$  ( $p>0,05$ ). Essas contagens se mantiveram até 168 horas de exposição aeróbia. Por outro lado, silagens com BS permaneceram com contagem abaixo de  $5,0 \log. ufc g^{-1}$  até 96h de exposição, independentemente do tempo de realocação ( $p<0,05$ ). Apenas silagens com BS e realocadas por 72 horas aumentaram a contagem para acima de  $5,0 \log. ufc g^{-1}$ .

**Figura 06:** Interação do uso de aditivo (0,2% MN), tempo de realocação (SR = sem realocação) e estabilidade aeróbia (A×R×EA) na contagem de leveduras de silagens de cana-de-açúcar armazenadas por 60 dias



## 2.4. DISCUSSÃO

### 2.4.1. Microbiologia e perfil fermentativo das silagens

O uso de benzoato de sódio pode influenciar também na redução da população de bactérias ácido lácticas heterofermentativas (WOOLFORD, 1975). Resultado este que se

confirma com a reduzida concentração de ácido acético quando foi utilizado o aditivo (tabela 05). Aos 60 dias, houve um aumento na população de BAL em silagens tratadas com BS. Isto foi observado, provavelmente, porque aos 60 dias de armazenamento, houve uma redução expressiva na contagem de leveduras das silagens (tabela 05), diminuindo a competitividade desses microrganismos por substrato. Houve um aumento na população de BAL quando houve realocação, independentemente do tempo de armazenamento. Podiam haver diferentes espécies de bactérias, possivelmente bactérias heterofermentativas produtoras de ácido acético, que são as primeiras a se desenvolver (junto com as leveduras) quando as silagens são expostas ao ar (MUCK, 2010). Este fato pode explicar o aumento na concentração de ácido acético quando as silagens foram realocadas por 48 e 72h (tabela 05).

Houve redução na população de leveduras (tabela 06) em silagens de cana-de-açúcar com BS armazenadas por 10 dias. A forma não dissociada desse sal passa através da membrana de leveduras e mofos e libera prótons no citoplasma, acidificando o meio intracelular desses microrganismos, o que causa um efeito inibitório (BUXTON et al., 2003). Zhang et al. (2018), também observaram redução na população de leveduras ao utilizar benzoato de sódio (0,1% MN) em *Leymus chinensis*. Aos 60 dias, a população de leveduras reduziu tanto em silagens sem aditivo quanto em silagens com benzoato de sódio. Isto pode ocorrer, provavelmente, pela produção de outros ácidos, como o ácido acético pelas bactérias heterofermentativas, que também podem inibir o crescimento de leveduras e mofos. No entanto, ao passarem pelo processo de realocação, silagens realocadas em até 48 e 72h e armazenadas por 10 dias apresentaram elevadas contagens de leveduras. Sabe-se que as leveduras são microrganismos aeróbios precursores da deterioração aeróbia, ao expor as silagens ao ar, há um potencial crescimento desses microrganismos (PAHLOW et al., 2003). Dos Anjos et al., 2018 e Michel et al., 2017, ao expor silagens de sorgo por 12 e 24 horas na realocação, não observaram elevação na população de leveduras das silagens, resultado que corrobora com os observados no presente estudo, onde o crescimento desses microrganismos aumentou apenas com 48 e 72 horas de realocação.

O pH das silagens foram alterados pelo efeito de aditivo e de realocação (Tabela 05). A diferença entre os valores de pH foi baixa (0,1), não podendo atribuir essa diferença ao efeito do benzoato de sódio ou ao efeito de dias de armazenamento após a realocação. As concentrações de ácido láctico acompanharam o resultado da população de BAL observadas no presente estudo (tabela 07)

#### 2.4.2. Perdas fermentativas

A aplicação do benzoato de sódio não alterou a produção de efluentes das silagens de cana-de-açúcar. No entanto, o tempo de realocação e o tempo de armazenamento após a realocação foram determinantes na elevação dessas perdas. Silagens realocadas por 12 e 48h foram as que tiveram perdas por efluentes mais elevadas, acima de 25 g.kg<sup>-1</sup>. Silagens realocadas produziram mais efluente, isto porque passaram pelo processo de compactação duas vezes, o que permite a remoção de água presente no interior das células da forragem, produzindo maiores quantidades de efluentes (MICHEL et al., 2017). Além disso, as perdas por efluentes pode ser resultado principalmente da conversão de substrato à água durante a produção de etanol por leveduras (MCDONALD et al., 1991). Ainda, silagens armazenadas por 60 dias após a realocação apresentaram perdas por efluentes em torno de 33 g.kg<sup>-1</sup>. Essas perdas podem ser resultado principalmente da variação na taxa de acumulação de efluentes durante o segundo período de ensilagem. De acordo com McDonald et al. (1991) silagens acumulam em torno de 0,14 g.kg<sup>-1</sup> por dia durante os primeiros 90 dias de ensilagem. Assim, silagens que passaram maior tempo armazenadas após a realocação, acumularam mais efluentes. Essas perdas podem influenciar diretamente na digestibilidade da matéria seca dessas silagens (PAHLOW et al., 2003)

As perdas de matéria seca (PMS) foram maiores em silagens realocadas em 72h quando foi utilizado o benzoato de sódio, e maiores em 48h de realocação quando não foi utilizado aditivo. Silagens não realocadas apresentaram menores perdas. Segundo Siqueira et al. (2007), o principal microrganismo responsável pelas perdas durante a fermentação da cana-de-açúcar são as leveduras, que em anaerobiose consomem carboidratos solúveis e produzem CO<sub>2</sub> e etanol, gerando perdas de MS em até 48% (MCDONALD et al., 1991). Portanto, o aumento das perdas de matéria seca com o tempo de realocação, pode estar relacionada com a elevação da população de leveduras, a qual também aumentou de acordo com o tempo de realocação. Chen e Weinberg (2014) ao realocarem silagens de milho e trigo por até 48h, não observaram diferença entre os tempos de realocação. Recentes estudos também não encontraram efeito do tempo de realocação nas perdas de matéria seca de silagens de sorgo (MICHEL et al., 2017).

O aumento das perdas de MS pode impactar no custo da silagem produzida, tal fato faz com que o custo por unidade de nutriente da silagem de cana-de-açúcar se eleve e, conseqüentemente, dificultem o uso dessa silagem de maneira competitiva no mercado. Não houve efeito do aditivo nas perdas de matéria seca. Isto mostra a perda na efetividade

do BS após o processo de realocação. Embora ele não tenha apresentado efeito após o segundo processo fermentativo, o BS mostra seu efeito na diminuição das perdas de silagens de cana-de-açúcar durante o armazenamento das silagens por 120 dias (tabela 04). Entretanto, com o passar do tempo as leveduras conseguem desenvolver, pois segundo Lambert e Stratford (1999) o efeito do aditivo é temporário, principalmente em silagens de cana-de-açúcar onde elas tem substrato o suficiente para continuar crescendo.

### **2.4.3. Composição química**

O teor de matéria seca de silagens foi maior em silagens realocadas por 48 e 72 horas de realocação. Chen e Weinberg (2014) afirmam que isto ocorre devido ao processo de desidratação dessas silagens quando são expostas ao ar por mais de 48 horas. Michel et al., também não observaram esse efeito de elevação no teor de MS em silagens realocadas até 24 horas. Em 60 dias de armazenamento após a realocação, silagens sem aditivo apresentaram teor de matéria seca menor, devido a uma maior (numericamente) perda de MS em silagens sem aditivo. Silva et al. (2014) afirmaram que o uso de BS de sódio aplicados a taxa de 0,2%MN em silagens de milho foi eficiente em promover uma boa fermentação e assim diminuir as perdas de matéria seca de silagens. De acordo com Evangelista et al. (2009), o teor de MS de silagens de milho passou de 36% a 22% após 45 dias de fermentação. Esse efeito foi melhor notado quando as silagens foram armazenadas por 60 dias após a realocação, o que permitiu um tempo de fermentação adequada para observar o efeito do aditivo. Silagens sem realocação e armazenadas por 60 dias tiveram menores teores de matéria seca, isto porque essas silagens sem realocação ficaram armazenadas no total de 120 dias + 60 dias de armazenamento, totalizando 180 dias de armazenamento, em comparação com 130 de armazenamento (120 dias +10 dias de armazenamento). Silagens armazenadas por mais tempo, podem resultar no consumo de substratos residuais, portanto, modificando proporcionalmente o teor de MS (EVANGELISTA et al., 2009).

O teor proteína bruta foi modificado pelas interações de A×R, RE×TA e A×TA (tabelas 06,07 e 08), porém sabe-se que os teores de proteína são baixos quando se trata de silagens de cana-de-açúcar, devido ao teor deste nutriente na forragem fresca, mudando proporcionalmente com o teor de matéria seca das silagens. A diferença nos teores de proteína não segue padrão biológico, sendo essas alterações relacionadas com o baixo erro padrão da média para essa variável (tabela 05), as quais foram muito sensíveis a qualquer variação numérica.

O teor de FDN foi maior, aproximadamente 2 unidades percentuais, em silagens com e sem aditivo (tabela 05). Possivelmente essa diferença reflete a utilização demasiada de carboidratos fermentáveis, nas quais, silagens com BS, inibem o crescimento de leveduras e mofos e podem manter maior quantidade da concentração de carboidratos solúveis residuais nas silagens (SILVA et al., 2014). Silagens com teor de FDN elevado reflete no aumento desse componente proporcionalmente no teor de matéria seca. Silagens armazenadas por 60 dias após a realocação tiveram FDN maior, com diferença de 1,3 unidades percentuais. Diferença esta que pode ser explicada pelo teor de matéria seca (tabela 05), onde silagens armazenadas por 60 dias apresentaram menor teor, e, portanto, maior concentração de FDN proporcionalmente.

#### **2.4.4. Estabilidade Aeróbia**

Foi possível observar o efeito do BS no aumento da estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar quando foram abertas após o primeiro período de armazenamento (120 dias), as quais silagens com BS tiveram o dobro de horas (142h) em estabilidade do que silagens sem aditivo (74h), mesmo que numericamente (tabela 04). O aumento da estabilidade com o uso do benzoato em silagens é afirmado por Silva et al. (2014), que observaram que o benzoato de sódio é efetivo para o aumento da estabilidade aeróbia e redução de deterioração aeróbia de silagens de milho.

No entanto, no presente estudo silagens com ou sem BS foram mais estáveis quando não realocadas e armazenadas por 60 dias (Figura 01). Silagens sem realocação alcançaram menor temperatura máxima, em torno de 27°C, e demoraram mais tempo para atingir essa temperatura, apresentando os menores índices de deterioração. Silagens com 60 dias de armazenamento, tiveram menores populações de leveduras ( $3,4 \log_{10} \text{ufc g}^{-1}$ ) e maior concentração de ácido acético. Maiores concentrações desse ácido elevam a estabilidade em condições aeróbias, onde esse ácido age no metabolismo de microrganismos deterioradores, especialmente leveduras, que são percussoras da deterioração (DANNER et al., 2003; MUCK, 2010). Silagens sem aditivo foram mais estáveis do que silagens com BS quando não realocadas e armazenadas por 10d. Possivelmente, pela boa fermentação e manutenção de substratos de silagens com uso de benzoato de sódio, preservando o valor nutritivo da silagem, e permitindo mais rápida deterioração da massa quando exposta ao ar. A deterioração aeróbia ocorre devido aos produtos finais do processo fermentativo, como ácido láctico, juntamente com os carboidratos solúveis residuais, que permite o crescimento microbiano de leveduras

quando as silagens são expostas ao ar (PAHLOW et al, 2003). Ao realocar as silagens por 12, 48 e 72h, todas diminuíram a estabilidade aeróbia das silagens e apresentaram maiores índices de deterioração, principalmente em silagens realocadas por 12 e 48h. Isto porque ao realocar as silagens, inevitavelmente às expõe ao ar, permitindo o crescimento de leveduras (CHEN E WEINBERG, 2014), fato este que é comprovado com a população destes microrganismos quando as silagens foram realocadas (tabela 07). Silagens sem aditivo e realocadas por 10 dias, apresentaram maior contagem de leveduras e, portanto, foram mais instáveis.

#### **2.4.5. pH, leveduras e mofos de silagens expostas ao ar durante o ensaio de estabilidade aeróbia**

O pH de silagens de cana-de-açúcar com ou sem BS, armazenados por 10d, no momento da segunda abertura dos silos experimentais (0h de exposição aeróbia) apresentou valor em torno de 4,2, dentro do limite considerado ideal para um adequado perfil de fermentação (Figura 04). Evangelista et al. (2009) observaram que silagens armazenadas por mais de 70 dias, aumentaram a capacidade tampão das silagens, o que justifica a lenta mudança nos valores de pH de silagens sem realocação, que ficaram armazenadas por 130 e 180 dias. O pH de silagens sem aditivo, expostas por 48h foi acima de 4,0, expostas por 96 foi acima de 5,0 e silagens expostas por 168 alcançaram pH próximo a 7,0. Este comportamento é explicado pelo padrão de crescimento de leveduras em silagens sem aditivos, armazenadas por 10 dias (figura 05), nos quais silagens realocadas apresentaram  $5,0 \log. ufc g^{-1}$  de leveduras (exceto silagens expostas por 72h, que já iniciaram com contagem acima de  $7,0 \log. ufc g^{-1}$ ) aos 0h de exposição aeróbia, e apresentaram crescimento expressivo, alcançando valores acima de  $9,0 \log. ufc g^{-1}$  em 96h de exposição aeróbia. Silagens não realocadas tiveram um crescimento mais lento, alcançando  $7,0 \log. ufc g^{-1}$  com 96 horas de exposição e  $9,0 \log. ufc g^{-1}$  apenas após 168h de exposição. Quando há a exposição ao ar de silagens, favorece o crescimento de leveduras e mofos que metabolizam açúcares solúveis residuais e ácido láctico produzido durante a fermentação. Isso eleva a temperatura e o pH das silagens causando perdas de frações altamente digestíveis da planta e aumenta fração de componentes da fibra (TABACCO et al., 2011). Em geral, o crescimento de mofos é fortemente influenciado pelo pH da silagem, sendo seu crescimento ótimo em pH acima de 5 (PALLOW et al., 2003), o que explica o crescimento desses microrganismos após 48h de exposição aeróbia

em silagens sem aditivo. Em silagens com BS, esse crescimento é expressivo após 96h de exposição.

Em silagens de cana-de-açúcar armazenadas por 60 dias após a realocação e sem aditivo, tiveram contagem de leveduras abaixo de  $5 \log. ufc^{-1}$ . O mesmo ocorreu em silagens com benzoato de sódio, o que demonstra que silagens armazenadas por grandes períodos estabilizam a contagem de leveduras (Evangelista et al., 2009). Porém, silagens sem aditivo, realocadas por 72h apresentaram alta contagem de levedura logo após 48 horas de exposição, demonstrando o rápido crescimento desses microrganismos quando as silagens foram expostas por mais tempo. Silagens sem realocação ou realocadas até 12h mantiveram as contagens de leveduras próximo de  $4,0 \log. ufc g^{-1}$ , demonstrando a efetividade do ácido acético.

## **2.5. CONCLUSÃO**

A aplicação de BS (0,2% MN) é efetiva na inibição de leveduras e na manutenção do pH de silagens de cana-de-açúcar realocadas. Silagens com BS foram estáveis por no mínimo 60 horas, independente do período de realocação e tempo de armazenamento. Porém, silagens de cana-de-açúcar foram mais estáveis sem realocação. Silagens que passam pelo processo de realocação sofrem ressecamento aumentando teor de MS. Tendo em vista a redução das perdas fermentativas de silagens realocadas, sugere-se que as mesmas não ultrapassem um período de 12 horas até serem reensiladas.

## REFERÊNCIAS

- ALLI, I. et al. The effects of ammonia on the fermentation of chopped sugarcane. **Animal Feed Science and Technology**, v.9, p.291-299, 1983.
- AMARAL, R.C. do et al. Cana-de-açúcar ensilada com ou sem aditivos químicos: fermentação e composição química. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1413-1421, 2009a
- AMARAL, R.C. et al. Cana-de-açúcar in natura ou ensilada com e sem aditivos químicos: estabilidade aeróbia dos volumosos e das rações1. **R. Bras. Zootec**, v. 38, n. 10, p. 1857-1864, 2009b
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis, 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990. 770p
- ÁVILA, C. L. S.; BRAVO MARTINS, C. E. C.; SCHWAN, R. F. Identification and characterization of yeasts in sugarcane silages. **Journal of applied microbiology**, v. 109, n. 5, p. 1677-1686, 2010.
- ÁVILA, C.L.S. et al. Effects of na indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugar cane silage. **Grass and Forage Science**, v. 64, n.1, p.384-394, 2009.
- BALIEIRO NETO, G., et al. Óxido de cálcio como aditivo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1231-1239, 2007.
- BALIEIRO NETO, G., et al. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1, 2009
- BALIEIRO NETO, G., et al. Perdas fermentativas, composição química, estabilidade aeróbia e digestibilidade aparente de silagem de cana-de-açúcar com aditivos químico e microbiano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 6, p. 621-630, 2010.
- BERNARDES, T. F. et al. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 5, p. 4001-4019, 2018.
- BERNARDES, T. F.; DO RÊGO, A. C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1852-1861, 2014.
- BERNARDES, T.F. et al. Avaliação da queima e da adição de milho desintegrado com palha e sabugo na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.269-275, 2007
- BOLSEN, K.K.; LIN, C. BRENT, B.E. et al. Effect of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.3066-3083, 1992.
- CALLIERI, D.A.; MORENO, E.I.; MOLINA, O.E. Ensilado biológico de despunte de caña de azucar. **Revista Industria y Agrícola de Tucumán**, v.56, p.61-71, 1989
- CARVALHO, B. F. et al. Effects of propionic acid and *Lactobacillus buchneri* (UFLA SIL 72) addition on fermentative and microbiological characteristics of sugar cane silage treated with and without calcium oxide. **Grass and forage science**, v. 67, n. 4, p. 462-471, 2012.

- CARVALHO, B. F. et al. Methylotrophic yeast, lactic acid bacteria and glycerine as additives for sugarcane silage. **Grass and Forage Science**, v. 72, n. 2, p. 355-368, 2017
- CARVALHO, B. F. et al. Microbiological and chemical profile of sugar cane silage fermentation inoculated with wild strains of lactic acid bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v. 195, p. 1-13, 2014.
- CAVALI, J. et al. Bromatological and microbiological characteristics of sugarcane silages treated with calcium oxide. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1398-1408, 2010.
- CHALUPA, W.V. et al. Influence of ethanol on rumen fermentation and nitrogen metabolism, **J. animal Science**. 23, 802-7. 1964
- CHEN, Y.; WEINBERG, Z. G. The effect of relocation of whole-crop wheat and corn silages on their quality. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 1, p. 406-410, 2014
- CONAGHAN, P.; O'KIELY, P.; O'MARA, F. P. Conservation characteristics of wilted perennial ryegrass silage made using biological or chemical additives. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 2, p. 628-643, 2010.
- DA SILVA, Naiara C. et al. Evaluation of the effects of two *Lactobacillus buchneri* strains and sodium benzoate on the characteristics of corn silage in a hot-climate environment. **Grassland science**, v. 60, n. 3, p. 169-177, 2014.
- DANIEL, J. L. P. et al. A data-analysis of lime addition on the nutritive value of sugarcane in Brazil. **Animal feed science and technology**, v. 184, n. 1-4, p. 17-23, 2013b
- DANIEL, J. L. P. et al. The effects of *Lactobacillus kefir* and *L. brevis* on the fermentation and aerobic stability of sugarcane silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 205, p. 69-74, 2015..
- DE ALMEIDA FILHO, Sebastião Luiz et al. Características agrônômicas de cultivares de milho (*Zea mays* L.) e qualidade dos componentes e silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 1, p. 7-13, 1999.
- DERIAZ, R. E. Routine analysis of carbohydrates and lignin in herbage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 12, n. 2, p. 152-160, 1961.
- DO ROSARIO RODRIGUES, Patricia et al. Efeito de aditivos sobre as características físicas e químicas de silagens de cana de açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 4, p. 2753-2762.
- DOS ANJOS, G. V. S. et al. Effect of re-ensiling on the quality of sorghum silage. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 7, p. 6047-6054, 2018.
- EVANGELISTA, A. R. et al. 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**, Viçosa - MG, v. 38, n. 1, p. 20-26, Jan., 2009
- FREITAS, A.W.P et al. Avaliação da divergência nutricional de genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.35, n.1, p.229-236,2006.
- FYLIA, I. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3575-3581, 2003

- HONIG, H.; PAHLOW, G.; THAYSEN, J. Aerobic instability: effects and possibilities for its prevention. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 12., 1999, Uppsala. **Proceedings...** Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 1999. p.288-289
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2016. Acesso em: 10 de novembro de 2017.
- KLEINSCHMIT, D. H.; KUNG JR, L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. **Journal of dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 4005-4013, 2006.
- KLEINSCHMIT, D. H.; SCHMIDT, R. J.; KUNG JR, L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 6, p. 2130-2139, 2005.
- KNICKÝ, Martin; SPÖRNDLY, Rolf. Sodium benzoate, potassium sorbate and sodium nitrite as silage additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 15, p. 2659-2667, 2009.
- KUNG, L. E STANLEY, R. W. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole plant sugarcane preserved as silage. **Journal of animal science**. 54(4):689-696. 1982.
- LAMBERT, R. J.; STRATFORD, M. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. **Journal of applied microbiology**, v. 86, n. 1, p. 157-164, 1999.
- LIMA, M. L. M. E MATTOS, W. R. S. Cana-de-açúcar na alimentação de bovinos leiteiros. **Simpósio sobre nutrição de bovinos**, v. 5, p. 77-105, 1993.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.
- MELLO, S.Q.S. et al. Parâmetros do valor nutritivo de nove variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.7, n.4, p. 373-380, 2006.
- MERTENS, D. R. Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations. In: Georgia nutrition conference for the feed industry, 1982, Athens. **Proceedings...** Athens: University Georgia, 1982. p.116-126.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR. (Ed.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison, WI: ASA. p.450-493. 1994
- MICHEL, P. H. F. et al. Re-ensiling and inoculant application with *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on sorghum silages. **Grass and forage science**, v. 72, n. 3, p. 432-440, 2017.
- MIRANDA, L.F. et al. Comportamento ingestivo de novilhas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.614-620, 1999.
- MORAN, J.P.; WEINBERG, G.; ASHBELL, Y.H. et al. A comparison of two methods for the evaluation of the aerobic stability of whole crop wheat silage. In: INTERNATIONAL SILAGE CONFERENCE, 11., 1996, Aberystwyth. **Proceedings...** Aberystwyth: University of Wales Aberystwyth, 1996. p.162-163.
- MOTA, Diego Azevedo et al. Hidrólise da cana-de-açúcar com cal virgem ou cal hidratada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1186-1190, 2010.

- MUCK, Richard E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 183-191, 2010.
- NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P. Silagens de cana-de-açúcar para bovinos leiteiros: aspectos agronômicos e nutricionais. **Visão técnica e econômica da produção leiteira**, p. 193-218, 2005.
- NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, Patrick; PEDROSO, A. de F. Silagem de cana-de-açúcar. In: Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGEM, 20., 2003, Piracicaba. Produção animal em pastagens: situação atual e perspectivas: **anais...2003**.
- NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de cana-de-açúcar. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 2., 2004, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2004. p.1-33
- PAHLOW, Günter et al. Microbiology of ensiling. **Agronomy**, v. 42, p. 31-94, 2003.
- PEDROSO, A.F. et al. Fermentation parameters, quality and losses in sugarcane silages treated with chemical additives and a bacterial inoculant. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 11, p. 2318-2322, 2011.
- PEDROSO, A.F. et al. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 6, p. 589-594, 2008.
- PEDROSO, A.F. et al. Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 6, p. 589-594, 2008.
- PEDROSO, A.F.; NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F. et al. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. **Scientia Agricola**, v.62, p.427-432, 2005.
- QUEIROZ, O. C. M. et al. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 9, p. 5836-5843, 2013.
- QUEIROZ, O. C. M. et al. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 9, p. 5836-5843, 2013.
- REIS, Ricardo Andrade; BERNARDES, Thiago Fernandes; SIQUEIRA, Gustavo Rezende. Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros. **Jaboticabal: Gráfica Multipress**, 2013.
- RESENDE, F.D. et al. Terminação de bovinos de corte com ênfase na utilização de alimentos conservados. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A. (Eds). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2005. p.83-104.
- ROCHA, Wéder Jânsen Barbosa et al. Fermentative characteristics of sugar cane silages with additives. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 4, p. 801-814, 2014.
- SANTOS, M.C. et al. Effects of a spoilage yeast from silage on in vitro ruminal fermentation. **Journal of Dairy Science**. 98, 2603–2610. 2014
- SCHMIDT, P. et al. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como usar? In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.; BANKUTI, F.I (eds.), Simpósio: produção e utilização de forragens conservadas, 5.ed., Maringá, 2014. **Anais...** Maringá: UEM, 2014. p.243-264.

- SCHMIDT, P.; SOUZA, C.M.; BACH, B.C. Uso estratégico de aditivos em silagens: Quando e como
- SIQUEIRA, G.R. et al. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 103-112, 2010.
- SIQUEIRA, G.R. et al. Uso da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, 2012.
- SIQUEIRA, G.R. et al. Uso estratégico de forragens conservadas em sistemas de produção de carne. In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W. (Eds) **Produção e utilização de forragens conservadas**. Maringá: Masson, 2008. p.41-89.
- SIQUEIRA, Gustavo Rezende et al. Queima e aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 103-112, 2010.
- SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, v.70, p.3562-3577, 1992.
- STANOJEVIC, D. et al. Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action in vitro. **Bulg J Agric Sci J**, v. 15, n. 4, p. 307-11, 2009.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. 2008. SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Institute Inc, Cary, NC
- TABACCO, E.; PIANO, S.; CAVALLARIN, L. et al. Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. **Journal of Applied Microbiology**, v.107, p.1632-1641, 2009.
- TABACCO, Ernesto et al. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 11, p. 5589-5598, 2011.
- usar? In: JOBIM, C.C.; CECATO, U.; CANTO, M.W.; BANKUTI, F.I (eds.), SIMPÓSIO: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 5.ed., Maringá, 2014. **Anais...** Maringá: UEM, 2014. p.243-264.
- VAN SOEST, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Ed. 2, Ithaca: Cornell. 476p.
- WILKINSON, J. M.; DAVIES, D. R. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. **Grass and Forage Science**, v. 68, n. 1, p. 1-19, 2013.
- WOOLFORD, M.K. Microbial screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.26, p.229-237, 1975.