

PERFIL FERMENTATIVO E MICROBIOLÓGICO DO CAPIM-MARANDU (BRACHIARIA BRIZANTHA CV. MARANDU) ENSILADO COM POLPA CÍTRICA PELETIZADA¹

AUTORES

THIAGO FERNANDES BERNARDES², RICARDO ANDRADE REIS³, RUBEN PABLO SCHOCKEN-ITURRINO⁴ LUCIANO DE ALMEIDA CORRÊA⁵, ANDRÉIA LUCIANE MOREIRA⁶, ROSELENE NUNES DA SILVEIRA⁷

¹ Parte da Dissertação de Mestrado do Primeiro Autor.

² Doutorando em Produção Animal da FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal. E-mail: tfbernardes@yahoo.com

³ Professor do Departamento de Zootecnia FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal. Pesquisador do CNPq. E-mail: rareis@fcav.unesp.br

⁴ Professor do Departamento de Patologia - Laboratório de Microbiologia FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal.

⁵ Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - SP.

⁶ Doutoranda em Produção Animal da FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal. Bolsista da FAPESP.

⁷ Doutoranda em Produção Animal da FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal. Bolsista do CNPq.

RESUMO

Esse estudo objetivou conhecer o perfil fermentativo e microbiológico das silagens de capim-Marandu na presença de polpa cítrica peletizada (PCP). O experimento foi conduzido nas dependências da FCAV/UNESP, utilizando-se o capim-Marandu colhido com 58 dias de crescimento. Foram utilizados como silos experimentais canos PVC com 50 cm altura e 10 cm de diâmetro, atingindo densidade de 900 kg/m³. Os tratamentos constituíram-se de três quantidades de PCP (0, 5, 10% em relação a matéria natural) e sete tempos de abertura após a ensilagem (1, 4, 7, 14, 21, 28 e 56 dias). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, com três repetições. A presença de PCP aumentou os teores de CHOs, e apesar da baixa concentração de carboidratos nos tratamentos estudados proporcionaram silagens de qualidade satisfatória. O pH apresentou queda com o aumento das proporções do aditivo e estabilizou-se rapidamente a partir do quarto dia de ensilagem. Os teores de N-NH₃ foram influenciados pela inclusão da PCP, porém mesmo sem a sua presença, esses teores foram baixos, não prejudicando a qualidade da silagem. Com relação ao perfil microbiológico, os resultados mostraram crescimento da população de enterobactérias somente durante o primeiro dia de fermentação, devido a alta densidade e condições ácidas alcançadas. Houve pequeno desenvolvimento de clostrídeos e dominância das bactérias homofermentativas em relação às heterofermentativas.

PALAVRAS-CHAVE

aditivo, bactéria, fermentação, gramínea tropical, silagem

TITLE

EVALUATION OF FERMENTATION AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE BRACHIARIA BRIZANTHA CV. MARANDU ENSILED WITH CITRUS PULP

ABSTRACT

An experiment was conducted at UNESP-Jaboticabal to evaluate the fermentation and microbiological characteristics of Marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) harvested at 58 of regrowth, ensiled with different citrus pulp content (0.0; 5.0, and 10.0 % of fresh forage). The forage was ensiled in PVC piper with 50 cm of height and 10 cm diameter, obtained 900 kg/m³ of density. Marandu grass was treated with nothing, or citrus pulp (5.0 or 10.0 % of fresh forage), and ensiled in laboratory silos for 1, 4, 7, 14, 21, 28, and 56 days. The data were analyzed according a completely randomized design, in a split plot scheme, considering the silage in the parcels, and fermentation periods in the sub parcels with three replications. Citrus pulp increased the soluble carbohydrates contents, decreased pH values until fourth day of fermentation period, resulting good quality silage. All silage showed lower ammonia nitrogen content. Enterobacteria presented occurrence during the early

fermentation phase, due to oxygen presence, higher silage density and lower pH observed. It was observed lower Clostridium development e dominance of the homofermentative lactic bacteria, in relation to the heterofermentative bacteria.

KEYWORDS

additive, bacteria, fermentation, silage, tropical grass

INTRODUÇÃO

A fermentação consiste na conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos, por meio de microrganismos inerentes ao próprio ambiente, no qual tendo encontrado condições adequadas, prevalecem.

Dos fatores que determinam o padrão de fermentação durante a ensilagem, os intrínsecos à planta forrageira são representados pelo adequado teor de umidade, elevado teor de carboidratos solúveis e o baixo poder tampão. Com relação aos fatores do meio, uma fermentação adequada só é garantida em ambiente de anaerobiose, pela adoção correta das técnicas da ensilagem, tais como o ponto de colheita, tamanho da partícula, rápido carregamento do silo, compactação para efetiva expulsão do oxigênio, até a perfeita vedação do silo a fim de evitar a infiltração de ar e/ou água (COSTA et al., 2001).

Capins tropicais caracterizam-se por apresentarem alta capacidade tamponante. Assim, mais carboidratos solúveis são requeridos para que a massa possa atingir maiores teores de ácido láctico, determinando valores de pH inibitórios à ação de microrganismos indesejáveis.

Segundo WOOLFORD (1984) forragens com umidade superior a 70% e baixo conteúdo de carboidratos solúveis, como é o caso das gramíneas tropicais, podem conduzir a condições desfavoráveis para a produção de ácidos que são responsáveis pela redução do pH, facilitando a produção de ácido butírico e amônia, pela fermentação de clostrídeos.

Este estudo objetivou conhecer o perfil fermentativo e microbiológico das silagens de capim-Marandu na presença de polpa cítrica peletizada.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas dependências da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP. A colheita da forragem foi realizada no dia 25 de Março de 2002 quando o capim apresentava 58 dias de crescimento vegetativo utilizando-se colhedora marca JF modelo Z10, equipamento normalmente empregado para colheita de culturas como milho e sorgo, devido a este fato, foram obtidos tamanhos de partícula (2-5 cm) inferiores aos das colhedoras utilizadas para o corte de capins tropicais.

Após o corte, a forragem foi submetida aos seguintes tratamentos: ensilagem do capim-Marandu diretamente após o corte; ensilagem do capim-Marandu + 5% de polpa cítrica peletizada (PCP) e ensilagem do capim-Marandu + 10% de PCP com base na matéria natural.

Para cada tratamento foi avaliado o perfil da fermentação e microbiológico das silagens nos seguintes tempos após a ensilagem: 1, 4, 7, 14, 21, 28 e 56 dias.

Para confecção dos 63 silos experimentais, foram utilizados canos de PVC com 50 cm de altura e 10 cm de diâmetro, com tampas de PVC apropriadas para garantir a vedação adequada.

A forragem foi compactada por meio de bastões de ferro, com acomodação de camadas de aproximadamente 10 cm de espessura atingindo densidade de 900 kg/m³.

Decorridos cada período de fermentação, os silos foram abertos e todo o seu conteúdo foi despejado sobre uma bacia plástica. Posteriormente, o material foi homogeneizado, sendo colhidas amostras para a determinação das análises químicas e microbiológicas. O teor de carboidratos solúveis (CHOs) foi determinado conforme JOHNSON et al. (1966). Uma porção da amostra foi levada para a prensa hidráulica para retirada do suco, o qual foi utilizada para determinar os valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e pH conforme SILVA (1998).

A contagem total de lactobacilos foi realizada segundo a metodologia de JONSSON (1991). O meio

de cultura utilizado foi o Lactobacilli MRS Broth (Difco), sendo que as placas de Petri foram incubadas em anaerobiose, em jarra com sistema Gas-pak. Para a diferenciação das bactérias ácido-láticas em homofermentativas e heterofermentativas foi utilizada a metodologia proposta por McDONALD et al. (1987). A presença de clostrídeos foi determinada segundo TOSI et al. (1982). O meio de cultura utilizado foi o Reinforced Clostridial Agar (Oxoid). Para determinar o desenvolvimento de enterobactérias nas silagens foi utilizado como meio de cultura Violet Red Bile Agar (Oxoid), segundo JONSSON (1991).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições utilizando o esquema de parcelas subdivididas, com os tratamentos nas parcelas e os tempos na subparcela.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de CHOs das silagens foi influenciado pela adição de PCP ($P < 0,05$) havendo pequeno aumento conforme foram adicionadas quantidades crescentes de PCP (Tabela 1). Verifica-se também, que houve declínio na concentração de CHOs à medida que os tempos de ensilagem avançaram ($P < 0,05$). Observando-se redução significativa do primeiro para o décimo quarto dia na silagem controle, do primeiro para o sétimo dia para silagens com 5% de PCP e do primeiro para o quarto dia para as silagens com 10% de PCP.

A inclusão de PCP reduziu os valores de pH ($P < 0,05$) das silagens. Observa-se diminuição do primeiro para o quarto dia de ensilagem, para os três tratamentos estudados ($P < 0,05$). Dessa forma, cada tratamento apresentou um valor médio de estabilização de 4,5 para silagens controle, de 4,2 para as silagens com 5% de PCP e de 4,0 para silagens com 10% de PCP.

Houve efeito significativo ($P < 0,05$) na produção de N-NH_3 para os diferentes tratamentos e entre tempos de ensilagem, sendo que a adição de PCP reduziu os teores de N-NH_3 conforme o acréscimo da quantidade do aditivo. Entre os tempos de ensilagem observou-se que para as três silagens em estudo houve aumento dos teores de N-NH_3 do primeiro até o quinquagésimo sexto dia ($P < 0,05$). Possivelmente, a produção de amônia pode estar relacionada ao consumo de aminoácidos pelas bactérias ácido-láticas, devido ao baixo teor de CHOs do alimento.

No primeiro dia de fermentação houve aumento na população de enterobactérias para todos os tratamentos, sendo que após o quarto dia de ensilagem não foi detectada a presença desse grupo de microrganismos (Tabela 2). Desta maneira, pode-se inferir que um ou mais fatores podem estar agindo sobre o seu crescimento. Possivelmente, o pH e a baixa tensão de oxigênio presente no alimento esteja inibindo sua sobrevivência.

A presença de PCP elevou a população de clostrídeos no momento da ensilagem, possivelmente pela contaminação do aditivo com esporos da bactéria, porém logo promoveu a queda da população durante o processo fermentativo. Esse resultado é o efeito benéfico causado pela elevação da matéria seca e diminuição da atividade de água das silagens pela presença da PCP. Foi constatada uma instabilidade da população a partir do décimo quarto dia para as silagens com 0% de PCP e vigésimo oitavo dia para as silagens com 5 e 10% de PCP. Tal fato pode ter ocorrido pelo aumento na capacidade tamponante das silagens, devido a produção de ácidos orgânicos.

A adição de PCP promoveu pequeno aumento na população de lactobacilos no momento da ensilagem e durante o processo fermentativo. Pelos dados encontrados no presente estudo a população no momento da ensilagem ($1,8 \log/g$ silagem) não seria suficiente para proporcionar efetiva produção de ácido láctico. Porém, a partir do primeiro dia de fermentação o número de microrganismos aumentou, apresentando-se dentro da faixa necessária para uma rápida acidificação.

No momento anterior a ensilagem e após um dia de fermentação observou-se ampla dominância de bactérias heterofermentativas para todos os tratamentos. Após o quarto dia de ensilagem, houve o desenvolvimento crescente de bactérias homofermentativas até o quinquagésimo sexto dia.

CONCLUSÕES

A presença de PCP durante a ensilagem promoveu ganhos no processo de fermentação.

Houve predomínio de bactérias ácido-láticas homofermentativas em relação as heterofermentativas, durante a maior parte do período de fermentação.

O crescimento restrito de enterobactérias e clostrídeos durante o processo fermentativo, caracterizou as silagens como bem conservadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, C., MONTEIRO, A. L. G., BERTO, D. A. et al. . Impacto do uso de aditivos e/ou inoculantes comerciais na qualidade de conservação e no valor alimentício de silagens. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS. 1, 2001, Maringá. Anais... Maringá:UEM, 2001, p. 87-126.
2. JOHNSON, R. R., BALWANI, T. L., JOHNSON, L. J. et al. . Corn plant maturity. II. Effect on in vitro cellulose digestibility and soluble carbohydrate content. *Journal Animal Science*, v. 25, p. 617-623, 1966.
3. JONSSON, A. . Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *Journal Science Food Agriculture*, v. 54, p. 557-568, 1991.
4. McDONALD, L. C., McFEETERS, R. F., DAESCHEL, M. A., et al. . A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 53, p. 1382-1384, 1987.
5. SILVA, D. J. . *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 2 ed. Viçosa:UFV, 1998, 166p.
6. TOSI, H., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., RAVAZI, J. P.. Presença de *Clostridium* em silagem de milho colhido em diferentes estágios de desenvolvimento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 17, p. 1133-1136, 1982.
7. WOOLFORD, M. K. . *The silage fermentation*. New York, 1984. 305p.

Tabela 1. Variação temporal dos teores de CHOs, pH e N-NH₃ das silagens de capim-Marandu submetidas a inclusão de polpa cítrica peletizada

Dias após a ensilagem									
CHOs (% MS)									
Silagens (%PCP)	1	4	7	14	21	28	56	Média	CV (%)
0	1,22 ^{Ca}	1,04 ^{Bb}	1,01 ^{Bbc}	0,95 ^{Bcd}	0,89 ^{Bcb}	0,84 ^{Bef}	0,80 ^{Bf}	1,07 ^A	1,9
5	1,32 ^{Ba}	1,06 ^{Bb}	1,04 ^{ABb}	1,00 ^{ABbc}	0,94 ^{ABcd}	0,90 ^{Ad}	0,89 ^{Ad}	1,02 ^B	-
10	1,48 ^{Aa}	1,12 ^{Ab}	1,06 ^{Abc}	1,04 ^{Bcd}	0,97 ^{Adc}	0,90 ^{Aef}	0,88 ^{Af}	0,96 ^C	-
Média	1,34 ^a	1,07 ^b	1,03 ^{bc}	1,00 ^c	0,93 ^d	0,88 ^e	0,86 ^e	-	-
CV (%)	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-
pH									
Silagens (%PCP)	1	4	7	14	21	28	56	Média	CV (%)
0	5,1 ^{Aa}	4,5 ^{Ab}	4,5 ^{Ab}	4,5 ^{Ab}	4,5 ^{Ab}	4,5 ^{Ab}	4,4 ^{Ab}	4,5 ^A	2,6
5	5,2 ^{ABa}	4,3 ^{Bb}	4,2 ^{Bb}	4,2 ^{Bb}	4,2 ^{Bb}	4,1 ^{Bb}	4,1 ^{Bb}	4,3 ^B	-
10	5,1 ^{Ba}	4,2 ^{Cb}	4,0 ^{Cc}	4,0 ^{Cc}	4,0 ^{Cc}	4,0 ^{Cc}	3,9 ^{Cc}	4,2 ^C	-
Média	5,1 ^a	4,3 ^b	4,2 ^c	4,2 ^c	4,2 ^c	4,2 ^c	4,2 ^c	-	-
CV (%)	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-
N-NH ₃ (% N total)									
Silagens (%PCP)	1	4	7	14	21	28	56	Média	CV (%)
0	3,3 ^{Ad}	5,9 ^{Ac}	6,4 ^{Abc}	6,5 ^{Abc}	6,5 ^{Abc}	7,2 ^{Acb}	7,6 ^{Aa}	6,2 ^A	5,2
5	2,6 ^{Bb}	5,5 ^{Aa}	5,6 ^{Ba}	5,2 ^{Ba}	5,8 ^{Ba}	5,3 ^{Ba}	5,7 ^{Ba}	5,1 ^B	-
10	2,6 ^{Bc}	4,4 ^{Bab}	4,2 ^{Cb}	4,7 ^{Bab}	4,9 ^{Cab}	4,9 ^{Cab}	5,2 ^{Ba}	4,3 ^C	-
Média	2,8 ^c	5,3 ^b	5,4 ^b	5,5 ^b	5,7 ^{ab}	5,6 ^b	6,1 ^a	-	-
CV (%)	7,8	-	-	-	-	-	-	-	-

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

CV: coeficiente de variação

Tabela 2. Dinâmica microbiológica das silagens de capim-Marandu submetidas a inclusão de polpa cítrica peletizada

Dias após a ensilagem								
Silagens (%PCP)	Enterobactérias (log UFC/g silagem)							
	0	1	4	7	14	21	28	56
0	3	3,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	3	3,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	2,4	2,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Silagens (%PCP)	Clostrideos (log UFC/g silagem)							
	0	1	4	7	14	21	28	56
0	0,5	0,8	0,3	0,3	0,2	0,4	0,4	0,4
5	0,6	0,8	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3
10	0,6	0,6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
Silagens (%PCP)	Lactobacilos (log UFC/g silagem)							
	0	1	4	7	14	21	28	56
0	1,5	4,3	4,1	4,4	4,4	4,4	2,9	2,8
5	1,8	4,4	3,9	5,2	5,0	5,0	3,1	3,0
10	1,9	5,1	4,3	5,4	5,4	5,3	3,5	3,5

ND = não ocorreu desenvolvimento