

**UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO**

**LUIZ PAULO DE ANDRADE**

**SILAGEM DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO  
COM SORO DE LEITE E ÁGUA**

**ALFENAS  
2013**

**LUIZ PAULO DE ANDRADE**

**SILAGEM DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO  
COM SORO DE LEITE E ÁGUA**

**Dissertação apresentada à Universidade  
José do Rosário Vellano – UNIFENAS  
como parte das exigências para a  
obtenção do título de Mestre em Ciência  
Animal.**

**Orientador: Aداuton Vilela de Resende**

**ALFENAS  
2013**

Andrade, Luiz Paulo de  
Silagem de grão de milho reidratado com soro de leite e água.—  
Luiz Paulo de Andrade.-- 2013.  
51 f.

Orientador: Prof. Dr. Aداuton Vilela de Resende

Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação  
em Ciência Animal - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas,  
2013.

1. Silagem de grão úmido 2. Inoculante bacteriano 3.  
Matéria crua 4. Ácidos orgânicos I. Título

CDU : 636.085.52(043)



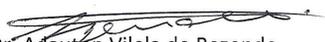
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

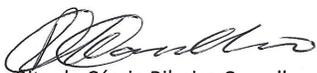
**Título:** "SILAGEM DE GRÃO DE MILHO REIDRATADO COM SORO DE LEITE E ÁGUA"

**Autor:** Luiz Paulo de Andrade

**Orientador:** Prof. Dr. Aداuton Vilela de Rezende

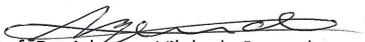
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL** pela Comissão Examinadora.

  
Prof. Dr. Aداuton Vilela de Rezende  
Orientador

  
Profa. Dra. Rita de Cássia Ribeiro Carvalho

  
Profa. Dra. Laura Helena Órfão

Alfenas, 30 de agosto de 2013.

  
Prof. Dr. Aداuton Vilela de Rezende  
Coordenador do Programa  
Mestrado em Ciência Animal

## **Dedicatória**

A Deus, minha família, minha esposa Aline, amigos, colegas de Mestrado e orientador pelo apoio, força, incentivo, companheirismo e amizade. Sem eles nada disso seria possível.

## AGRADECIMENTOS

- A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.
- A meu orientador e amigo Prof. Dr. Aداuton Vilela de Rezende, por acreditar em mim, me mostrar o caminho da ciência, fazer parte da minha vida nos momentos bons e ruins, por ser exemplo de profissional e de homem, o qual sempre fará parte da minha vida.

A banca examinadora, Dr. Aداuton Vilela de Rezende, Dr<sup>a</sup> Rita de Cássia Ribeiro Carvalho e Dra. Laura Helena Órfão.

- A minha família, meu pai José Amintas de Andrade e minha mãe Terezinha de Fátima de Andrade, aos quais amo muito, pelo carinho, paciência e incentivo.
- A minha esposa Aline Aparecida de Souza de Andrade, pela compreensão, amor, dedicação, lealdade e companheirismo.
- Aos amigos e colegas Anamara Pereira, Alan Kardec, Alexandre Kitagawa, Ariadne Mendes, Fabíola Barros Nogueira, Leonardo José Rennó Siqueira, Jules Lima e Jussara Reis Calixto que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.
- A uma pessoa muito especial, minha amiga Renata Mendes Tavares por todo apoio, pela amizade e força.
- Aos meus queridos professores do Mestrado em Ciência Animal, Prof. Dr. Adélia Pereira Miranda, Prof. Dr. Francisco Rodrigues da Cunha Neto, Prof. Dr. Kleber Pelícia, Prof. Dr. Paulo Figueiredo Vieira, Prof. Dr. Paulo Roberto Corrêa Landgraf, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Bessa e Prof. Dr. Rodrigo Fortes.

## EPÍGRAFE

**“E mesmo que meus passos sejam falsos, mesmo que os meus caminhos sejam errados, eu sei quem sou, e sei pelo que devo lutar. Se acha que meu orgulho é grande, é porque nunca viu o tamanho da minha fé! .”**

*Tião Carreiro*

## RESUMO

Diante da intensificação da produção animal, o emprego da tecnologia da ensilagem de grãos úmidos pode contribuir significativamente para melhoria dos índices de produtividade, destacando-se a importância econômica deste alimento como constituinte de rações. Objetivou-se com esta pesquisa, estudar o valor nutricional da silagem de grão de milho reidratado à diferentes teores de umidade. O experimento foi conduzido na faculdade de agronomia da Universidade José do Rosário Vellano, Campus de Alfenas - MG. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial  $3 \times 2 \times 2$ , sendo (reidratação do grão em três teores de umidade; reidratado com soro e água e com e sem inoculante) totalizando 12 tratamentos e 4 repetições; Os resultados referentes às características bromatológica foram submetidos a análises de variância (ANOVA) utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2003). Constatou-se menor valor de pH na silagem inoculada quando houve reidratação com soro ácido de leite. A inoculação biológica da silagem de grão úmido de milho resultou em maior concentração de ácido lático. A inoculação das silagens resultou em maiores concentrações de ácido acético e propiônico. A concentração de ácido propiônico permaneceu semelhante entre os tratamentos avaliados neste estudo, embora a concentração tenha sido baixa em todos eles. As silagens reidratadas com soro de leite apresentaram teores de matéria seca maiores quando comparadas com silagens reidratadas com água. A concentração de proteína (PB) na silagem de grão úmido de milho somente foi alterada devido ao líquido utilizado na reidratação. A concentração de FDN foi reduzida pela reidratação com soro ácido de leite, independente da aplicação ou não do inoculante. A concentração de FDA aumentou linearmente na silagem controle devido à reidratação utilizando-se soro ácido de leite, enquanto na silagem inoculada, constatou-se maior concentração pela reidratação a 40%.

Palavras-chave: silagem de grão úmido, inoculante bacteriano, matéria seca, ácidos orgânicos.

## ABSTRACT

Given the intensification of animal production , the use of technology Wet grain silage can contribute significantly to improving productivity indices , highlighting the economic importance of this as a constituent of food rations . The objective of this research was to investigate the nutritional value of silage maize grain rehydrated at different moisture contents . The experiment was conducted at the Faculty of Agronomy of the University José do Rosário Vellano , Campus Alfenas - MG . The experimental design was completely randomized with a 3x2x2 , and ( rehydration grain at three moisture contents ; rehydrated in saline and water with and without inoculant ) totaling 12 treatments and 4 replications ; Results concerning the characteristics bromatological underwent to analysis of variance ( ANOVA ) using the statistical program SISVAR ( FERREIRA , 2003) . It was found lower pH in silage inoculated when there rehydration with acid whey . Inoculation biological silage moisture corn resulted in higher concentration of lactic acid . Inoculation of silage resulted in higher concentrations of acetic and propionic acid . The propionic acid concentration remained similar between treatments evaluated in this study , although the concentration was low in all of them . Rehydrated silages with whey had higher dry matter silages compared with rehydrated with water . The concentration of protein (CP ) in silage moisture corn was only changed due to the liquid used in rehydration . The NDF was reduced by rehydration with acid whey , whether or not the application of the inoculant . The concentration of ADF increased linearly in the control treatment due to rehydration using acid whey , while the inoculated silage , there was greater concentration rehydration by 40%.

Keywords: wet grain silage, inoculant, dry matter, organic acids

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
FIGURA 1	Concentração de ácido láctico (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens.....	33
FIGURA 2	Concentração de ácido acético (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.....	34
FIGURA 3	Concentração de ácido acético (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.....	34
FIGURA 4	Concentração de ácido propiônico (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.....	35
FIGURA 5	Concentração de ácido propiônico (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.....	36
FIGURA 6	Matéria seca (%) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens.....	39
FIGURA 7	Concentração de FDN (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.....	39
FIGURA 8	Concentração de FDN (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.....	40
FIGURA 9	Concentração de FDA (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.....	40
FIGURA 10	Concentração de FDA (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.....	41

## LISTA DE TABELAS

		<b>Página</b>
<b>TABELA 1</b>	<b>Composição nutricional do soro de leite integral (na matéria natural e seca) e análise de rotina laboratorial de indústria de laticínios.....</b>	<b>25</b>
<b>TABELA 2</b>	<b>Valores de pH e concentração de ácidos orgânicos (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas e inoculadas</b>	<b>31</b>
<b>TABELA 3</b>	<b>Valores de Matéria seca (MS) proteína e fibra (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas e inoculadas.....</b>	<b>37</b>

## SUMÁRIO

Página

ABSTRACT.....	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	
LISTA DE TABELAS.....	
SUMÁRIO.....	
1. INTRODUÇÃO.....	12
2.REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1. IMPORTÂNCIA DO MILHO.....	13
2.2. CARACTERÍSTICAS DO GRÃO DE MILHO.....	14
2.3. PROCESSAMENTO DE GRÃOS NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	15
2.4. RECONSTITUIÇÃO DA UMIDADE.....	17
2.5. SORO DE LEITE.....	18
2.6. INOCULANTE.....	20
2.7. ACIDOS ORGANICOS.....	22

<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.</b>	<b>LOCAL DO EXPERIMENTO.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.</b>	<b>OBTENÇÃO DO SORO DE LEITE.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3.</b>	<b>TRATAMENTOS E DELINEAMENTO ESTATÍSTICO.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.</b>	<b>ENSILAGEM DO MATERIAL E PREPARO DAS AMOSTRAS.....</b>	<b>26</b>
<b>3.5.</b>	<b>MOAGEM DO MILHO.....</b>	<b>26</b>
<b>3.6.</b>	<b>REIDRATAÇÃO DO MILHO.....</b>	<b>26</b>
<b>3.7.</b>	<b>ABERTURA DOS SILOS E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.8.</b>	<b><i>PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>3.9.</b>	<b>CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS AVALIADAS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.9.1.</b>	<b>PORCETAGEM DE MATÉRIA SECA.....</b>	<b>29</b>
<b>3.9.2.</b>	<b>POTENCIAL HIDROGENIÔNICO.....</b>	<b>29</b>
<b>3.9.3.</b>	<b>PORCENTAGEM DE ÁCIDOS ORGÂNICOS ( LÁCTICO, PROPIÔNICO E ACÉTICO) .....</b>	<b>29</b>
<b>3.9.4.</b>	<b>PORCENTAGEM DE PROTEÍNA BRUTA.....</b>	<b>30</b>
<b>3.9.5.</b>	<b>PORCENTAGEM DE FIBRA BRUTA INSOLÚVEL EM DETERGENTE NEUTRO (FDN) E INSOLUVEL EM DETERGENTE ÁCIDO (FDA).....</b>	<b>30</b>

<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1.</b>	<b>FERMENTAÇÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2</b>	<b>COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA.....</b>	<b>36</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>41</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O milho é um dos mais importantes cereais produzidos no mundo. O grão de milho participa com mais de 60% do total de grãos utilizados e é também o ingrediente com maior participação nas rações Brasileiras, apresenta alto conteúdo de carboidratos, principalmente amido, assim como outros componentes, tais como proteínas, óleos e vitaminas. Nestes últimos anos, têm sido demonstrados os benefícios do processamento dos grãos de cereais, o que aumenta a digestibilidade ruminal do amido, e com isto, propicia mais energia disponível para o desenvolvimento da população microbiana, resultando em maior produção de AGVs e energia para os animais. Diante da intensificação da produção animal, o emprego da tecnologia da ensilagem de grãos úmidos pode contribuir significativamente para melhoria dos índices de produtividade, destacando-se a importância econômica deste alimento como constituinte de rações, de grande relevância para a redução do custo de produção. No entanto, é preciso observar o grau de maturidade ideal em que a planta de milho deve ser colhida e, assim, estabelecer o efeito do grau de maturidade da planta no momento da colheita sobre o valor nutritivo da silagem, na qual tem sido um dos entraves dentro da logística desta prática. Assim sendo, a possibilidade de reidratação do grão do milho seco para ensilagem pode ser uma alternativa eficaz para esta prática. Neste sentido, o soro de leite resultante da fabricação de queijo, pode ser uma opção interessante, já que o Estado de Minas Gerais é o principal produtor de leite e derivados do Brasil. Nas indústrias de laticínios, o soro é o principal subproduto, devido ao volume produzido, e o seu descarte em cursos de água pode causar sérios danos ambientais devido a sua elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Dessa maneira, um possível destino para o soro de leite produzido nas indústrias de laticínios seria a sua utilização na alimentação animal na silagem de grão de milho reidratado e desintegrado. Neste sentido objetivou-se com esta pesquisa avaliar as características quimo- bromatológica

de silagem de grão de milho processado e reidratado com soro e água em diferentes teores de umidade, com e sem a utilização de inoculante microbiano.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 IMPORTÂNCIA DO MILHO**

O milho (*Zea mays L.*) em função de seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, constitui-se em um dos mais importantes cereais cultivados e consumidos no mundo. Devido a sua multiplicidade de aplicações, quer na alimentação humana quer na alimentação animal, assume relevante papel socioeconômico, além de constituir-se em indispensável matéria-prima impulsionadoras de diversificados complexos agroindustriais (FANCELLI e NETO, 2000).

O milho possui características importantes na dieta de ruminantes por ser um alimento rico em amido, é encontrado em proporções significativas nas misturas de alimentos concentrados destinadas a esses animais. No Brasil a dieta de ruminantes é predominantemente composta de forragem, este grão surge como opção de alimento durante o período de estiagem (CORREA et al., 2002; LUCCI et al., 2008).

No Brasil quase todo o milho cultivado é do tipo duro ou “flint”. Esse material apresenta índice de vitreosidade expressivamente mais alto que o observado nos cultivares de milho farináceo. Então quanto maior a vitreosidade do endosperma dos grãos, maior é a presença de prolamina envolvendo os grânulos de amido e menor a digestibilidade do amido. Sendo assim, o processamento destes grãos apresenta muitos benefícios, melhorando a eficiência de utilização de nutrientes dos alimentos pelos microrganismos ruminais e pelo trato digestório total (BARAJAS e ZINN, 1998; CORREA et al, 2002).

O objetivo dos processamentos é quebrar o revestimento do grão, romper as pontes de hidrogênio dentro dos grânulos de amido e dar acesso às reservas de amido e consequentemente, aumentar a digestão no rúmen e no trato digestório total (LYKOS & VARGA., 1995).

## **2.2 CARACTERÍSTICAS DO GRÃO DE MILHO**

O grão de milho participa com mais de 60% do total de grãos utilizados e é também o ingrediente com maiores participações nas rações, nas condições brasileiras. É, sem dúvida, o cereal que apresenta maior número de produtos industrializados, devido ao alto conteúdo de carboidratos solúveis (CHOS), principalmente amido, assim como outros componentes, tais como proteínas, óleos e vitaminas. A composição química varia de acordo com o tipo de semente, tipo de solo, qualidade do fertilizante e das condições climáticas (BUTOLO, 2002).

O grão de milho contém dois tipos de moléculas: amilose e amilopectina, na proporção de 27% e 72%, respectivamente, conferindo a esse ingrediente um alto valor energético, pois seu alto conteúdo de amido encontra-se na forma facilmente digerível. Os lipídios do milho estão representados pelos ácidos graxos, palmíticos (12%), esteárico (2%), oléico (27%), linoléico (55%) e linolênico (0,8%), sendo o ácido linoléico de suma importância na alimentação das aves e suínos. Ainda como característica do grão de milho, podemos citar sua alta aceitabilidade, riqueza em caroteno, alto teor de fósforo, porém, com baixo nível de cálcio (BUTOLO, 2002).

Pereira et al. (2004) observaram que o aumento na idade da planta em dias após o plantio se correlacionou de forma linear e positiva com a vitreosidade de grãos de híbridos de milho duro e macios, apesar da maior vitreosidade dos duros em todos os estágios de maturação avaliados.

### 2.3 PROCESSAMENTO DE GRÃOS NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

As limitações físicas estão relacionadas com a degradação do alimento e com o fluxo da digesta pelo rúmen e outras partes do aparelho gastrointestinal. A matéria alimentar consumida pelos ruminantes é retida no rúmen. Nesse local, interagem as forças físicas e químicas que concorrem tanto para o seu desdobramento como para sua retenção. As partículas alimentares que compõem as dietas dos ruminantes possuem componentes solúveis que se misturam a fase líquida e são rapidamente fermentados pelos microrganismos, rendendo corpos microbianos e compostos derivados do seu metabolismo que irão nutrir o animal. Ao mesmo tempo, possuem um componente estrutural que preenche o interior do rúmen e, por sua mais difícil digestão, resiste ao escape, permanecendo maior tempo no órgão, o que representa uma barreira física para que o animal venha a se alimentar novamente (BERCHIELLI; PIRES e OLIVEIRA, 2006).

Os grãos de cereais contém uma matriz protéica complexa em volta do grânulo de amido conferindo maior resistência ao ataque microbiano, desta maneira, o processamento destes cereais aumenta a digestão do amido disponibilizando energia para o desenvolvimento microbiano e, como consequência, resultando em maior produção de ácidos graxos voláteis, conforme (PASSINI et al 2002).

O processo de moagem de grãos é a forma mais simples e prática que pode ser aplicado para obtenção de diferentes tamanhos de partículas, ocorrendo variações na proporção de degradação ruminal e digestão intestinal (HALE, 1973; VAN SOEST., 1994).

Outro tipo de processamento utilizado, principalmente em confinamentos de bovinos, é o de reconstituição do milho. Neste tipo de processamento ocorre o reumedecimento dos

grãos secos até o teor de umidade adequado para ensilagem em torno de 35%. Sendo assim estes mesmos autores encontraram melhor digestibilidade da matéria seca e debradabilidade da proteína quando bovinos confinados receberam dietas com milho reconstituído comparados a laminado a seco e silagem de milho (BENTON et al.2009).

Da mesma forma, Pereira et al.(2011) verificaram que a degradabilidade da matéria seca do milho moído fino reconstituído (71,6 %) e sorgo moído fino reconstituído ( 67,1 %) foi melhor, em função do processo de reconstituição com 38 % de umidade dos grãos, quando comparada aos grãos secos, milho moído fino ( 42,8%) e sorgo moído fino (41,1%).

Bitencourt et al. (2009) avaliaram o efeito da reidratação e ensilagem do milho duro finamente moído a 2mm ou da extrusão sobre digestibilidade. Concluíram que houve tendência de aumento na digestibilidade da matéria orgânica no tratamento com milho ensilado (76,6% versus 76,1%).

De acordo com Rodriguez (2003), os grãos de cereais podem sofrer processos físicos, como a moagem, a quebra e a laminação, facilitando a adesão dos microrganismos aos grânulos de amido, ou processos físico-químicos, responsáveis pela gelatinização do amido. As modificações físico-químicas envolvem a aplicação de calor, água e pressão, que hidratam e fazem com que as estruturas amorfas e cristalinas dos grãos de amido inchem, rompendo as ligações mais fracas de hidrogênio e alterando sua estrutura, o que faz com que a digestão amilolítica por parte das enzimas dos microrganismos aumente.

## **2.4 RECONSTITUIÇÃO DA UMIDADE**

O processo de reconstituição do milho , isto é, o reumedecimento dos grãos secos até o teor de umidade adequado para ensilagem, podem representar alternativas viáveis, agregando benefícios aos pecuaristas. Nas propriedades rurais, em função dos graves problemas de infra-

estrutura de armazenagem local, a tendência é que ocorram, após alguns meses de acondicionamento impróprio, significativas perdas qualitativas e quantitativas (LOPES, 2005).

Uma prática fundamental para a qualidade da silagem de grão re-hidratado é a homogeneização da água ao grão moído. Este processo pode ser realizado por meio de uma adaptação de canos ao moinho para hidratação simultânea à moagem próxima ao silo. A adaptação no moinho consiste em passar canos perfurados imediatamente abaixo da peneira do equipamento. Desta maneira, o milho triturado é imediatamente misturado a água e cai no silo bem homogeneizado. Caso a água seja incorporada ao milho moído por mistura não vigorosa, a hidratação do grão não será perfeita, e pode resultar em perda do ensilado por crescimento de fungos.

Andrade et al. (2010) avaliaram a incorporação de água ao milho maduro para obter teores de umidade na silagem de 20, 30 ou 40% . Os resultados obtidos por eles sugerem, com base no pH final das silagens, que obter teores de umidade do ensilado acima de 30% da matéria natural foi adequado. Com base nestes dados, a recomendação prática tem sido acrescentar de 250 a 300 litros de água por tonelada de milho com teor de matéria seca original ao redor de 12%.

## **2.5 SORO DE LEITE**

O soro é um subproduto do processamento de queijo, contendo a metade do extrato seco do leite, representado por lactose, proteínas solúveis e sais. É um produto que tem um baixo valor comercial quando *in natura*, e seu excedente podem causar sérios problemas de

poluição ambiental quando descartado em rios e esgotos, pois apresenta uma alta demanda biológica de oxigênio (TORRANO, 1999). A sua composição varia dependendo do tipo de método de manufatura do queijo e também durante a estação de produção de leite. Hauptli et al (2005) citado por Silva (2008), determinou que o soro do leite in natura apresenta 6,4% de matéria seca, 0,72% de proteína bruta, 0,02% de gordura, 5% de lactose, 0,64% de cinzas e pH 5,8.

No mundo, o soro de leite é aproveitado de várias maneiras. Este pode ser industrializado, se transformando em bebidas fermentadas, sucos, aditivo para panificação, desidratado e usado como fonte energética e nutritiva, além de sofrer processos de concentração, separação das proteínas e lactose ou utilizado in natura na nutrição animal. Entretanto, a maioria desses processos é de alto custo (GHERI et al., 2008).

No caso da alimentação animal, o soro in natura representa uma fonte principalmente de lactose; mas também de proteína, cálcio, fósforo, enxofre e vitaminas hidrossolúveis. Porém, seu uso, na alimentação animal, como fonte de nutrientes é limitado devido às excessivas proporções de água e minerais. Em média, na fabricação de 1 kg de queijo são necessários 10 litros de leite e são produzidos 9 litros de soro. Assim, esse subproduto lácteo representa cerca de 90% do volume do leite e retém 55% dos nutrientes do mesmo (SILVA, 2008).

O soro de leite contém na sua composição química, aproximadamente, 90% de água. Os demais componentes de maior abundância são lactose (4,5-5,0% p/v), proteínas solúveis (0,6-0,8% p/v), e minerais (0,7% p/v) (SERPA, 2005). Além desses compostos, o soro contém gordura, ácido láctico, nitrogênio não protéico e vitaminas do complexo B, segundo (GHERI et al., 2008). A lactose e a proteína são os mais importantes componentes do soro de leite. A lactose, além de apresentar-se em maior quantidade no extrato seco total do soro, constitui-se fonte de energia para diversos processos biotecnológicos. A proteína do soro é considerada de

alto valor nutricional por conter todos os aminoácidos essenciais, de acordo Giroto & Pawlowsly, (2001) segundo GHERI et al., (2008).

O propionato é o principal precursor da glicose no organismo de ruminantes (GHERI et al., 2008). O soro de leite fermentado poderia, então, melhorar o desempenho animal por atuar como manipulador ruminal. Além disso, o mesmo poderia ser fonte de energia prontamente disponível para o animal ruminante. O soro fermentado pode então constituir fonte de ácido propiônico e de microrganismos utilizadores de lactose e lactato e produtores de propionato (*Enterococcus faecium* e *Veilonella parvula*).

Além disso, a utilização do soro de queijo na alimentação animal tem contribuído para redução dos efluentes líquidos lançados ao meio ambiente pelas indústrias de laticínios (MACHADO et al., 2001).

O descarte de soro em cursos de água pode causar sérios danos ambientais devido à sua elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Segundo (VENTURINI et al., (1998), devido à sua demanda de oxigênio, que está entre 20 e 45 g/L, 50000 litros de soro correspondem ao esgoto de uma cidade com cerca de 25000 habitantes.

Em razão do volume de soro aplicado no solo, grandes quantidades de N são adicionadas, e isso pode levar à contaminação das águas superficiais e do lençol (Gheri, Ferreira E Cruz, 2003), constatou que o soro derivado da fabricação do queijo petit suisse da Danone S.A. tem, em média, pH 4,4; relação C/N 40/1; N, P, K, Ca, Mg e S, respectivamente iguais a 0,7; 0,5; 1,7; 0,9; 0,1 e 0,05 g/L.

## **2.6 INOCULANTE**

Existem poucos trabalhos realizados no Brasil para avaliação do uso de inoculantes microbianos em silagens de grãos úmidos de cereais. Ítavo et al. (2003) verificaram que a

inoculação de silagens de grãos úmidos de milho não influenciou o padrão de fermentação, mas diminuiu o teor de nitrogênio amoniacal e as perdas de matéria seca, indicando que a decisão sobre sua utilização depende de avaliação econômica.

Os aditivos estimulantes da fermentação, que neste caso são representados pelos aditivos microbianos constituídos por bactérias homoláticas, aumentam a produção de ácido láctico, minimizando as perdas de matéria seca e promovem maior velocidade de acidificação da silagem. O uso do aditivo bacteriano promove aumento na taxa de fermentação (maior relação láctico/acético), com uso mais eficiente dos carboidratos solúveis e em consequência maior retenção de nutrientes na silagem (HENDERSON, 1993).

O principal enfoque na indústria de inoculantes é a busca de produtos a base de bactérias homofermentativas. Contudo, a utilização de bactérias heterofermentativas, tem-se mostrado promissora em aumentar a estabilidade aeróbia das silagens (WEINBERG & MUCK, 1996; FILYA et al., 2004).

HOLZER et al. (2003) relataram que, atualmente, o principal desafio dos inoculantes é que, quando adicionados a silagens de forragem, proporcionem certo nível de ácido acético durante a fermentação, objetivando assim uma melhor estabilidade aeróbia. No entanto, os autores ressaltam que esse conceito é completamente novo porque, até recentemente, o ácido acético era associado principalmente com aumento da atividade de microrganismos indesejáveis.

A melhora na estabilidade aeróbia de silagem de milho tem sido relatada em estudos como o de Ranjit e Kung Jr. (2000), avaliaram concentrações de inoculação contendo *L. buchneri* e observaram, durante a exposição aeróbia, que as silagens tratadas obtiveram menores elevações de pH, reduzidas perdas de carboidratos solúveis e de ácido láctico.

O *Lactobacillus plantarum* é uma bactéria homofermentativa frequentemente utilizada para controlar a fermentação de silagens devido à eficiente produção de ácido lático que proporciona rápida diminuição do pH no início do processo de fermentação (FILYA, 2003).

Porém, Weinberg et al. (1993) relataram que altos níveis de carboidratos solúveis residual, combinados com altas concentrações de ácido lático e ausência de concentrações suficientes de ácido acético, sejam associados às perdas durante exposição aeróbia das mesmas. Segundo FILYA (2003), isto ocorre devido aos carboidratos solúveis e ácido lático serem substratos para o desenvolvimento de fungos após abertura dos silos, enquanto que o ácido acético tem a capacidade de inibir estes microrganismos oportunistas. Portanto, o autor supracitado ressalta que essas observações estimularam a procura de opções de inoculantes bacterianos que podem ser eficientes durante a fermentação anaeróbia e também para proteger a silagem durante exposição aeróbia.

SIQUEIRA et al. (2005) ressaltaram que as silagens de grãos úmidos representam um substrato de alto valor nutricional para o desenvolvimento dos microrganismos indesejáveis. Conseqüentemente, este alimento proporciona um “antagonismo”, pois quanto mais nutrientes forem preservados durante o processo fermentativo, principalmente em relação aos carboidratos solúveis e a eficiente produção de ácido lático, mais susceptível à deterioração aeróbia as silagens serão. Entretanto, os mesmos autores citaram que seria uma inconseqüência fixar a impressão de que a confecção de silagens de baixo valor nutritivo seja considerada como técnica para controlar a instabilidade aeróbia. Nesse sentido, a avaliação dos efeitos da associação de inoculantes homo e heterofermentativos, assim como aditivos químicos, com o intuito de promover aumento da taxa de fermentação e da estabilidade aeróbia das silagens torna-se condição importante para a busca de alternativas técnicas que contornem esse entrave.

## 2.8 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos são ácidos graxos de cadeia curta com um a sete carbonos, parcialmente dissociados no meio. A presença do grupo COOH- confere aos ácidos carboxílicos, entre outras propriedades, a de serem ácidos fracos e pouco corrosivos. Os ácidos estão distribuídos na natureza na forma de componentes naturais de plantas e tecidos animais. Podem ser encontrados na forma livre e em sais de cálcio, potássio e sódio (GAUTHIER, 2005).

Os principais ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação são lático, acético, butírico, isobutírico, propiônico, valérico, isovalérico, succínico e fórmico (MCDONALD et al., 1991). Para a avaliação da qualidade da silagem consideram-se os ácidos lático, acético e butírico. As concentrações de ácido lático devem ser superiores aos demais ácidos produzidos. Por apresentar maior constante de dissociação, acidifica rapidamente o meio.

Os ácidos orgânicos, produzidos durante a fermentação, podem romper a matriz protéica que recobre os grânulos de amido, bem como alterar a estrutura desses grânulos, o que favorece a digestão e absorção do amido (SILVA et al., 2005).

A presença do ácido butírico indica atividade clostridiana e está relacionada ao aumento do pH e degradação de proteínas. Altos níveis de ácido acético indicam atividade de enterobactérias e elevação de pH. A presença em níveis elevados de ácidos como o acético e butírico podem ser considerados indicadores negativos da qualidade da silagem (LANES; NETA, 2008).

A adição de acidificantes apresenta melhores resultados em silagens de baixa e lenta fermentação, ocorrendo principalmente em silagens com alto teor de MS (ÍTAVO et al., 2006). O ácido acético pode conferir atividade antifúngica devido à grande

dissociação no meio (KIM; ADESOGAN, 2006). No entanto, a adição de ácidos em baixas concentrações pode aumentar a estabilidade aeróbica (DANNER et al., 2003).

Segundo Mahanna (1994), a concentração de ácido acético deve ser menor que 0,1%, de ácido propiônico entre 0 e 1%, e de ácido butírico menor que 0,1% na MS, para que a silagem de grãos úmidos apresente boa estabilidade após a abertura dos silos.

Petit e Veira (1991), registraram 0,2% de ácido acético e ausência de ácido propiônico e butírico, em uma silagem de espigas de milho com 60% de MS e pH de 4,47.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 LOCAL DE EXPERIMENTO**

O experimento foi conduzido na faculdade de agronomia no setor de forragicultura da Universidade José do Rosário Vellano, Campus de Alfenas - MG.

#### **3.2 OBTENÇÃO DO SORO DE LEITE**

O soro de leite que foi utilizado no experimento é resultante da coagulação enzimática do leite, derivado da fabricação do queijo, proveniente do laticínio VR Campos, município de Poço Fundo - MG. Após a sua aquisição, o soro foi homogeneizado e analisado no Laboratório de Análises Físico - Químicas da faculdade da Universidade José do Rosário Vellano, Campus de Alfenas - MG (UNIFENAS). Seguindo os procedimentos indicados nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), realizaram-se as análises cujos resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição nutricional do soro de leite integral (na matéria natural e seca) e análise de rotina laboratorial de indústria de laticínios.

Componente	Soro de leite integral	Soro de leite (MS)
Densidade, g / L a 15 °C	1024,9	
Acidez, °D	17	
Crioscópia, °H	-0,688	
Temperatura, °C	46	
PH	5,33	
Matéria Seca, %	8,76	100
Proteína bruta, %	0,52	5,88
Lipídios, %	0,1	1,12
Cinzas, %	1,08	12,02

Fonte: Unifenas – Alfenas. 2012.

### 3.3 TRATAMENTOS E DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial 3x2x2, sendo( reidratação do grão em três teores de umidade; reidratado em soro e água e com e sem inoculante) totalizando 12 tratamentos e 4 repetições.

Os tratamentos utilizados foram:

1. Milho reidratado com soro de leite até atingir umidade de 30 % sem inoculante;
2. Milho reidratado com soro de leite até atingir umidade de 35% sem inoculante;
3. Milho reidratado com soro de leite até atingir umidade de 40 % sem inoculante;
4. Milho reidratado com soro de leite até atingir umidade de 30 % com inoculante;

5. Milho reidratado com soro de leite até atingir umidade de 35 % com inoculante;
6. Milho reidratado com soro de leite até atingir umidade de 40 % com inoculante;
7. Milho reidratado com água até atingir umidade de 30 % sem inoculante;
8. Milho reidratado com água até atingir umidade de 35 % sem inoculante;
9. Milho reidratado com água até atingir umidade de 40 % sem inoculante;
10. Milho reidratado com água até atingir umidade de 30 % com inoculante;
11. Milho reidratado com água até atingir umidade de 35 % com inoculante;
12. Milho reidratado com água até atingir umidade de 40 % com inoculante;

### **3.4 ENSILAGEM DO MATERIAL E PREPARO DAS AMOSTRAS**

Foi utilizado um milho comercial (textura dura) com teor de umidade de 14% sendo considerado seco, o qual foi reidratado à 30, 35 e 40 % de umidade e submetido a uma moagem para obter partículas de 4 mm (grosseiro) antes da ensilagem.

### **3.5 MOAGEM DO MILHO**

Para o processamento dos grãos secos de milho com característica de grão duro, foi utilizado um desintegrador elétrico de martelo com peneira de 4 mm ou 1/6 polegadas sendo grosseiro – 0,40 cm de tamanho de partícula.

### **3.6 REIDRATAÇÃO DO MILHO**

Depois de moído o milho foi reidratado com água e soro conforme os tratamentos. O milho foi pesado e colocado em uma recipiente de alumínio onde foi homogeneizado manualmente com a água e soro e posteriormente ensilado em silos de laboratório

confeccionados em tubos de “PVC” com diâmetro de 100mm e altura de 50 cm com capacidade aproximadamente 4,5 quilos cada, para a compactação da silagem foram utilizados pêndulos de madeira .

A quantidade de líquido para a reconstituição da umidade desejada foi calculada de acordo com a **Equação 1**, adaptada de (FERREIRA, 1983).

$$\Delta H_2O = [UM \times (U_f - U_i) / 100 - U_f] / p$$

Onde:

$\Delta H_2O$  = volume de água a ser adicionada

UM = massa do produto úmido em kg

$U_f$  = umidade final, % bu

$U_i$  = umidade inicial, % bu

p = massa específica da água, kg/l

. A inoculação foi feita na dosagem recomendada pela empresa responsável pelo produto e adicionada à silagem com um pulverizador manual.

Utilizou-se o inoculante Maize-All®, da Alltech, após o processamento, de forma homogênea, por aspersão, de acordo com as recomendações do fabricante. Integram sua composição: *Streptococcus (Enterococcus) faecium* (10bilhõesUFC/g), *Lactobacillus plantarum* (10bilhõesUFC/g) e *Pediococcus acidilactici* (1bilhãoUFC/g), enzimas amilolíticas (2%), enzimas celulolíticas (1,5%) e dextrose.

Os silos foram fechados com tampas de “PVC” adaptadas com válvula do tipo Bunsen para que fosse possível o escape de gases.

### **3.7 ABERTURA DOS SILOS E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS**

Decorridos 30 dias os silos foram pesados e abertos. O material superior de cada silo foi descartado e o material central do silo foi homogeneizado em bandejas de plástico. Uma amostra foi retirada, para análise do pH e outra foi pesada e colocada em saco de papel, ( 300 g)devidamente perfurado e levado à estufa com circulação forçada de ar a 65° C por 72 horas. Após este período foram retiradas da estufa, colocadas á temperatura ambiente por 30 minutos e, em seguida, pesadas para determinação da matéria pré seca. Estas amostras foram moídas em moinho do tipo Willey, com peneira de um mm. O material moído foi posteriormente utilizado para avaliação das características bromatológicas da silagem.

### **3.8 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial com 3 fatores sendo 3x2x2 totalizando 12 tratamentos e 4 repetições.

Os resultados referentes às características bromatológicas foram submetidos a análises de variância (ANOVA) utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2003) versão 5.1.

### **3.9 CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS AVALIADAS**

As análises de proteína, FDN, FDA e pH foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da Faculdade de Agronomia e Zootecnia da UNIFENAS e as análises de ácidos Orgânicos foram feitas no Laboratório de Análises Avançadas e Biotecnologia da UFLA (Universidade Federal de Lavras).

### **3.9.1 PORCETAGEM DE MATÉRIA SECA**

Foi determinada nas silagens por secagem em estufa à 105° C, até peso constante, após a secagem em estufa à 65°.

### **3.9.2 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO**

No momento em que os silos foram abertos, 4 gramas de silagem foram imediatamente utilizadas para avaliação do pH, utilizando um potenciômetro Beckman Expandomatic SS-2 pelo método descrito por SILVA e QUEIROZ (2002).

### **3.9.3 PORCENTAGEM DE ÁCIDOS ORGÂNICOS ( LÁTICO, PROPIÔNICO E ACÉTICO)**

Os ácidos orgânicos foram identificados e quantificados por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), por meio de um cromatógrafo da marca Shimadzu, com detector condutividade (CDD-6A), polaridade +, utilizando uma pré-coluna SHIM-PACK SPR-H(G) (50mm x 7.8mm) e duas coluna em série SHIM-PACK SPR-H (250mmx 7.8mm).

### **3.9.4 PORCENTAGEM DE PROTEÍNA BRUTA**

Foi determinado o teor de nitrogênio utilizando-se o aparelho de destilação a vapor micro-Kjedahl, conforme a AOAC (1970). O teor de proteína bruta foi calculado utilizando-se o fator de conversão 6,25.

### **3.9.5 PORCENTAGEM DE FIBRA BRUTA INSOLÚVEL EM DETERGENTE NEUTRO (FDN) E INSOLÚVEL EM DETERGENTE ÁCIDO (FDA)**

Foram determinadas segundo metodologia alternativa proposta pela EMBRAPA (1999).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 FERMENTAÇÃO**

Os valores de pH foram modificados pela interação entre inoculação da silagem e líquido utilizado na reidratação ( $p = 0,0057$ ). Constatou-se menor valor de pH na silagem inoculada quando houve reidratação com soro ácido de leite (Tabela 2). Este subproduto é rico em nutrientes (Gheri et al., 2003), desta maneira, possivelmente as bactérias ácido-láticas (BAL) presentes na silagem de grão úmido de milho utilizaram o soro de leite como uma fonte adicional de nutrientes (carboidratos fermentáveis) para seu crescimento (Schingoethe, 1976), resultando em maior produção de ácidos orgânicos (principalmente ácido lático), o que causa a redução mais acentuada do pH. Além disto, o soro de leite é rico em bactérias láticas (Santos et al., 2006), o que pode contribuir de maneira direta na elevação da população de BAL presentes no silo. Santos et al. (2006) avaliaram a aplicação de diferentes doses de soro de queijo no processo de ensilagem do capim elefante e, verificaram menores valores de pH quando se utilizou este subproduto.

Tabela 2. Valores de pH e concentração de ácidos orgânicos (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas e inoculadas.

Modo de reidratação	Silagem*		Média	CV (%)
	Controle	Inoculada		
pH				
Soro de leite	4,08Aa	4,00Ba	4,07	
Água	3,91Ab	4,41Aa	4,22	
Média	4,08	4,21		7,30
Ácido láctico				
Soro de leite	1,43	1,33	1,38 <sup>A</sup>	
Água	1,31	1,20	1,25 <sup>B</sup>	
Média	1,37 <sup>a</sup>	1,26 <sup>b</sup>		12,10
Ácido acético				
Soro de leite	0,17 <sup>Ab</sup>	0,18 <sup>Aa</sup>	0,17	
Água	0,15 <sup>Bb</sup>	0,18 <sup>Aa</sup>	0,17	
Média	0,16	0,18		5,23
Ácido propiônico				
Soro de leite	0,11 <sup>Ab</sup>	0,12 <sup>Aa</sup>	0,12	
Água	0,10 <sup>Bb</sup>	0,12 <sup>Aa</sup>	0,11	
Média	0,11	0,12		7,27

\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula (dentro de colunas) e minúscula (dentro de linhas), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

No entanto, era esperado que as silagens inoculadas apresentassem menor pH (Tabela 2) devido ao inoculante utilizado no estudo conter BAL homofermentativas, pois o ácido láctico é mais forte que os demais ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico), apresentando menor pka (McDonald et al., 1991).

O ácido láctico foi alterado pelos três fatores de estudo, todavia de forma isolada, inoculação da silagem ( $p = 0,0322$ ), líquido utilizado na reidratação ( $p = 0,0106$ ) e a porcentagem de reidratação utilizada ( $p = 0,0145$ ). A inoculação biológica da silagem de grão úmido de milho resultou em menor concentração de ácido láctico. O inoculante utilizado neste trabalho apresenta as BAL *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecium* e *Pediococcus acidilactici*, que são classificadas em homofermentativas obrigatórias ou heterofermentativas facultativas (HOLZER et al., 2003). A rota metabólica preferencial destas BAL se refere à

conversão de uma molécula de glicose em duas moléculas de ácido láctico, o que resulta em menores perdas de matéria seca (MS) e energia nas silagens inoculadas (MUCK, 2010). Desta forma, esperava-se maior concentração deste produto mediante utilização do inoculante (Tabela 2). Este resultado é inverso ao encontrado por Sebastian et al. (1996), os quais verificaram maiores concentrações de ácido láctico em silagem de grão úmido de milho devido à inoculação bacteriana.

A concentração de ácido láctico aumentou quando os grãos úmidos foram reidratados com soro ácido de leite, comparado àqueles reidratados com água (Tabela 2). Como discutido anteriormente, o soro de leite é rico em proteínas solúveis, lactose, minerais e vitaminas, além de apresentar quantidades variáveis de ácido láctico (WEBB et al., 1980). Desta maneira, este subproduto pode contribuir de forma direta no aumento da concentração do ácido láctico e/ou de maneira indireta, pois fornece fonte adicional de nutrientes às BAL presentes no silo, contribuindo ao desenvolvimento destas, o que implica em maior produção de ácidos, entre eles, o ácido láctico. O soro de leite já foi estudado no passado em relação à sua utilização no processo de ensilagem, com ressalvas, pois este foi aplicado na forma de pó em silagens de milho e girassol (Schingoethe et al., 1974; 1980), demonstrando bons resultados na melhora do valor nutritivo destas silagens.

A concentração de ácido láctico diminuiu linearmente com o aumento na reidratação das silagens de grão úmido de milho (Figura 1). Possivelmente este resultado está associado ao crescimento de microrganismos indesejáveis ao processo de ensilagem (beneficiados pelo aumento na umidade das silagens), os quais competem com as BAL por substratos e diminuem a produção de ácidos orgânicos, resultando no aumento das perdas ocorridas durante a fermentação. Silagens mais úmidas devem apresentar menores valores de pH de forma a inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis durante o processo de fermentação (MCDONALD et al., 1991).

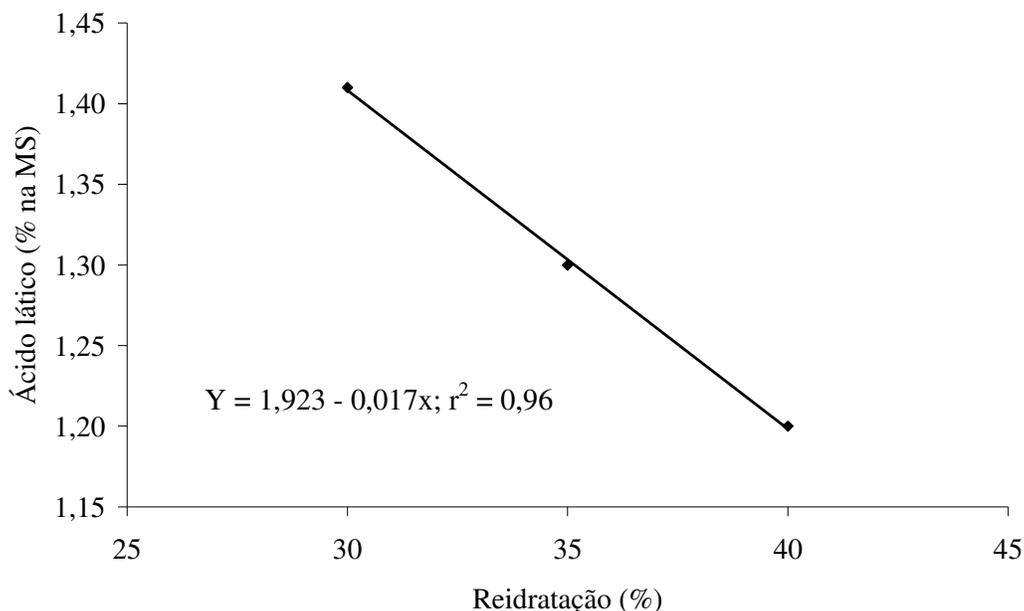


Figura 1. Concentração de ácido láctico (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens.

Os ácidos acético e propiônico foram afetados pela interação entre inoculação da silagem, líquido utilizado na reidratação e a porcentagem de reidratação utilizada ( $P < 0,001$ ). A inoculação das silagens resultou em maiores concentrações de ácido acético e propiônico (Tabela 2). Embora a utilização do *L. plantarum* geralmente implique em maior produção de ácido láctico, este microrganismo é capaz de alterar sua rota metabólica de acordo com os substratos presentes no silo (Holzer et al., 2003), promovendo maiores concentrações de ácido acético.

A concentração de ácido acético diminuiu com o aumento na reidratação das silagens inoculadas (utilizando-se soro ácido de leite), enquanto foi observado efeito contrário quando as silagens permaneceram sem inoculação (Figura 2). Entretanto, constataram-se maiores concentrações de ácido acético pela reidratação com água quando esta foi de 35%, embora tenha sido observado efeito mais intenso quando as silagens foram inoculadas (Figura 3). Silagens de grãos úmidos de milho são mais susceptíveis à deterioração aeróbia do que silagens de leguminosas ou gramíneas (Basso et al., 2012). Portanto, o acréscimo na concentração de ácido acético é desejável neste caso, pois asseguram melhor valor nutritivo à silagem por inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis e oportunistas, principalmente leveduras (MOON et al., 1983; WOOLFORD, 1990).

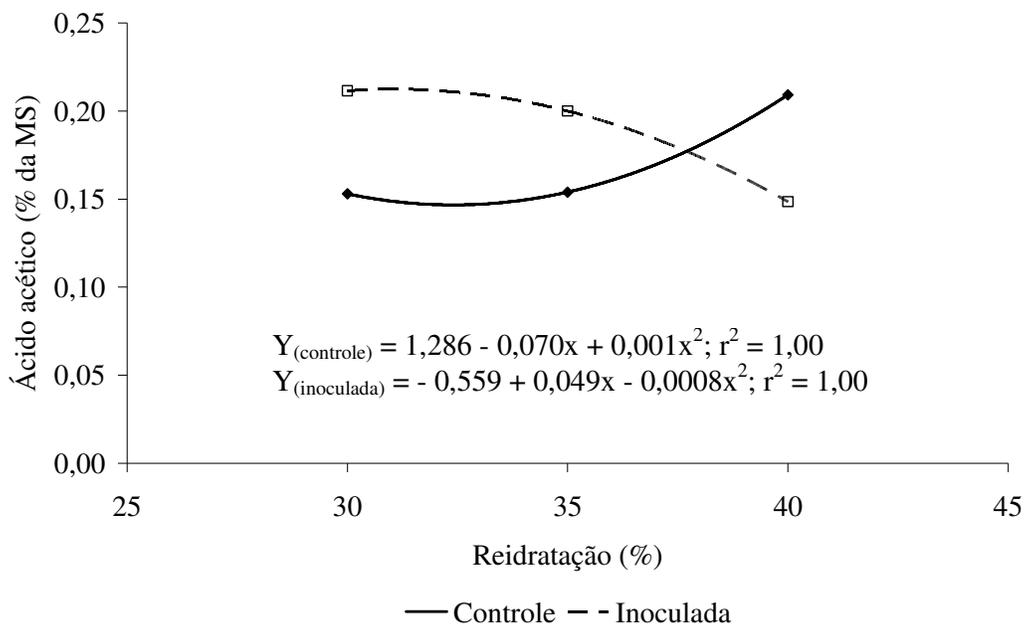


Figura 2. Concentração de ácido acético (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.

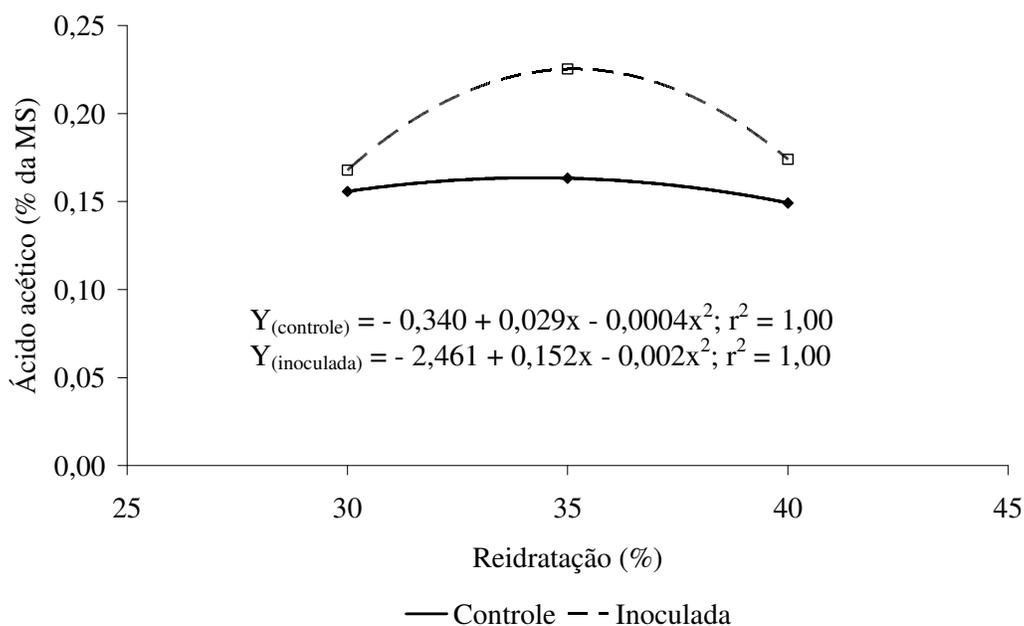


Figura 3. Concentração de ácido acético (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.

A concentração de ácido propiônico teve comportamento semelhante ao ácido acético nas silagens de grão úmido de milho (utilizando-se soro ácido de leite ou água, Figuras 4 e 5). Como reportado por Pahlow et al. (2003), as BAL geralmente necessitam de vários

aminoácidos e vitaminas para seu desenvolvimento. Desta maneira, o soro ácido de leite contribui com uma fonte a mais de substratos dentro do silo, além da própria forragem, que é a principal fonte de nutrientes para o crescimento destas bactérias.

No entanto, a concentração de ácido propiônico permaneceu semelhante entre os tratamentos avaliados neste estudo, embora a concentração tenha sido baixa em todos eles (Tabela 2; Figuras 4 e 5). As baixas concentrações de ácidos orgânicos encontradas neste trabalho estão em conformidade com a hipótese elucidada por Kung Jr. et al. (2007), em que, silagens de grão úmido de milho são pouco fermentadas, pois há relativa baixa umidade e concentração de açúcares fermentáveis, resultando em baixo acúmulo de ácidos.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram a assertiva de Schingoethe (1976), o qual descreve que o soro de leite é uma fonte adequada de carboidratos fermentáveis no processo de ensilagem, resultando em maior e completa fermentação, e melhor qualidade da silagem, indicado pelo menor pH, maior concentração de ácido lático e maior digestibilidade. Desta maneira, além do benefício do ponto de vista nutricional, há que se considerar a sustentabilidade ambiental, evitando assim, o descarte deste subproduto em mananciais de água.

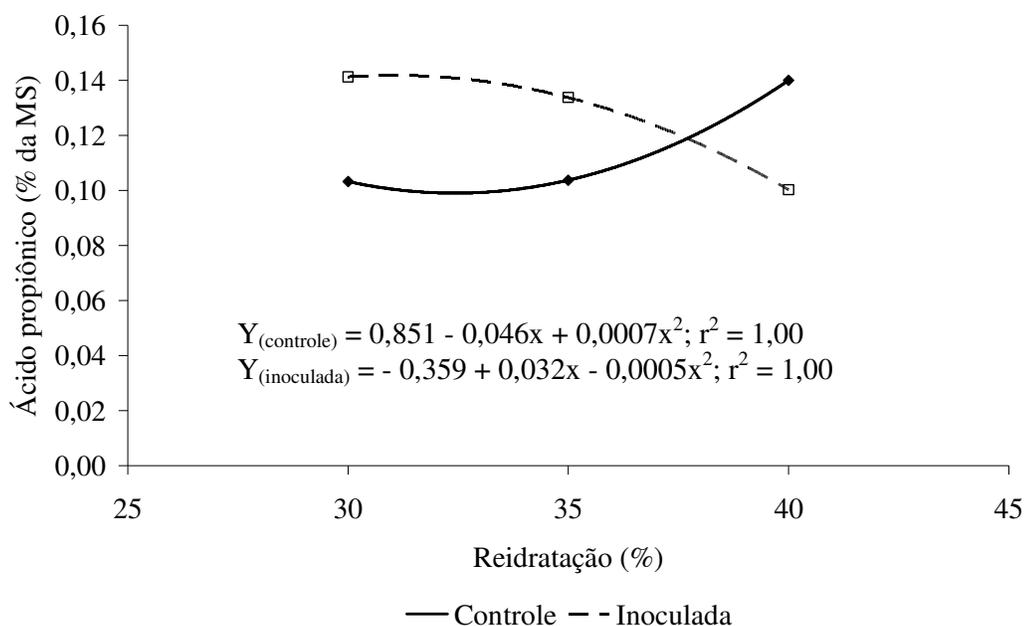


Figura 4. Concentração de ácido propiônico (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.

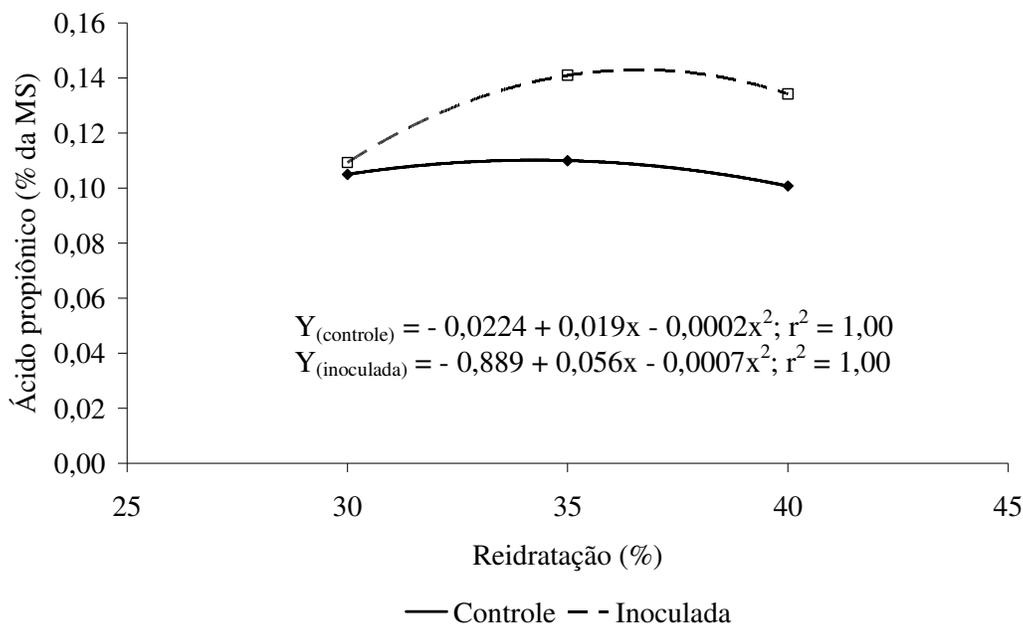


Figura 5. Concentração de ácido propiônico (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.

## 4.2 COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA

Para porcentagem de matéria seca (MS) das silagens de grão de milho reidratado observou-se diferenças ( $P < 0,000$ ) para líquidos utilizados na reidratação e porcentagem de reidratação.

As silagens reidratadas como soro de leite apresentaram teores de matéria seca maiores quando comparadas com silagens reidratadas com água, isto é explicado pela maior porcentagem de matéria seca do soro de leite observado na Tabela 1.

De maneira geral as silagens reidratadas com soro de leite apresentaram teores de matéria seca mais adequados para que ocorra uma boa fermentação nos silos de acordo com a resultados obtidos por Andrade et al. (2010), onde o grão de milho deve ser ensilado quando o teor de umidade apresentar entre 30 e 35 %, com o objetivo de evitar perdas por formação de efluentes e processos biológicos que produzam gases, água e calor, visando adequada fermentação láctica para manutenção do valor nutritivo da silagem.

A concentração de proteína (PB) na silagem de grão úmido de milho somente foi alterada devido ao líquido utilizado na reidratação ( $p = 0,0137$ ). Embora o soro de leite apresente em torno de 0,5 a 1,0% de proteína em sua composição (Pelegrini & Carrasqueira, 2008; Schingoethe, 1976), a reidratação dos grãos de milho destinados à ensilagem não

resultou em acréscimo nesta variável, pelo contrário, silagens reidratadas com água apresentaram maior concentração de PB (Tabela 3). O fato do soro de leite não implicar em acréscimo na concentração de PB também foi observado em silagem de capim elefante, em trabalho conduzido por SANTOS et al. (2006).

Tabela 3. Valores de Matéria seca (MS), de proteína e fibra (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas e inoculadas.

Modo de reidratação	Silagem*		Média	CV (%)
	Controle	Inoculada		
MS				
Soro de leite	65,0 A	63,0 A	64,0	
Água	62,0 B	61,0 B	61,5	
Média	63,5	62,0		2,42
Proteína				
Soro de leite	9,69	9,04	9,36 <sup>B</sup>	
Água	10,02	10,92	10,47 <sup>A</sup>	
Média	9,85 <sup>a</sup>	9,98 <sup>a</sup>		14,91
FDN				
Soro de leite	14,79	14,23	14,51 <sup>B</sup>	
Água	18,54	18,21	18,37 <sup>A</sup>	
Média	16,66 <sup>a</sup>	16,22 <sup>a</sup>		16,65
FDA				
Soro de leite	2,05	2,21	2,13 <sup>B</sup>	
Água	3,32	3,44	3,38 <sup>A</sup>	
Média	2,69 <sup>a</sup>	2,82 <sup>a</sup>		38,63

\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula (dentro de colunas) e minúscula (dentro de linhas), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A porcentagem de MS diminuiu linearmente com o aumento da reidratação da silagem de grão úmido de milho (Figura 6). Observou-se que para cada 1 % de reidratação do grão de milho houve uma queda de 0,85% no teor de MS da silagem, resultados esses já esperados dentro da hipótese da pesquisa.

As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram afetadas pela interação entre inoculação da silagem, líquido utilizado na reidratação e a porcentagem de reidratação utilizada ( $p = 0,0044$ ;  $p = 0,0373$ ;

respectivamente). A concentração de FDN foi reduzida pela reidratação com soro ácido de leite, independente da aplicação ou não do inoculante (Tabela 3), o que possivelmente está relacionado à diluição dos compostos mediante aplicação do soro, como reportado por Schingoethe et al. (1974). A redução na concentração de fibra é interessante, pois pode implicar no acréscimo da digestibilidade destas silagens, resultando em maior desempenho animal. Ao avaliarem a aplicação de soro de queijo na ensilagem de capim elefante (2,5 e 5,0% com base na matéria natural), Santos et al. (2006) não observaram alteração nas concentrações de FDN e FDA.

A concentração de FDN foi superior pela reidratação a 35% com soro ácido de leite (Figura 7) e água (Figura 8), embora tenha sido observado efeito mais intenso quando as silagens foram inoculadas, ao passo que os menores valores foram observados com reidratação a 30%. Ao derivar as equações de regressão, obtemos 20,59 e 23,22% de FDN nas silagens inoculadas e reidratadas com soro ácido de leite e água a 35%, respectivamente.

A maior redução nos teores de FDN nas silagens reidratadas a 30% submetidas à inoculação bacteriana talvez possa estar relacionada à produção da enzima ferulato esterase por algumas cepas de *L. plantarum* (Cavin et al., 1997). Esta enzima age sobre as ligações do tipo éster liberando ácido ferúlico das arabinoxilanas presentes na parede celular (Kang et al., 2009). Outra possibilidade reside em alterar a estrutura tridimensional da parede celular, mesmo que sem rompimento das ligações entre os compostos que formam a parede celular (Santos et al., 2013). Desta maneira, há ação direta ou indireta deste microrganismo na alteração da concentração de FDN da silagem, o que, em teoria, deve resultar em maior digestibilidade e aproveitamento do alimento pelos animais.

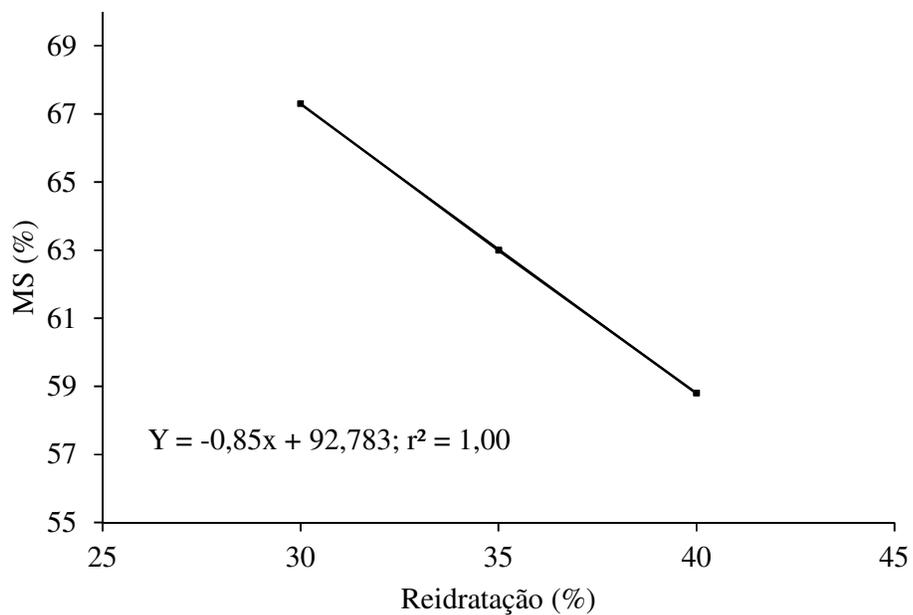


Figura 6. Matéria seca (%) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens.

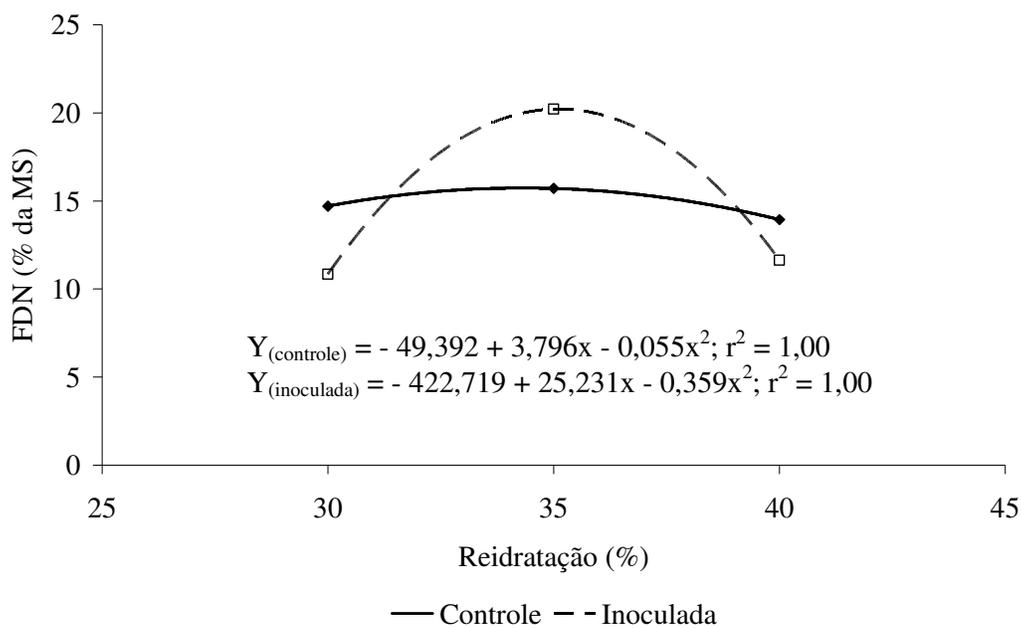


Figura 7. Concentração de FDN (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.

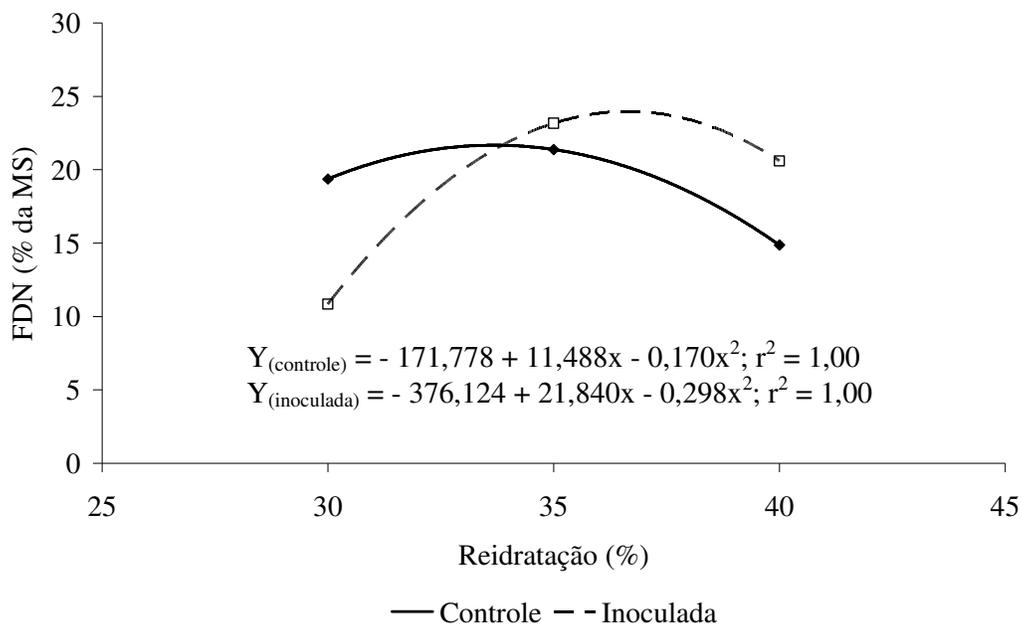


Figura 8. Concentração de FDN (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.

A concentração de FDA aumentou linearmente na silagem controle devido à reidratação utilizando-se soro ácido de leite, enquanto na silagem inoculada, constatou-se maior concentração pela reidratação a 40% (Figura 9).

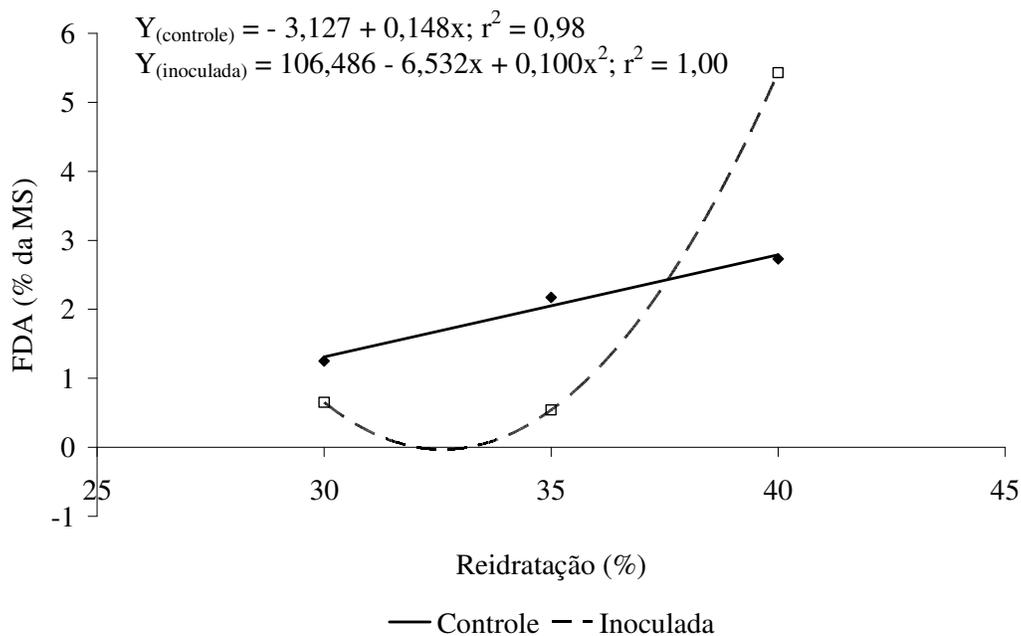


Figura 9. Concentração de FDA (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com soro ácido de leite.

Esperava-se que houvesse redução na concentração de FDA devido à maior reidratação com soro ácido de leite, o que foi verificado quando os grãos de milho foram reidratados com água (Figura 10), entretanto este fato não ocorreu neste trabalho. Schingoethe et al. (1974) observaram ligeira redução na concentração de FDA em silagens de milho aditivadas com soro de leite na forma em pó.

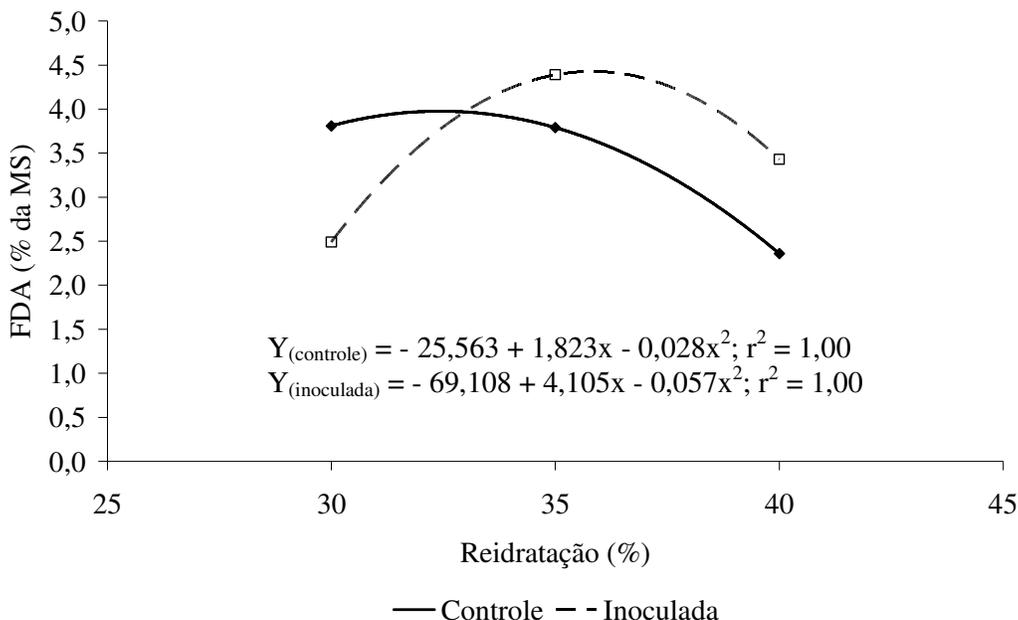


Figura 10. Concentração de FDA (% da MS) em silagens de grão úmido de milho reidratadas em diferentes porcentagens com água.

## 5 CONCLUSÕES

A aplicação de soro ácido de leite na reidratação de grãos úmidos de milho para ensilagem melhora o processo de fermentação. Do mesmo modo, este subproduto melhora a composição da silagem de grão úmido de milho por reduzir a concentração de fibra.

A ensilagem dos grãos úmidos de milho utilizando-se inoculante bacteriano (bactérias homofermentativas) não altera positivamente o processo de fermentação e composição bromatológica das silagens.

A reidratação das silagens de grãos úmidos de milho a 30% apresenta o melhor resultado devido a promover maiores concentrações de ácido lático e menores concentrações de fibra.

## 6 REFERÊNCIAS

ANDRADE FILHO, R. et al. Reconstituição, inoculação e ensilagem de grãos de milho maduros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47,2010 b, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, 2010b.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. A.O.A.C. **Official Methods of Analyses of the Association of Official Analytical Chemists**. 11.ed. Washington, 1970. v .1, 1015p.

BASSO, F.C. et al. Fermentation and aerobic stability of high-moisture corn silages inoculated with different levels of *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.11, p.2369-2373, jan. 2012.

BARAJAS, R.; ZINN. R.A. the feeding value of dry-rolled and steam-flaked corn in finishing diets for feedlot cattle: Influence of protein supplementation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v,76, n.7, p.1744, jul. 1998.

BENTON, J.R.; KLOPFENSTEIN, T.J.; ERICKSON, G.E. Effects of corn moisture and length of ensiling on dry matter digestibility and rumen degradable protein : nebraska Beef Cattle Report (File MP83-A, Institute of Agriculture and Natural Resources) . [S.l. : s.n.], 2009.

BERCHIELLI, T.T. ; PIRES, A.V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**, Jaboticabal : Funep, 2006. 582 p.

BITENCOURT, L.L. et al. Performance of dairy cows fed extruded or hydrated and ensiled mature corn grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, p.96-97, abr. 2009 (Suppl.1).

BUTOLO, J.E.: **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Nutrição Animal, 2002. p.157-160.

CARMO, C. A. **Grau de moagem do milho, inclusão de subprodutos agroindustriais e aditivos microbiológicos em rações para vacas leiteiras**. 2005. 105f. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz Universidade de São Paulo, Piracicaba ,2005.

CAVIN, J.F et al. Purification and characterization of an inducible *p*-coumaric acid decarboxylase from *Lactobacillus plantarum*. **FEMS Microbiology**, France, Université de Bourgogne, v.147, n.4, p.291-295, dec.1997.

CORREA C.E.S. et al. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, University of Wisconsin, Madison, v.85, n.11, p.3008-3012, agos. 2002.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Método alternativo para determinação de fibra em detergente neutro. **Boletim de pesquisa**, n.4, p. 21 dez. 1999.

FANCELLI, A.L.; NETO, D.D. **Produção de milho**. Guaíba : Agropecuária, 2000. 260 p.

FERREIRA, D. **SISVAR software**: versão 5.1. Lavras: DEX/UFLA, 2003.

FERREIRA, W.A. Armazenamento de grãos de cereais. In: CEREDA, M.P.; SANCHES, L. **Manual de armazenamento e embalagem de produtos agropecuários**. Botucatu : UNESP, 1983. p. 96-128.

FILYA, 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**, Champaign, v. 86, p. 3575–3581, out. 2003

GAUTHIER, R. Organic acids and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoters in poultry. FÓRUM INTERNACIONAL DE AVICULTURA, Foz do Iguaçu, ago. 2005.

GHERI, E.O.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. Resposta do capim-tanzânia à aplicação de soro ácido de leite. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 753-760, jun. 2003 .

GHERI, M. S. et al. Desempenho de bovinos jovens alimentados com dietas contendo grão úmido de milho ou sorgo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.37, n.3, p.513-519, mar. 2008.

GIROTO, J. M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **Brasil Alimentos**, Curitiba, v.2, n.5, p. 43-46, set. 2001.

HAUPTLI, L. et al. Níveis de soro de leite integral na dieta de leitões na creche. **Ciência Rural**, Santa Maria, v, 25, n. 5, p. 1161-1165, nov. 2005.

Henderson, N. Silage additives. **Anim. Feed Sci. Technol.**, South Africa, v.45, n.1, p.35 -56, dec. 1993.

HOLZER, M. et al. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. **TRENDS in Biotechnology**, Tulln, Austria, v.21, n.6, p.282-287, abr. 2003.

HALE, W. H. Influence of processing on the utilization of grains (starch) by ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.37, n.04, p.1075-1080, mar. 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 1985. V.1, 533p.

ÍTAVO, C. C. B. F. et al. Padrão de fermentação e composição química de silagens de grãos úmidos de milho e sorgo submetidas ou não a inoculação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 655- 664, Fevereiro, 2006.

ÍTAVO, C.C.B.F. et al. Parâmetros fermentativos de silagens de grãos úmidos de milho com ou sem o uso de aditivo f40. In : FORRAGICULTURA-FOR 248. 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2003]. CD-ROM.

JONES, G. M et al. Organic acid preservation of high moisture corn and other grains and the nutritional value: a review. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v. 54, n. 4, p. 499-517, dec.1974.

JUCHEM, S.; RODRIGUES, P. H. M. **Conservação de grãos de cereais sob alta umidade**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1999.

KIM, S. C.; ADESOGAN, A. T. Influence of ensiling temperature, simulated rainfall, and delayed sealing on fermentation characteristics and aerobic stability of corn silage. **Journal of Dairy Science**, Stanford, v. 89, n. 8, p. 3122-3132, aug. 2006.

KUNG JR., L. et al. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of ground and whole high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n. 8 p.2309-2314, aug. 2007.

LOPES, A. B. R. C. **Silagem de grãos úmidos de milho em rações de suínos nas fases inicial, de crescimento e de terminação**. 2000.42 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

LOPES, A.B.R.C. et al. Efeito do processo de ensilagem de grãos úmidos de milho nas características do amido. **Brazilian Journal of Food Technology**, Botucatu, v.5, n.96, p.177-181, set. 2002. (Nota prévia).

LOPES, A. B. C. et al. Métodos de reconstituição da umidade de grãos de milho e a composição química da massa ensilada. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 1, p. 95-101, abr. 2005.

LUCCI, C. S. et al. Processamento de grãos de milho para ruminantes: Digestibilidade aparente e ‘*in situ*’. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 35-40, mar. 2008.

LYKOS, T.; VARGA, G.A. Effects of Processing Method on. Degradation characteristics of protein and carbohydrate Sources *in situ*. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.78, n.8, p.1789-1801, aug. 1995.

MACHADO, R.M.G.; SILVA, P.C.; FREIRE, V.H. Controle ambiental em indústrias de laticínios. **Brasil Alimentos**, Juiz de Fora, v.7, n. 7, p.34-36, mar/abr. 2001.

MHHANNA, B. Proper management assures high-quality silage, grains. **Feedstuffs**, Minneapolis, v.10, n.2, p.12 - 56, jan.1994.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe, 1991. 340p.

MOON, N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. **Journal of Applied Bacteriology**, University of Georgia, USA, v.55, n.3, p.453-460, out.1983.

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Madison, v.39, p.183-191, jan. 2010. (Suplemento especial)

PASSINI, R. et al. Parâmetros de Fermentação Ruminal em Bovinos Alimentados com Grãos de Milho ou Sorgo de Alta Umidade Ensilados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Pirassununga, v.22, n.5, p.1266-1274, maio 2002.

PAZIANI, Solidete de Fátima; BERCHIELLI, Telma Teresinha; ANDRADE, Pedro. Digestibilidade e Degradabilidade de Rações à Base de Milho Desintegrado com Palha e Sabugo em Diferentes Graus de Moagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Jaboticabal, v.20, n.5, 1620-1628, agos.2001.

PAHLOW, G. et al. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) **Silage science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2003. p.31-93.

PELEGRINI, D.H.G.; CARRASQUEIRA, R.L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal Food Technology**, Taubaté/SP - v.62, n.6, p.1004-11, dez. 2008.

PEREIRA, M.N. et al. Ruminal degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Sci. Agric.**, Lavras, v.61, n.9, p. 358-363, jul. 2004.

PEREIRA, M.L.R. et al. Degradabilidade de grão reconstituído de milho e sorgo ensilados com diferentes granulometrias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 21, 2011, Maceió. **Anais eletrônicos...** Maceió: UFAL, 2011. 1 CD-ROM.

Petit, H.V.; Veira, D.M. Effect of grain level and protein source on ruminal fermentation degradability, and digestion in milking cows fed silage. **J. Dairy Science.**, Canadá, v.74, n.7, p.2256-2267, set.1991.

REIS, Wagner. **Degradabilidade de grãos secos e ensilados de híbridos de milho submetidos a formas de processamento**. 2006. 71 f. Tese (Doutorando em Zootecnia), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu – SP, 2006.

RODRIGUES, M.M. de F.C. **Digestão ruminal da matéria seca, da proteína bruta e do amido de grãos de milho e de sorgo (com e sem tanino) submetidos a processamento**. 2003. 68 f. Tese (Doutorando em Zootecnia), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu – SP, 2003.

SANTOS, E.M. et al. Efeito da adição do soro de queijo sobre a composição bromatológica, fermentação, perdas e recuperação de matéria seca em silagem de capim-elefante. **Ciência Animal Brasileira**, Viçosa-MG, v.7, n.3, p.235-239, set. 2006.

SANTOS, S.D.M.C. et al. In vitro gas production of corn silage inoculated with different levels of *Lactobacillus buchneri*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 50, 2013, Campinas. **Anais...** Campinas: SBZ, 2013. 1 CD-ROM

SEBASTIAN, S. et al. Comparative Assessment of Bacterial Inoculation and Propionic Acid Treatment on Aerobic Stability and Microbial Populations of Ensiled High-Moisture Ear Corn. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.5, p.447-456, jan. 1996.

SERPA, L.; **Concentração de proteínas de soro de queijo por evaporação a vácuo ultrafiltração**. Erechim, 2005, 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2005.

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

SILVA, A. A. et al. Digestibilidade e balanços metabólicos da silagem de grãos úmidos de milho para suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 877-882, jul./ago.2005.

SILVA, F. J. A.; MATOS, J. E. X. Sobre dispersões de *Moringa oleífera* para tratamento de água. **Revista Tecnologia**, Fortaleza, v.29, n.2, p.157-163, fev. 2008.

SILVA, Edmilson Gomes. **Avaliação técnica e econômica do uso do soro de queijo de coalho na alimentação de suínos**. 2008. 47 f. Tese (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2008.

SILVA, M. A. A. et al. Avaliação nutricional do milho com maior teor de óleo ,nas formas de grãos secos e silagens, para suínos nas fases de crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.3, p.830-839, jun.2006.

SIQUEIRA, G. R.; BERNARDES, T. F.; REIS, R. A. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção. In: REIS, R. A. et al. **Simpósio sobre volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2005. p. 25-60.

SCHINGOETHE, D.J.; BEARDSLEY, G.L.; MULLER, L.D. Chemical composition of urea-treated corn silage containing added dried whey or whey products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.57, p.1511-1515, 1974.

SCHINGOETHE, D.J. Whey Utilization in Animal Feeding: A Summary and Evaluation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.59, p.556-570, 1976.

SCHINGOETHE, D.J.; SKYBERG, E.W.; ROOK, J.A. Chemical composition of sunflower silage as influenced by additions of urea, dried whey and sodium hydroxide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.50, p.625-629, jun.1980.

TORRANO, A. D. M. O soro: perspectivas atuais no seu aproveitamento e controle da poluição. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 11., 1989. **Anais...** Juiz de Fora : CEPE/ILCT, 1999.

Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Comstock Publishing Associations, 1994. 476p.

VENTURINI, S. L. et al. Produção de vermicomposto a partir de soro de leite coagulado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 22. Caxambu, 1998. **Anais...** Lavras,: UFLA/SBCS/SBM, 1998. p. 477

WEINBERG, Z. G. et al. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. **Journal of Applied Bacteriology**, Israel, v. 75, n.9, p. 512–518, abr. 1993

WEBB, B.H.; JOHNSON, A.H.; ALFORD, J.A. **Fundamentals of Dairy Chemistry**. 2.ed. Local: The avi publishing, 1980. 929p.

WOOLFORD, M.K. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, Harrisburg, PA, v.68, n.7, p.101-116, maio 1990.