



ADITIVOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS NA CONSERVAÇÃO DO BAGAÇO DE LARANJA ENSILADO

Paloma Helena da Silva **Libório**¹; Regina Kitagawa **Grizotto**²; Aline Pessim Alves **Bueno**³;
Gustavo Rezende **Siqueira**⁴; Andressa Fernanda **Campos**⁵

Nº 15301

RESUMO – Objetivou-se avaliar separadamente o efeito dos aditivos químicos (benzoato de sódio, sorbato de potássio e óxido de cálcio) e microbiano (*Lactobacillus buchneri*), em diferentes doses no bagaço de laranja com dois níveis de matéria seca, durante o processo de ensilagem. O delineamento utilizado nos experimentos foi o inteiramente ao acaso, distribuído em arranjo fatorial 4 x 2, sendo 4 doses de cada aditivo e 2 níveis de matéria seca (MS) do bagaço de laranja (com e sem adição de polpa cítrica peletizada), com cinco repetições, totalizando 40 silos para cada tratamento. A confecção dos silos experimentais foi realizada utilizando-se baldes plásticos com capacidade para 25 litros contendo areia e tecido de náilon para a quantificação dos efluentes. Foram coletadas amostras de cada um dos silos antes da ensilagem e após 60 dias na abertura dos mesmos. Com as amostras coletadas aos 60 dias realizou-se também testes de estabilidade aeróbia (4,8 e 12 dias). Para todas as amostras foram determinados os valores de pH, MS e parâmetros fermentativos. Isto posto, no presente trabalho serão apresentados apenas os resultados obtidos para o aditivo químico benzoato de sódio, que entre os conservantes testados foi o que apresentou maior viabilidade por proporcionar menores perdas de efluentes e os melhores parâmetros fermentativos.

Palavras-chaves: Resíduo; silagem; polpa úmida de laranja, pellet; comportamento fermentativo

¹ Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Agronomia, UNIFEB, Barretos-SP; paloma_liborio@hotmail.com

² Orientador: Pesquisador da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Colina-SP; reginakitagawa@hotmail.com.

³ Colaborador, Bolsista Treinamento Técnico Nível 3 Fapesp: Graduação em Engenharia de Alimentos, UNIFEB, Barretos-SP

⁴ Colaborador, Pesquisador da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Colina-SP

⁵ Colaborador, Bolsista de Pós Doutorado em Zootecnia, Unesp, Jaboticabal-SP



ABSTRACT- *The objective was to separately assess the effect of chemical additives (sodium benzoate, potassium sorbate and calcium oxide) and microbial (*Lactobacillus buchneri*) at different doses in orange peel with two levels of dry matter, during the ensiling process. The design used in the experiments was the completely randomized, distributed in 4 x 2 factorial arrangement, with four doses of each additive and two levels of dry matter (DM) of orange peel (with and without the addition of citrus pulp), with five repetitions, totaling 40 silos for each treatment. The preparation of experimental silos were carried out using plastic buckets with a capacity of 25 liters containing sand and nylon fabric for quantification of effluent. Samples were taken from each silo prior to ensiling ($t = 0$) and after 60 days the opening thereof. With samples collected at 60 days also held up aerobic stability tests (0, 4, 8 and 12 days). For all samples were determined pH values, MS and fermentation parameters. That said, in this work will be presented only the results obtained for the chemical additive sodium benzoate, which among preservatives tested showed the greatest viability by providing lower losses of effluents and the best fermentation characteristics.*

Key-words: Residue, silage, wet pulp orange, pellet, fermentative behavior

1 INTRODUÇÃO

O bagaço de laranja in natura pode ser utilizado na dieta dos ruminantes nas propriedades rurais próximas as indústrias processadoras que não optam pela realização do processo de secagem do bagaço de laranja para a produção da polpa cítrica peletizada (SOUZA, 2006). Apesar da crise que o setor citrícola atravessa nos últimos anos, nas regiões do país onde a citricultura possui representatividade econômica, e em especial a região sudeste com destaque para o estado de São Paulo principal região produtora, sempre há a disponibilidade do bagaço de laranja por parte das indústrias de processamento.

O alto teor de umidade presente no bagaço de laranja dificulta a conservação da silagem, fazendo com que o material muitas vezes, seja considerado inapropriado para a atividade. Assim, diversos aditivos têm sido utilizados em silagens de várias espécies, apresentando resultados variáveis (FREITAS et al., 2006). As mudanças no desenvolvimento da fermentação de silagens devido à aplicação de aditivos podem alterar a composição final do alimento e afetar o consumo de matéria seca, assim como a digestibilidade de nutrientes.



Isto posto o presente trabalho avaliou os efeitos de aditivos químicos (benzoato de sódio, sorbato de potássio e óxido de cálcio) e microbiano (*Lactobacillus buchneri*), em diferentes doses no bagaço de laranja com dois níveis de matéria seca, durante o processo de ensilagem a fim de identificar o melhor aditivo para silagem de polpa cítrica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados separadamente os efeitos de quatro doses dos aditivos (três químicos e um microbiológico), que consistiram nos seguintes tratamentos: benzoato de sódio (BNZ) - (0, 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %), sorbato de potássio (SRB):- (0, 0,05%, 0,1%, 0,2%), óxido de cálcio (OXC)-(0, 0,5 %, 1 %, 2%) e *L. buchneri*- (BUCH) (0, 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 UFC.g⁻¹ material), aplicados no bagaço de laranja com dois níveis de MS, um com a polpa ao natural e o outro com o melhor nível de polpa cítrica peletizada (20%), verificado por Grizotto et al. (2014) .

Os aditivos foram diluídos em água e pulverizados na massa com base na matéria natural da mistura antes do enchimento dos silos. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso, distribuído em arranjo fatorial 4 x 2, sendo 4 doses de cada aditivo e 2 níveis de MS do bagaço de laranja (com e sem adição de polpa cítrica peletizada), com cinco repetições, totalizando 40 silos para cada tratamento. A confecção dos silos experimentais foi realizada utilizando-se baldes plásticos de 38 cm de altura e 30 cm de diâmetro, com capacidade para 25 litros. Para a quantificação do efluente produzido durante o período de armazenamento, adicionou-se cerca de 10 kg de areia grossa, pré-lavada e seca, ao fundo de cada balde, além de um tecido de náilon para impedir o contato direto do bagaço de laranja com a areia. Para auxiliar na compactação, foram utilizados bastões de ferro de forma a possibilitar densidade em torno de 600 kg.m⁻³. Os baldes foram fechados com tampa e lacrados com fita adesiva.

Após 60 dias de armazenamento, os silos foram novamente pesados para determinação das perdas por gases (PG) e recuperação de matéria seca (RMS). Na abertura dos silos, foram coletadas amostras de cada silo para as determinações das composições químicas e microbiológicas, pH, e estabilidade aeróbia. A primeira amostra foi seca em estufa com ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas e armazenadas para posteriores análises químicas. A segunda amostra foi preparada para obtenção do extrato aquoso, segundo a metodologia descrita por Kung Jr. et al. (1984) e a terceira, utilizada nas determinações microbiológicas. Uma quarta amostra foi retirada para a avaliação da estabilidade aeróbia.

As análises químicas, microbiológicas e pH também foram realizadas no bagaço de laranja com ou sem polpa cítrica peletizada antes de ensilar (t=0). Foram quantificadas as populações



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

microbianas na silagem e no material antes da ensilagem, utilizando-se meios de cultura seletivos para cada grupo microbiano: Lactobacillus MRS Agar, para as bactérias do ácido lático e BDA ágar, para os mofos e leveduras. As determinações das populações de leveduras e de lactobacilos foram determinadas em cada tempo de armazenamento. Foram consideradas passíveis de contagem as placas com valores entre 30 e 300 unidades formadoras de colônias (UFC).

A quarta amostra foi utilizada no estudo de estabilidade aeróbia, a partir da última abertura (60 dias). Foram amostrados de cada silo cerca de 3 kg de silagem, as quais foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificados, e armazenadas em câmara climatizada a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Em cada saco plástico foi inserido um termopar tipo datalogger digital modelo a 10 cm no centro da massa de silagem, para a medida da temperatura a cada 30 minutos, após a acomodação dos sacos amostrais na câmara climatizada. A temperatura do ambiente também foi controlada por aparelhos semelhantes, colocados próximos aos sacos plásticos. Nos tempos de 0, 4, 8 e 12 dias de exposição aeróbia foi retirado amostras para avaliação de populações microbianas de leveduras e fungos, pH e recuperação de matéria seca, de modo que, o tempo zero foi considerado no momento da abertura dos silos após a fermentação anaeróbia. A determinação da recuperação de MS foi obtida pelo quociente entre a quantidade de MS recuperada dos sacos amostrais (4º, 8º e 12º dias) e a quantidade de MS no momento da abertura. A estabilidade aeróbia foi calculada com base no tempo observado para que a silagem, após a abertura do silo, apresentasse elevação em 2°C em relação à temperatura ambiente (DRIEHUIS et al., 1999).

As matrizes UN(1) e TOEP foram as melhores estruturas de covariância ajustadas para os dados, devido as suas menores pontuações, segundo o critério BIC. Todos os resultados foram submetidos à análise de variância usando o procedimento MIXED do programa estatístico do SAS 9.0 e, se significativo, tanto o nível de inclusão de polpa cítrica peletizada quanto para o tempo de exposição aeróbia, foram avaliados por meio de contrastes ortogonais para determinação do tipo de comportamento (linear e/ou quadrático) utilizando esse mesmo programa estatístico. Por fim, determinou-se o ponto de estabilidade dos resultados (resposta-platô) com o uso de Contrastes HELMERT. A significância foi declarada quando $P < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se interação significativa para todas as variáveis ($P < 0,01$) apresentadas na tabela 1. Houve diferença significativa entre os tratamentos T0 e T20 na ensilagem ($t=0$) para a concentração de MS, pH e leveduras ($P < 0,05$), exceto para a contagem de bactérias ácido lácticas



($P=0,35$). As dosagens de benzoato de sódio diferiram significativamente para a concentração de MS e parâmetros fermentativos, assumindo comportamento linear crescente para MS, linear decrescente para população de leveduras e bactérias ácido-lácticas, além de aumento quadrático para valores de pH com o aumento das doses desse inoculante.

Houve interação significativa para pH e RMS entre silagens e doses de benzoato de sódio, de acordo com a Tabela 2. Os níveis de inclusão de polpa cítrica peletizada T0 e T20 influenciaram nas concentrações de MS, parâmetros fermentativos e produção de efluente no final da ensilagem ($P<0,05$), não havendo diferença significativa para as perdas por gás e RMS, mas estes dois fatores foram significativos de acordo com as dosagens de benzoato de sódio, assumindo comportamento de efeito linear. Pode-se observar também que o aumento da concentração de benzoato de sódio provocou decréscimo de $0,23 \log_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ silagem para $0,00 \log_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ silagem (nas doses de 0 e 2%, respectivamente) na contagem de leveduras no momento da abertura dos silos ($t=60$ dias), porém, não foram estatisticamente diferentes ($P>0,05$). Apesar da falta de efeito estatístico, esse fato é interessante que ocorra, pois as leveduras promovem a conversão dos carboidratos solúveis em etanol, gás carbônico e água durante a ensilagem, ocasionando perdas energéticas e diminuição excessiva de ácidos lácticos e acéticos.

Tabela 1. Composição de MS e parâmetros fermentativos do bagaço de laranja com dois níveis de inclusão de polpa cítrica peletizada e quatro doses de benzoato de sódio, no momento da ensilagem ($t=0$).

	Nível de inclusão de polpa cítrica peletizada (T) ¹		Dose de benzoato de sódio (D)				Valor P ²			Contraste ³	
	0	20	0	0,05%	1%	2%	T	D	T*D	L	Q
Matéria seca (%)	21,7	33,9	28,1	27,2	28,3	27,5	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,12
<i>Parâmetros fermentativos</i>											
pH	3,86	4,16	3,95	4,00	3,98	4,12	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
LEV ⁶	4,21	3,77	4,18	4,14	4,04	3,60	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05
BAL ⁷	6,72	6,78	6,96	6,93	6,68	6,42	0,35	<0,01	<0,01	<0,01	0,70

¹Tratamentos: T0= Sem inclusão de polpa cítrica peletizada; T20= Inclusão de 20 % de polpa cítrica peletizada.

²Valor P: T=tratamento; ³Contrastes para doses de benzoato de sódio L= linear; Q= quadrático. ⁶LEV= população de leveduras, em $\log_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ de bagaço; ⁷BAL= população de bactérias ácido-láctico, em $\log_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ de bagaço.

Conforme se verifica na Tabela 1, o pH da silagem de polpa cítrica inicia-se em torno de 4,0 que é a condição necessária para inibir o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, como *Clostridium ssp*, responsáveis pela produção de ácido butírico, que além de provocar odor desagradável e diminuir a qualidade da silagem, interfere na aceitabilidade da silagem pelo animal (WOOLFORD, 1990).



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

De acordo com a Tabela 2, pode-se concluir que os T0 e T20 e as doses de benzoato de sódio apresentaram efeito no pH final da silagem de polpa úmida de laranja já que se situaram na faixa de 3,3 a 3,9 conforme a literatura (ASHBELL e DONAHAYE, 1986; ASHBELL et al., 1987; ASHBELL e LISKER, 1987; ASHBELL e WEINBERG, 1988; WEINBERG et al., 1989; e TAIWO et al., 1995) citada por Ítavo (2000), comprovando assim, que a polpa úmida de laranja é rica em carboidratos solúveis responsáveis pela queda do pH, em consequência de sua fermentação.

Tabela 2. Composição de MS, parâmetros fermentativos e perdas de MS da silagem do bagaço de laranja com dois níveis de inclusão de polpa cítrica peletizada e quatro doses de benzoato de sódio, no final da ensilagem (t=60 dias).

	Nível de inclusão de polpa cítrica peletizada (T) ¹		Dose de benzoato de sódio (D)				Valor P ²			Contraste ³			
	0	20	0	0,05%	1%	2%	T	D	T*D	L	Q		
Matéria seca (%)	20,2	31,7	25,6	25,7	26,0	26,5	<0,01	<0,01	0,12	<0,01	0,35		
<i>Parâmetros fermentativos</i>													
pH	3,55	3,62	3,57	3,56	3,59	3,61	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,41		
LEV ⁶	0,00	0,29	0,23	0,18	0,17	0,00	0,01	0,51	0,51	0,14	0,77		
BAL ⁷	3,57	3,81	3,82	3,85	3,52	3,56	<0,01	<0,01	0,71	<0,01	0,32		
<i>Perdas de MS</i>													
EFLUENTE ⁸	18,7	6,08	1,05	14,0	8,07	13,5	14,0	1,47	<0,01	0,03	0,1	0,31	0,14
GÁS ⁹	2,41	3,2	0,51	5,33	2,15	2,56	1,17	0,72	0,28	<0,01	0,08	<0,01	0,13
RMS ¹⁰	92,6	92,6	0,15	89,5	93,8	91,4	95,9	0,21	0,96	<0,01	<0,01	<0,01	0,71

¹Tratamentos: T0= Sem inclusão de polpa cítrica peletizada; T20= Inclusão de 20 % de polpa cítrica peletizada.

²Valor P: T=tratamento; ³Contrastes para doses de benzoato de sódio L= linear; Q= quadrático. ⁶LEV= população de leveduras, em log₁₀ UFC.g⁻¹de bagaço; ⁷BAL= população de bactérias ácido-láctico, em log₁₀ UFC.g⁻¹de bagaço.

4 CONCLUSÃO

O aditivo químico benzoato de sódio apresentou maior viabilidade por proporcionar menores perdas de efluentes e os melhores parâmetros fermentativos.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida e ao Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana – PRDTA-Alta Mogiana.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS. Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos. 2008. Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br>>. Acesso em: 10/01/2014

ASHBELL, G., DONAHAYE, E. 1986. Laboratory trials on conservation of orange peel silage. *Agric. Wastes*, 15:133-137.

ASHBELL, G., LISKER, N. 1987. Chemical and microbiological changes occurring in orange peel and in the seepage during ensiling. *Biol. Wastes*, 21:213-220.

ASHBELL, G., PAHLOW, G., DINTER, B. et al. 1987. Dynamics of orange peel fermentation during ensilage. *J. Applied Bact.*, 63:275-279.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th ed. Maryland: AOAC, 2005. 1298p.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; et al. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. **Journal of Applied Microbiology**, v.87, p.583-594, 1999.

FREITAS, A.W.P.; PEREIRA, J.C.; ROCHA, F.C.; COSTA, M.G.; LEONEL, F.P.; RIBEIRO, M.D. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana-de-açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 38-47, 2006.

GRIZOTTO, R.K.; BUENO, A.P.A.; CAMPOS, A.F.; PEDRO, T.B.P.; MODESTO, R.T. 2014. Preliminary study of wet orange pulp silage [summary]. In: Book of Abstracts of 17th World Congress of Food Science and Technology & EXPO – IUFoSt 2014; 17 a 21 de agosto de 2014, Montreal, Canada: IUFoST.

ÍTAVO, L. C. V.; SANTOS, G. T.; JOBIM, C. C.; VOLTOLINI, T. V.; BORTOLASSI, J. R.; FERREIRA, C. C. B. Aditivos na Conservação do Bagaço de Laranja in natura na forma de Silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.26, n.5, p.1474-1484, set./out. 2000.

KUNG Jr., L.; GRIEVE, D. B.; THOMAS, J. W. et al. Added ammonia or microbial inoculant for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.2 p.299-306, 1984.

MENDONÇA, L. M. V.; CONCEIÇÃO, A.; PIEDADE, J.; CARVALHO, V. D.; THEODORO, V. C. A. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 26, 870-874, 2006.

REGO, F. C. A.; LUDOVICO, A.; SILVA, L. C. et al. Perfil fermentativo, composição química e perdas em silagem de bagaço de laranja com diferentes inoculantes microbianos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 2, p. 3411-3420, 2012.

SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. et al. Perdas de silagens de cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2000-2009, 2007 (suplemento).

SOUZA, D.A. 2006. Utilizando a polpa cítrica úmida. Cadeia Produtiva - Dicas de Sucesso. Disponível em: <www.farmpoint.com.br>. Acesso em: 28/06/15



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

TAIWO, A.A., ADEBOWALE, E.A., GREENHALGH, J.F.D. et al. 1995. O. Techniques for trapping ammonia generated from urea treatment of barley straw. **Animal Feed Sci. Technol.**, 56:133-141.

WEINBERG, Z. G., PAHLOW, G., DINTER, B. et al. The effect of treatment with urea, sorbic acid or dehydration on orange peel silage. **Animal Feed Sci. Technol.**, v.20, p.335 -342, 1988.

WEINBERG, Z.G., ASHBELL, G., HOREV, B. 1989. The effect of sorbic acid on loss reduction during storage of orange peels. **J. Sci. Food Agric.**, 46:253-258.

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